

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 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences agronomiques
Spécialité/Option: Phytopathologie et phytopharmacie
Département: Ecologie et génie de l'environnement

**Thème : Contribution à l'étude du contrôle biologique de la
septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici*) par des bactéries
antagonistes**

Présenté par : Seddiki Med Djallel
Messaoudia Nouha

Devant le jury composé de :

Président: Mme BENBELKACEM S.

(MAA) Université de Guelma

Examineur : Mr. ZITOUNI A.

(MCB)Université de Guelma

Encadreur : Mme ALLIOUI N.

(MCB)Université de Guelma

Juin 2016

Remerciements

Nos remerciements vont avant tout au Dieu (ALLAH) l'Unique, le Tout-Puissant, le Clément et le Miséricordieux « Qu'il nous couvre de sa bénédiction ».

Nous exprimons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre encadreur, Docteur ALLIOUI Nora, pour avoir accepté de diriger notre projet de fin d'études. Ses hautes compétences scientifiques et ses qualités humaines nous ont permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions. Nous lui exprimons notre reconnaissance et respect, non seulement pour nous avoir encadrés tout le long de ce travail avec enthousiasme et dynamisme, mais aussi pour ses précieux conseils scientifiques, ses encouragements et son parfait sens de la responsabilité.

Nous tenons à remercier vivement mademoiselle BENBELKACEM Sofia, pour nous avoir fait l'honneur de présider le jury, et à monsieur ZITOUNI Ali pour avoir accepté de juger notre travail. Qu'ils trouvent dans ces mots l'expression de nos sentiments les plus distingués.

Nos vifs remerciements s'adressent également à tous les enseignants de l'université 8 mai de Guelma, qui ont contribué à notre formation.

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein des laboratoires pédagogiques de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers, de l'université 8 mai 1945 de Guelma, et on saisit cette occasion pour dire merci pour tous les responsables des laboratoires, pour leur extrême gentillesse, leurs conseils et leur accueil. Une reconnaissance particulière est adressée Melle HARIDI Hakima, pour toute l'aide qu'elle nous a donné pour réaliser nos expérimentations dans les meilleures conditions.

Enfin, nous remercions vivement tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce manuscrit : nos amis pour leurs conseils, et nos proches pour leur soutien.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire de fin d'étude à mes chers parents

A mon père LAZHER, cette personne très cher qui m'a appris la patience et m'a inculqué la persévérance. A celui qui a tout donné pour moi afin d'éclairer le sentier de mes études et de réaliser mes objectifs

A ma chère mère KHADIDJA, ce personnage formidable qui m'a encouragé par son soutien moral, et qui m'a donné son amour pour bien réussir dans mes études.

A mes chères sœurs, BOUTHAINA et ILHEM pour leurs encouragements.

A mon petit frère et l'unique, NIDDAL

A mon cher fiancé BILEL qui m'a toujours donné la puissance et le courage pour avancer.

A mes chères parents LHADI et HABIBA

A mon binôme Med DJALLEL pour ses efforts.

A mes camarades de la promotion 2016, SANNA et AMIRA

A mes chères amies IMENE, WAHIBA, SOUMIA, RADIA, AMEL et SAFI

A tous ceux qui me connaissent de près ou de loin, je dédie ce modeste travail.

NOUHA

Dédicaces

✦ *Avec tout respect et amour je dédie ce mémoire à :*

➤ *Mes chers parents :*

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, que je souhaite qu'il soit fier de moi, et qu'il trouve dans ces pages, le résultat de ses longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit. Cher papa, merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de ta part.

➤ *Ma chère sœur Nina, qui n'a cessé d'être pour moi un exemple de persévérance, de courage et de générosité.*

➤ *A tous mes amis et camarades de la promotion 2016 phytopathologie et phytopharmacie, notamment, à mon binôme Nouha , à Sana et Amira , en souvenir des bons moments passés ensemble.*

➤ *A mes enseignants de l'université de Guelma, qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

♥ *Med Djallel* ♥

Liste des tableaux

N°	Titre	Pages
01	Taxonomie des deux formes de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé	05
02	Liste et origines des souches bactériennes utilisées dans cette étude.	31
03	Traitements et résultats des confrontations <i>Z. tritici</i> / Actinomycètes	38
04	Traitements et résultats des confrontations <i>Z. tritici</i> / <i>Pseudomonas fluorescens</i>	43
05	Traitements et résultats des confrontations <i>Z. tritici</i> / <i>Erwinia</i> sp.	45
05	Traitements et résultats des confrontations <i>Z. tritici</i> / <i>Erwinia</i> sp (suite)	46

Liste des abréviations

ACT : *Actinomycètes*

C : carbone

E.: *Erwinia sp.*

E.c.: *Erwinia carotovora*

E.sp.: *Erwinia sp.*

Ex: Nom ancien de la maladie

Fig: figure

Fe: fer

HGCA: Home Grown Cereals Authority

Kg/ha/an: Kilogramme par hectare par an

LPGA: Levure Peptone Glucose Agar

M.g.: *Mycosphaerella graminicola*

P.f. : *Pseudomonas fluorescens*

PMG : Poids de mille grains

qx/ha : Quintaux par hectare

STB : Septoria tritici blotch

Spp : sous espèces

Z.tritici : *Zymoseptoria tritici*

Liste des figures

N°	Titre	Pages
01	Symptômes causés par la septoriose des épis chez le blé	03
02	Symptômes causés par <i>M. graminicola</i> sur le blé	06
03	Cirrhe produit par <i>M. graminicola</i> sur le blé	06
04	Cycle biologique de <i>Mycosphaerella graminicola</i>	08
05	Chronologie de l'infection de tissus hôtes de blé par <i>Mycosphaerella graminicola</i> en conditions de laboratoire	09
06	Mécanismes d'action des agents de lutte biologique	19
07	Représentation schématique décrivant les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère	19
08	Les principaux antibiotiques produits par les souches de <i>Pseudomonas</i> .	22
09	Champ de blé tendre infecté par la tache septorienne des feuilles (Belkhir, Guelma), site de collecte des souches de <i>Z. tritici</i> , utilisées dans cette étude	26
10	Feuille de blé montrant les pycnides de <i>Zymoseptoria tritici</i> observée à la loupe binoculaire.	28
11	Préparation des échantillons pour l'isolement du pathogène	28
12	Cirrhés de <i>Mycosphaerella graminicola</i> sur feuille de blé, émises après une nuit dans la chambre humide, observées à la loupe binoculaire	29
13	Méthode de confrontation directe sur milieu PDA	32
14	Méthode de confrontation par contact direct sur milieu PDA	32
15	Méthodes de confrontation de l'agent pathogène et l'agent antagoniste par contact direct sur milieu PDA	33
16	Micro-colonies de <i>Zymoseptoria tritici</i> , observées à la loupe binoculaire (x 5)	34
17	<i>Zymoseptoria tritici</i> cultivé sur milieu PDA, après 6 jours d'incubation, observé à la loupe binoculaire (x 5)	35
18	<i>Zymoseptoria tritici</i> cultivé sur milieu PDA, après 20 jours d'incubation, observé à la loupe binoculaire (x 5)	35
19	Conidies de <i>Z. tritici</i> observées au microscope optique (x 40)	36
20	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Act. 1</i> après 15 jours d'incubation	37

21	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Act. 9</i> après 15 jours d'incubation	39
22	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Act. 10</i> après 15 jours d'incubation	40
23	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Act. 5</i> après 15 jours d'incubation	40
24	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Act. 4</i> après 8 jours d'incubation	41
25	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Act. 6</i> après 8 jours d'incubation	41
26	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>Pseudomonas fluorescens</i> après 8 jours d'incubation	43
27	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>E.C. 14</i> , après 8 jours d'incubation	47
28	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>E.C. 7</i> , après 8 jours d'incubation : absence de croissance de la bactérie	47
29	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>E.sp. 3</i> , après 8 jours d'incubation	48
30	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>E.sp. 4</i> , après 8 jours d'incubation : Méthode de confrontation 02	48
31	Résultats du test de confrontation de <i>Z. tritici</i> x <i>E.sp. 4</i> , après 15 jours d'incubation : Méthode de confrontation 01	49

Introduction

En Algérie la céréaliculture constitue la principale activité, notamment dans les zones arides et semi-arides. Les terres annuellement emblavées représentent 3,6 millions d'hectares. La superficie occupée par le blé dur est, en moyenne, de 1.3 millions d'hectares, durant la période 2000-2010. L'importance des superficies occupées par cette espèce, comparativement à la superficie occupée par l'orge, est influencée par le prix à la production garanti par l'état. Ces prix sont de 4500, 3500 et 2500 DA respectivement pour le blé dur, le blé tendre et l'orge (ouanzer, 2012)

Au cours de la période coloniale et bien avant cette dernière, l'orge et le blé dur assuraient le gros des besoins alimentaires des habitants et de leur cheptel. Depuis l'indépendance, une forte demande alimentaire se faisait sentir sur le blé dur et le blé tendre, alors que l'orge prenait une destination fourragère (Hakimi, 1993). Actuellement, le pays se classe au premier rang mondial pour la consommation de blé avec une moyenne dépassant largement les 200 kg/ha./an, comparativement à l'Égypte dont la moyenne est de 131 kg/ha./an et à la France dont la moyenne est de 98 kg/ha./an (Hervieu *et al.*, 2006).

Produire plus de céréales est devenue une question préoccupante pour l'Algérie, dont les besoins, d'une population en pleine croissance, sont estimées à plus de 111 million de quintaux vers 2020 (Hervieu *et al.*, 2006). Produire plus suppose que le milieu s'y prête et que la technologie suit. Ceci n'est pas toujours le cas de l'Algérie où les grandes zones productrices de céréales se caractérisent par un climat variable et des sols dont la fertilité est décroissante suite à des décennies d'une exploitation minière (Lahmar et Ruellan, 2007).

Les stress climatiques, comme le déficit hydrique, les températures extrêmes, deviennent très communs à mesure qu'on pénètre à l'intérieur du pays. Ces stress affectent le développement et la production des cultures, plus particulièrement la culture des céréales. Ceci est surtout valable pour les hautes plaines orientales, qui sont habituellement présentées comme un terroir dominé par les céréales pluviales (Abbas et Abdelguerfi, 2005 ; Mekhlouf *et al.*, 2006).

D'autre part, le blé est une culture qui reste fortement menacée par différents stress biotiques. Durant ces dernières années, de nombreuses maladies à taches foliaires sont observées. La tache bronzée causée par *Pyrenophora tritici-repentis* (anamorphe = *Drechsleria tritici-repentis*) et la tache septorienne causée par *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe = *Zymoseptoria tritici*), sont largement distribuées dans les régions céréalières de l'Algérie. Ces

deux maladies seraient à l'origine d'importants dégâts sur les variétés sensibles de blés durs et de blés tendres. L'importance des pertes dépend des cultivars utilisés et des isolats existants, pouvant ainsi réduire les rendements de plus de 60%; en particulier, *M. graminicola* qui s'est montré très préjudiciable au cours des dernières décennies lorsque les conditions climatiques sont favorables (Ayad *et al.*, 2014).

Les modalités de lutte utilisées contre cette maladie sont plus particulièrement de type chimique, les produits utilisés appartiennent aux triazoles et aux QoIs, notamment les strobilurines, agissant sur la respiration du parasite. L'efficacité des produits utilisés n'est toujours pas à la hauteur de la protection escomptée par l'agriculteur, en plus des effets non intentionnels décrits pour l'utilisation des pesticides sur la santé publique. D'autre part, la variabilité génétique de cet agent pathogène lui attribue des potentialités élevées pour affronter les contraintes de l'environnement, notamment, la résistance variétale chez le blé, ou la résistance aux fongicides utilisés, d'où l'émergence de souches résistantes aux strobilurines de ce pathogène a été déclarée dans plusieurs pays à travers le monde, notamment en Algérie (Allioui *et al.*, 2016).

Face à cette situation, la recherche est lancée actuellement dans beaucoup de laboratoires à travers le monde, sur la lutte biologique contre ce type d'agents pathogènes, par utilisation d'antagonistes. Peu de travaux ont porté sur *Zymoseptoria tritici*/*Mycosphaerella graminicola*, agent de la tache septorienne des feuilles du blé. En Algérie, un seul essai a été réalisé l'année dernière par Boumzaout et hachani (2015).

Cette étude vient contribuer au développement de cette axe de recherche et vise à tester l'effet de quelques souches bactériennes, sur *Zymoseptoria tritici*, et ceci par des confrontations *in vitro* en boîtes de pétri. Les bactéries faisant l'objet de cette étude sont plus particulièrement des *Erwinia sp.*, des actinomycètes, et *Pseudomonas fluorescens*.

Chapitre 1 : Généralités sur les septorioses du blé

1-1-Les septorioses du blé :

Le blé peut être attaqué par deux types de septorioses:

- La septoriose des épis
- La tache septorienne des feuilles

1-1-1-La septoriose des épis :

La septoriose des épis, est causée par le champignon ascomycète, formellement appelé : *Septoria nodorum*/ *Stagonospora nodorum* (Berk.) Castell. & Germ. téléomorphe, *Leptosphaeria nodorum* E.Müller/ *Phaeosphaeria nodorum* (Müller) Hedj. (Blixt, 2009), c'est une maladie qui touche aussi bien les feuilles, les semences et les épis (Fig. 1), et elle se manifeste sur les graines en germination. A la levée, les plantules flétrissent puis se nécrosent. Lorsque le parasite se développe rapidement, le blé ne lève pas et le coléoptile porteuse de lésions s'enroule sur lui-même. A la sortie de l'hiver, le système racinaire se réduit, le collet et les graines prennent une couleur brune et la plante s'affaiblit. Les plantes qui restent en vie portent la maladie (Syngenta, 2016).



Figure 1 : Symptômes causés par la septoriose des épis chez le blé (Kaddachi, 2012)

1-1-2-La tache septorienne des feuilles :

1-1-2-1-Importance de la maladie :

La tache septorienne des feuilles (en anglais *Septoria tritici blotch* : STB) est l'une des principales maladies foliaires du blé ; qui est largement répandue dans le monde.

Gouache *et al.* (2011), signalent que, la septoriose contamine les feuilles et cause des lésions importantes sur celles-ci. Les lésions réduisent la surface verte, ce qui entraîne une réduction de la photosynthèse et affecte négativement la croissance de la plante et donc le rendement final (Arvalis, 2003 ; Gate, 2006 ; El Jarroudi, 2009). La maladie est d'autant plus nuisible que la perte de surface verte est précoce. Les dégâts les plus importants résultent de la sénescence des 2 dernières feuilles, qui contribuent le plus au remplissage des grains. Parmi les composantes du rendement, le PMG (poids de mille grains) est la composante la plus touchée (Bensadoun, 2010).

Les pertes de rendement sont considérables en l'absence de fongicides et peuvent atteindre 40 à 60 % (Eyal *et al.*, 1987 ; Jorgensen *et al.*, 2008 ; HGCA, 2012 ; Arvalis, 2014). Elle affecte non seulement la quantité du produit, mais aussi sa qualité (McKendry *et al.*, 1995).

1-1-2-2- Présentation de l'agent causal :

Selon Quaedvlieg *et al.* (2011), la tache septorienne des feuilles est causée par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici* (EX. *Septoria tritici*); connue formellement sous les deux noms binomiaux *Mycosphaerella graminicola* Fuckel (J. Schröt.) (Téléomorphe = forme sexuée) et *Zymoseptoria tritici* Berk. & M.A. Curtis (anamorphe = forme asexuée). Le tableau 1 indique la position systématique de ses deux formes sexuées :

Tableau 1 : Taxonomie des deux formes de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé (Eyal *et al.*, 1987 ; Torriani *et al.*, 2008 ; Schoch *et al.*, 2009 ; Quaedvlieg *et al.*, 2011).

Classification	Forme Asexuée (Anamorphe) <i>Zymoseptoria tritici</i>	Forme Sexuée (Téléomorphe) <i>Mycosphaerella graminicola</i>
Règne	Mycètes	Mycètes
Division	Eumycètes	Eumycètes
Embranchement	Ascomycètes	Ascomycètes
S/Embranchement	Pezizomycètes	Ascom. Filamenteux
Classe	Dothideomycètes	Ascomycètes
S/Classe	Dothideomycetidae	Loculoascomycètes
Ordre	Capnodiales	Dothideales
Famille	Mycosphaerellaceae	Dothideaceae
Genre	<i>Zymoseptoria</i>	<i>Mycosphaerella</i>
Espèce	<i>Z. tritici</i>	<i>M. graminicola</i>

1-1-2-3- Symptômes de la maladie :

La septoriose attaque principalement le feuillage, et s'identifie par des nécroses allongées et délimitées par les nervures (Duncan *et al.*, 2000). Les premières lésions apparaissent après une période d'incubation qui peut aller d'une semaine à un mois. Ces symptômes (Fig. 2) sont d'abord des chloroses qui deviennent au fur et à mesure des nécroses sur lesquelles apparaissent des points noirs dit pycnides contenant un cirrhe chargé de conidiospores ou spores asexuées (Fig. 3). Les lésions sont généralement allongées et légèrement rectangulaires orillonties dans le sens des nervures de la feuille et délimité par celle-ci la période des risque de contamination c'est situés entre le stade 2 nœuds et le stade floraison (arvalis, 2016)



Figure 2 : Symptômes causés par *M. graminicola* sur le blé (Gigot, 2013)



Figure 3 : Cirrhe produit par *M. graminicola* sur le blé (arvalis; 2016)

1-1-2-4-Développement de la maladie :

La contamination se développe à partir des spores présentes sur les résidus de la récolte précédente, lorsque sont réunies les conditions : température entre 5°C et 25°C) et l'alternance de périodes sèches et humides, qui produisent le développement du champignon et la dissémination de ses spores (Eyal, 1987 ; Suffert et Sache, 2011).

Suffert et Sache (2011), ont montré que selon le type de résidus laissés sur le sol, on obtient des contaminations d'ampleurs très différentes l'année suivante. Si le champignon est sous forme sexuée, il produira des ascospores qui, transportées par le vent, se déposeront sur les feuilles ; s'il est sous forme asexuée, il produira des pycnidiospores qui se déposeront sur des feuilles transportées par les éclaboussures de pluie ou « splashing ». Une fois sur la feuille, si les conditions le permettent, il y aura

germination du champignon qui pénétrera dans la feuille. Après une période de latence, qui varie de 15 jours à 5 semaines en fonction des conditions, les symptômes apparaîtront sur la feuille sous forme de lésions. Celles-ci produiront alors de nouvelles spores et continueront de contaminer les autres étages foliaires, la septoriose est ainsi une maladie polycyclique (Suffert et Sache, 2011).

Pendant la saison culturale, la maladie se propage de plante à plante (progression horizontale) et feuille à feuille (progression verticale) sur de courtes distances par dispersion pluviale des pycnidiospores (Shaw, 1987). D'après (David M, 2015) la vitesse de développement d'une épidémie est déterminée par le nombre de cycles de multiplication asexués emboîtés (entre quatre et six), qui dépend des conditions de température et du nombre d'épisodes pluvieux (Morais, 2015)

1-1-2-2-5- Cycle biologique de *M. graminicola*

Le cycle biologique de *M. graminicola* (Fig. 4) peut être subdivisé en quatre phases (Gigot, 2013) détaillées ci-dessous dans le cas de la reproduction asexuée :

- **L'infection :**

Si les conditions environnementales sont favorables (en contact avec un feuille, températures élevées, présence d'eau libre et humidité relative à saturation), une spore va pouvoir germer (Magboul *et al.*, 1992). Le tube germinatif pénètre dans les tissus hôtes via les ostioles des stomates (Kema *et al.*, 1996 ; Duncan & Howard, 2000).

- **La période de latence :**

Durant cette phase, séparant l'infection initiale de la formation des premières structures sporulantes visibles, la progression des hyphes mycéliens s'effectue d'abord lentement et de façon peu destructrice dans les espaces intercellulaires (phase biotrophe). Néanmoins, lors de la mise en place des appareils reproducteurs (pycnides) au niveau des stomates, le développement du champignon s'intensifie et conduit à la destruction des parois cellulaires (phase nécrotrophe) (Lovell *et al.*, 2004).

- **La sporulation :**

Elle correspond à l'émission de pycnidiospores, des spores filiformes (de 30–80 μm de long et de 1,5–2 μm de large (Sivanesan, 1990). Ces spores, produites dans les Pycnides, sont couvertes d'une gelée protectrice - le cirrhe – constituée de sucres et de protéines hydrophiles. En conditions de forte humidité, ce mucilage sporifère est exsudé et se dissout dans le film d'eau tapissant la feuille, permettant ainsi la dissémination des spores sur la surface foliaire.

- **La dispersion :**

Pour les pycnidiospores de *M. graminicola*, elle est permise via l'éclaboussement de gouttes de pluie.

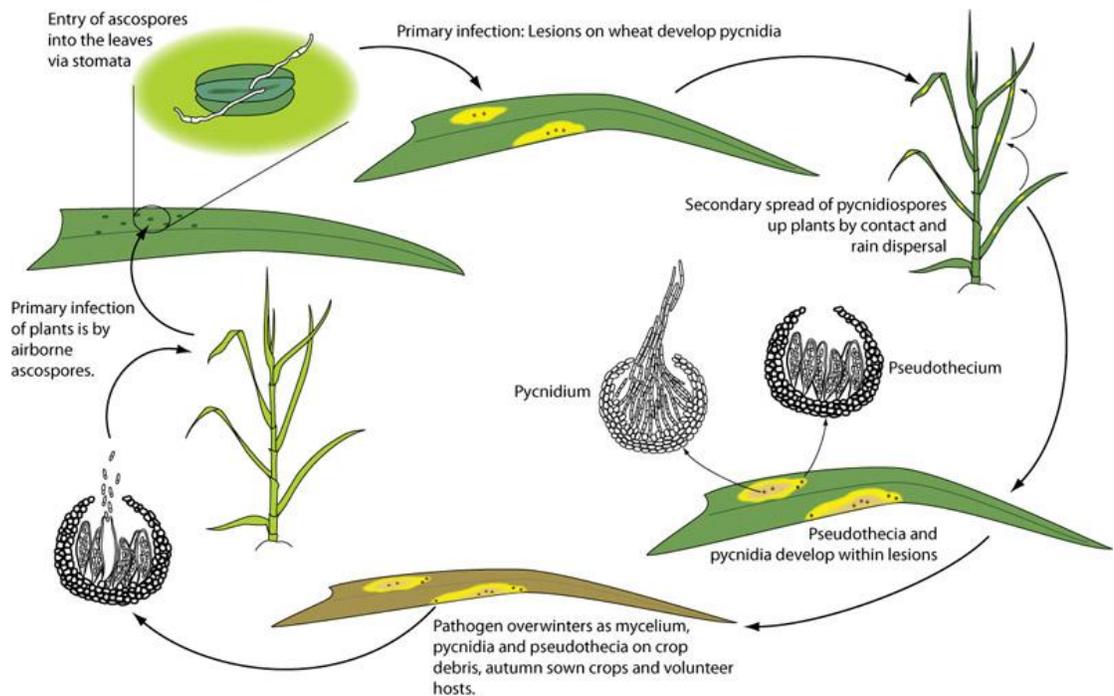


Figure 4 : Cycle biologique de *Mycosphaerella graminicola*

(Panomarenko A *et al.*, 2011)

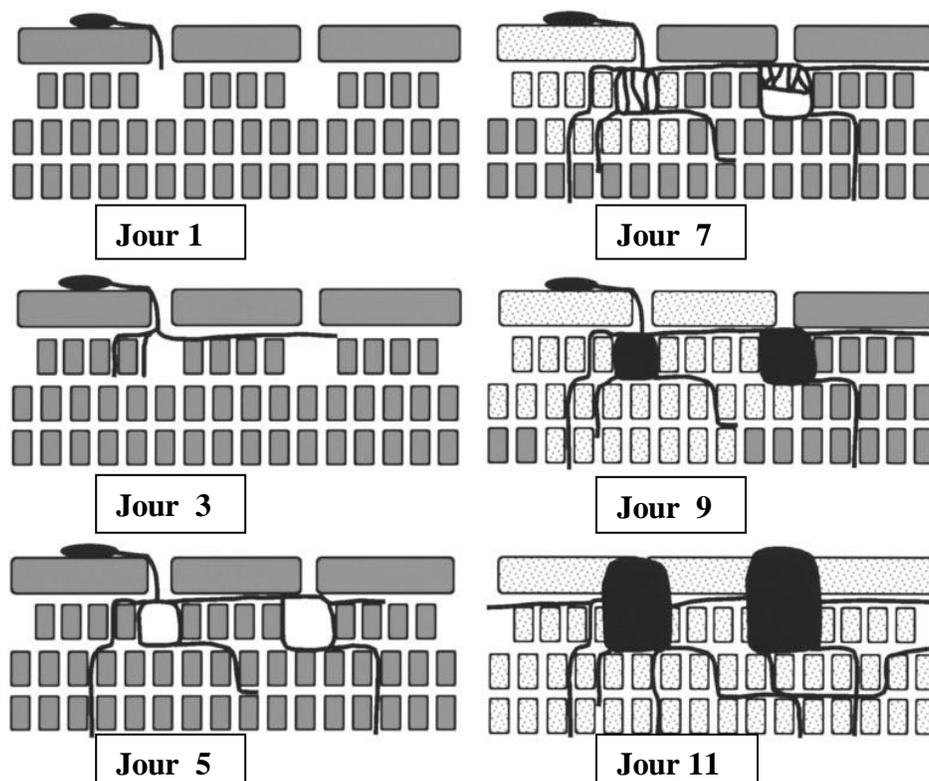


Figure 5 : Chronologie de l'infection de tissus hôtes de blé par *Mycosphaerella graminicola* en conditions de laboratoire (Gigot (2013), adapté de Duncan & Howard, 2000).

Chaque vignette correspond à la coupe transversale d'une portion de feuille de blé où sont visibles cellules épidémiques, cellules du mésophylle, ostioles de stomates et chambres sous stomatiques. **Jour 1.** Une pycnidiospore de *M. graminicola* germe, et le tube germinatif en croissance pénètre dans une chambre sous-stomatique en passant par l'ostiole. **Jour 3.** Les hyphes mycéliens débutent la colonisation de la chambre sous-stomatique en circonscrivant son périmètre, et se répandent dans les tissus adjacents par invasion intercellulaire. **Jour 5.** Les hyphes poursuivent leur croissance intercellulaire à la fois latéralement et en profondeur au sein des tissus foliaires. La contamination d'un seul site peut ainsi conduire à la colonisation de chambres sous-stomatiques adjacentes. **Jour 7.** La formation de ramifications densifie le réseau d'hyphes mycéliens sur le pourtour des chambres sous-stomatiques colonisées. La chlorose et la nécrose des premières cellules hôtes (remplies de points dans la figure) correspondent à la fois au début de la phase nécrotrophe du pathogène et à l'apparition des premiers symptômes macroscopiques. **Jour 9.** Les amas d'hyphes tapissant les chambres sous-stomatiques continuent de se densifier et les pycnides commencent à se former. Les symptômes macroscopiques s'accroissent avec la poursuite de la chlorose et de la nécrose du tissu hôte. **Jour 11.** Entourées de cellules hôtes nécrosées et maintenant pleinement arrivées à maturité, les pycnides sont visibles à l'œil nu, et peuvent exsuder de la cirrhe lorsqu'elles sont placées dans un environnement humide.

1-1-2-6- Plantes hôtes

En plus des céréales cultivées, le blé (*T. turgidum* L. et *T. aestivum*), le seigle (*Secale céréale* L.) et le triticales (*Triticosecale* ; Wit mark), la gamme d'hôtes de *M. graminicola* s'étend à de nombreuses autres poacées. A ce sujet, Eyal (1999) mentionne *Agropyron* spp., *Agrostis* spp., *Brachypodium* spp., *Bromus* spp., *Dactylis* spp., *Festuca* spp., *Hordeum* spp., et *Poa* spp. Parmi ces dernières, se trouvent de nombreuses espèces, adventices courantes des cultures de blé, de seigle ou de triticales, qui peuvent jouer le rôle de réservoirs pour le champignon pathogène en maintenant un inoculum à proximité immédiate des céréales cultivées.

1-1-2-7- Facteurs environnementaux favorisant la maladie :

Dans le cas de maladies causées par des champignons, les facteurs environnementaux ayant la plus grande influence sont la température et l'humidité, mais d'autres facteurs peuvent avoir un effet remarquable sur le développement des maladies, parmi ces facteurs on peut citer selon Agrios (2005) :

- le vent (qui permet la dispersion des spores et peut modifier localement les conditions de température et d'humidité),
- les radiations solaires (qui peuvent inhiber ou stimuler la germination de certaines spores).
- les caractéristiques physico-chimiques du sol (pour ce qui concerne les maladies telluriques).
- la composante humaine, qui peut intervenir directement ou indirectement, par exemple :
 - les choix variétaux (pour leur potentiel de rendement ou leur niveau de résistance aux maladies),
 - la densité de peuplement ou la modulation des dates de semis.
 - les pratiques culturales ainsi que l'utilisation de substances chimiques ou d'agents de lutte biologique conditionnent également le développement des populations pathogènes.

1-2-Méthodes de lutte contre les septorioses du blé :

La lutte contre les maladies cryptogamiques du blé vise à minimiser et retarder le développement des maladies, afin d'éviter qu'elles n'atteignent les feuilles supérieures qui contribuent à plus de 50 % au remplissage du grain (Lacroix, 2002). Les méthodes de lutte peuvent être chimiques, culturales ou génétiques, mais il est préférable d'intégrer ces différentes méthodes dans un seul programme (Eyal, 1999).

1-2-1- Lutte culturale

Pour atténuer la sévérité des maladies, les chercheurs recommandent l'application des pratiques culturales et les rotations avec des cultures nettoyantes, pendant longtemps, il a été recommandé de brûler les résidus de culture. Actuellement ce n'est plus le cas, car il arrive que des températures atteintes par cette action ne soient pas assez efficaces pour éliminer tous les débris et laissent de ce fait suffisamment de restes infectés pour maintenir l'inoculum à une autre culture de blé (Eyal, 1981).

1-2-2- Lutte génétique :

La sélection pour la résistance génétique aux maladies fongiques du blé reste la méthode de lutte rapportée comme la plus efficace et la moins coûteuse (Rapilly, 1991). En effet l'utilisation de cultivars résistants réduit la conservation du pathogène dans les chaumes et dans les graines (Krupinsky, 1999).

1-2-3- Lutte chimique :

Elle repose sur l'utilisation de pesticides, plus particulièrement des fongicides. Plusieurs matières actives ont été synthétisées, et sont utilisées pour combattre les septorioses (Triazoles, Strobilurines, ...), cependant certaines molécules ont montré une perte d'efficacité contre ces pathogènes suite à la plasticité du génome des agents de septoriose leur permettant le développement des souches résistantes aux fongicides en cas d'applications répétées de la même molécule. (Allioui 2015, allioui *et al.*, 2016)

1-2-4-Lutte biologique :

Elle repose sur l'utilisation d'ennemis naturels capables de combattre les agents pathogènes. Plusieurs travaux ont montré que différents agents microbiologiques (Bactéries, champignons, actinomycètes,), sont considérés comme antagonistes au *Mycosphaerella graminicola*, agent de la tache septorienne des feuilles du blé. Une synthèse des résultats de ces travaux sera présentée dans le chapitre 2 de ce mémoire.

2. Lutte biologique contre la septoriose du blé :

2.1. Définitions et concepts généraux de la lutte contre les maladies et ravageurs des cultures:

La lutte biologique peut être définie comme étant l'introduction d'un ennemi naturel à un ravageur/pathogène donné pour réduire les dommages causés par ce dernier. Les ennemis naturels ainsi que les ravageurs pathogènes sont de plusieurs natures : plantes, insectes, nématodes, champignons, bactéries, virus, etc. (Mahfoud et Lasbahani, 2015).

Bojanowski (2010) rapporte, qu'un biopesticide est composé d'un organisme vivant (Plante, nématode, bactérie, champignon ou virus) ou d'un produit dérivé de cet organisme, qui est utilisé pour supprimer ou réprimer un ravageur pathogène. Plusieurs biopesticides ont pour principes actifs des microorganismes antagonistes. (Thakore, 2006).

La lutte biologique contre un ravageur, se fait, souvent, à l'aide d'un organisme antagoniste appelé l'auxiliaire, qui peut être selon Lisan (2010) :

- un parasite : il pond ses œufs dans la proie (cas d'insectes et autres organismes).
- un prédateur : il tue et mange sa proie.
- un agent pathogène : il nuit à la proie (maladie induite par une bactérie ou virus).
- un compétiteur : il contamine sa proie.

2.1.1. La lutte conventionnelle et ses inconvénients :

Selon Lambert (2010), la lutte conventionnelle repose sur l'utilisation des pesticides. Ces pesticides sont souvent efficaces sur de nombreuses espèces de ravageurs, ce qui est avantageux pour l'efficacité mais cause des impacts sur des espèces très éloignées génétiquement de la cible. En effet, plusieurs pesticides ont des effets aigus ou chroniques sur la santé d'organismes non visés, comme les humains. De plus, certains pesticides jouent un rôle dans le développement de cancers et certains organophosphorés sont reconnus comme pouvant causer des dommages neurologiques (Cape, 2000).

Un exemple d'effets de ces produits, est palpable chez les populations d'abeilles, qui peuvent être grandement affectées par certains pesticides. L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a signalé qu'en 2008, plus de 5 000 pesticides peuvent potentiellement provoquer des dommages aux abeilles. Leur importance en tant que pollinisateurs des cultures est menacée (Lambert, 2010).

2.1.2. La lutte intégrée :

Selon Lambert (2010), la lutte intégrée est une stratégie multidisciplinaire de contrôle des ravageurs qui inclut plusieurs approches comme par exemple la lutte biologique, les méthodes culturales et l'usage judicieux et limité des pesticides chimiques. Cette méthode considère l'écosystème dans son ensemble, dont les interactions entre les organismes. Le but ultime est de réduire les dommages aux cultures économiquement, avec le moins de menaces à l'environnement et à la santé humaine possible (EPA, 2009).

2.2 Historique de la lutte biologique

La lutte biologique des agents pathogènes est une sous-discipline dans la science de la Phytopathologie. Bien qu'elle ait débuté il y a plus de 70 ans, c'est seulement autour de 1960 que la théorie et la pratique ont fait l'objet d'une première réunion. Au cours des 20 dernières années, le nombre de recherche dans ce domaine a augmenté. Au cours des 10 dernières années, plus de 40 produits biologiques sont apparus sur le marché mais cela représente encore seulement une petite fraction du nombre et des ventes de produits chimiques destinés pour les champs, les vergers et la culture des arbres. En 1993, la vente des biofongicides représentait moins de 1 million de dollars, tandis que les ventes totales de fongicides excédaient 5.5 billions de dollars. (Caron et Laverdière, 2006).

2.3 Objectifs de la lutte biologique:

La lutte biologique et la lutte conventionnelle ont des approches et des objectifs bien différents. Le but de la lutte conventionnelle est l'éradication de tous les ravageurs présents, sans considération de seuils tandis que le but de la lutte biologique est de réduire et de contrôler les populations de ravageurs en dessous d'un seuil d'intervention pour lequel les dommages sont économiquement et esthétiquement acceptables. La notion d'équilibre est très importante : pour qu'il y ait maintien des populations de ravageur sous ce seuil, la quantité d'antagonistes doit être suffisante, cette proportion variant selon l'écologie des espèces concernées et les conditions externes comme le climat (Lambert, 2010).

2.4. Les principaux types de lutte biologique :

Dib (2010) rapporte que trois types de lutte biologique sont classiquement connus :

- **La lutte biologique par l'introduction ou l'acclimatation :** où des auxiliaires exotiques sont introduits pour contrôler les ravageurs exotiques. Cette approche a été utilisée avec succès

dans les champs ouverts et a conduit à la réduction permanente de plus de 165 espèces de ravageurs dans le monde entier.

- **La lutte biologique augmentative:** les auxiliaires exotiques ou indigènes sont périodiquement libérés à des périodes choisies, soit en inondant un champ avec un grand nombre d'individus sans que l'établissement et la reproduction de ceux-ci soient visés (**lutte biologique inondative**), soit en inoculant de relatives faibles quantités d'auxiliaires qui doivent s'établir, se multiplier et coloniser une zone donnée et c'est donc leur descendance qui sera efficace (**lutte biologique inoculative**). Cependant cet établissement n'est généralement pas permanent et des introductions doivent être faites une ou plusieurs fois par saison. Cette technique est employée souvent dans des systèmes agricoles fermés comme les serres. la lutte biologique augmentative a été employée depuis 90 années, et plus de 150 espèces d'auxiliaires sont disponibles commercialement pour la lutte contre environ 100 espèces de ravageurs.

- **La lutte biologique par conservation:** La lutte biologique par conservation tend à manipuler l'habitat afin d'augmenter l'impact des auxiliaires déjà présents dans la culture, en utilisant les pesticides au minimum et en fournissant les ressources écologiques principales (**infrastructures écologiques**). L'Organisation Internationale de Lutte Biologique (**OILB**) définit l'Infrastructure écologique comme « toute infrastructure, dans une ferme ou dans un rayon d'environ 150 m, qui a une valeur écologique, telle que la haie, la prairie, la bande florale, le tas en pierre, etc. » et juge que son utilisation judicieuse augmente la biodiversité fonctionnelle de la ferme (Boller *et al.*, 2004).

2.5. Avantages et inconvénients de la lutte biologique:

2.5.1. Particularités d'application :

Dans certains pays, des particularités environnementales, économiques et sociales permettent d'évaluer arbitrairement l'applicabilité de la lutte biologique, par rapport à l'utilisation des pesticides conventionnels. Il s'agit entre autres du climat, des ressources naturelles du territoire, de l'importance économique de l'agriculture, des types de cultures et de ravageurs présents, de la perception des citoyens et du potentiel en recherche et développement (Lambert, 2010).

En Algérie, un important facteur est la grande différence de températures entre l'hiver et l'été : dans une même année, les températures peuvent passer de -5 °C en hiver à 40°C en été. De tels extrêmes limitent les organismes pouvant être introduits. Les organismes, pour s'établir,

doivent survivre à ces températures extrêmes ou être en mesure de s'en protéger en trouvant un refuge [1].

2.5.2. Précautions élémentaires :

L'applicabilité de la lutte biologique exige la prise en considération de plusieurs paramètres (Lisan, 2010) :

- **Une bonne connaissance à priori de l'écosystème de la cible**
 - biologie de la cible
 - structure du réseau trophique

- **Le choix minutieux de l'agent utilisé**
 - screening complet des agents potentiels
 - biologie de l'agent (spectre d'hôtes ou de proies, sensibilité aux conditions environnementales, capacité de dispersion, ...)
 - essais en laboratoire

- **Les précautions lors de l'introduction de l'agent**
 - quarantaine
 - technique d'introduction (nombre, lieu, date, ...)

- **Le suivi à long terme**
 - de la cible
 - de l'agent
 - et aussi des autres espèces de l'écosystème

2.5.3. Avantages, bienfaits et commodité de la lutte biologique

Selon Caron et Laverdière (2006), la lutte biologique présente un certain nombre d'effets bénéfiques qui peuvent être résumés comme suit :

- Restreindre ou éliminer l'utilisation de pesticides chimiques
- Favoriser lors d'une utilisation en serre (culture serricole de haute valeur économique).
- Diminuer les risques de développer de la résistance
- Favoriser par le nombre restreint de fongicides homologués en serre
- Améliorer la qualité de vie des travailleurs agricoles

- Ne prévoir aucun délai avant la récolte
- Offrir aux consommateurs des produits sains
- Avoir une meilleure presse auprès des consommateurs
- Maintenir la biodiversité des biotopes.

2.5.4. Inconvénients, risques et limites d'applicabilité de la lutte biologique

Certains inconvénients et risques ont été recensés pour la lutte biologique (Caron et Laverdière, 2006) :

- Lutte souvent faite en prévention
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'applications), moins rapide.
- Seuil de tolérance très bas pour les maladies
- Peu d'organismes disponibles commercialement.
- Marché restreint pour le domaine serricole
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre
- Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi-vie et température plus fraîche).

2.6. Principaux organismes utilisés en lutte biologique :

Plusieurs groupes d'organismes peuvent être utilisés en lutte biologique. Les principaux sont (Dib, 2010) :

- les micro-organismes
- les nématodes
- les insectes et les arachnides.

Les organismes bénéfiques utilisés en lutte biologique doivent avoir un bon taux de reproduction, être spécifiques, avoir une bonne capacité d'adaptation et leur cycle de vie doit être synchronisé à celui du ravageur (Weeden *et al.*, 2007).

Sous le terme de « **auxiliaires** », on peut trouver des organismes vivants très différents en raison des rôles de diverses natures qu'ils peuvent jouer au sein d'une même niche écologique. Les ennemis naturels comprennent (Schiffers et Wainwright, 2011) :

- les prédateurs
- les parasites
- et les agents pathogènes spécifiques aux parasites (maladies).

❖ Les malherbologistes s'intéressent à des agents dont la spécificité d'action doit mettre les plantes cultivées à l'abri d'éventuels effets non intentionnels : insectes phytophages, agents pathogènes....

❖ Les phytopathologistes s'intéressent aux microorganismes compétiteurs qui empêchent l'implantation et la prolifération des espèces phytopathogènes (ex : levures colonisant la surface des pommes destinées au stockage qui empêchent le développement du *Penicillium expansum*).

❖ Les entomologistes exploitent surtout la diversité des prédateurs et parasites (insectes et acariens,...).

2.6.1. Mécanismes d'action des microorganismes antagonistes :

Les microorganismes peuvent exercer une activité antagoniste selon différents mécanismes incluant: La compétition, les interactions directes cellule à cellule, l'antibiose, la dégradation des signaux de quorum sensing QS (mécanisme permettant d'interférer dans la communication intercellulaire essentielle à la pathogénicité de certaines bactéries), et les actions sur la résistance de l'hôte (Figure 6). La compétition consiste en « la consommation ou le contrôle de l'accès à une ressource comme les nutriments, l'espace ou tout autre facteur dont la disponibilité est limitée ». Cette compétition peut se faire entre autres par la création de barrières physiques (Biofilms) ou la sécrétion de sidérophores permettant la capture du fer (Figure 7). Certains microorganismes sont des hyperparasites et interviennent directement sur le phytopathogène en le parasitant. D'autres microorganismes sont capables d'induire une résistance systémique ponctuelle (Résistance systémique induite) ou encore une résistance plus permanente (Résistance systémique acquise) chez les plantes hôtes. Un microorganisme donné peut exercer une activité antagoniste en utilisant plusieurs mécanismes à la fois (Montesinos *et al.*, 2009).

2.6.2 Évaluation de la spécificité des auxiliaires en lutte biologique

Selon Carsalade *et al.* (2007), plus un ennemi naturel est spécialiste (à opposer aux ennemis généralistes, souvent des prédateurs), moins grand sera le risque d'observer des effets non-intentionnels dans l'aire de lâcher, telle la prise de nourriture sur des organismes non cibles (espèces cultivées, protégées, et/ou indigènes).

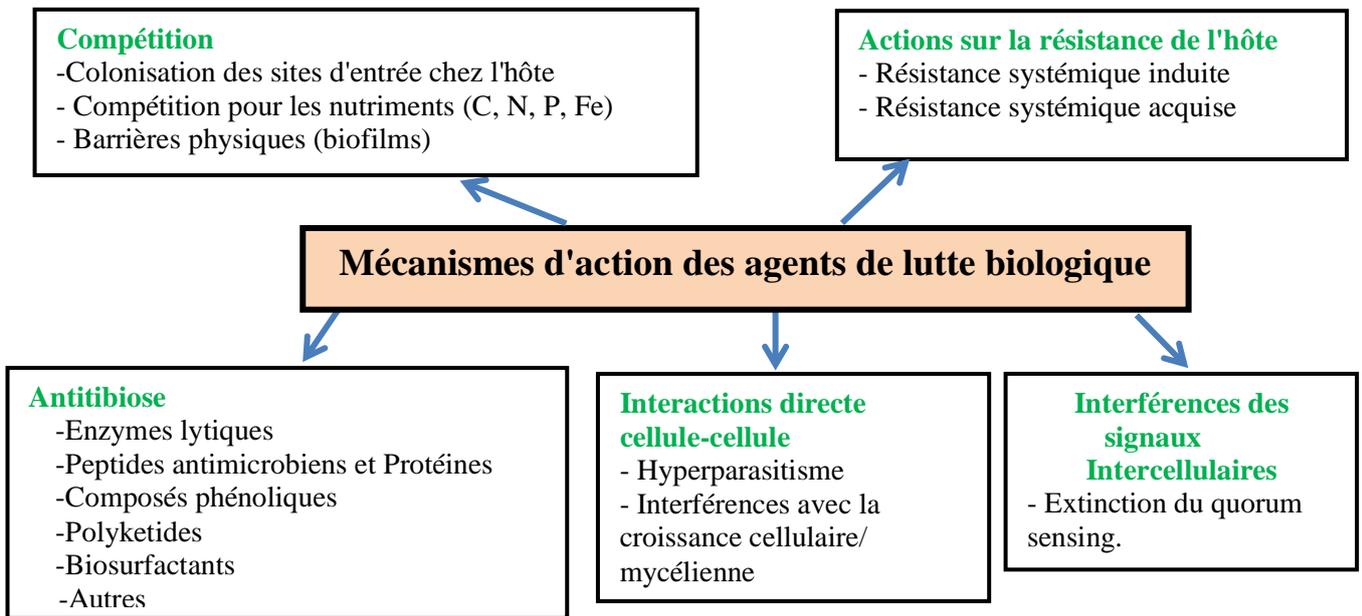


Figure 6: Mécanismes d'action des agents de lutte biologique (Bonjanowski (2011) Adapté de Montesinos *et al.*, 2009).

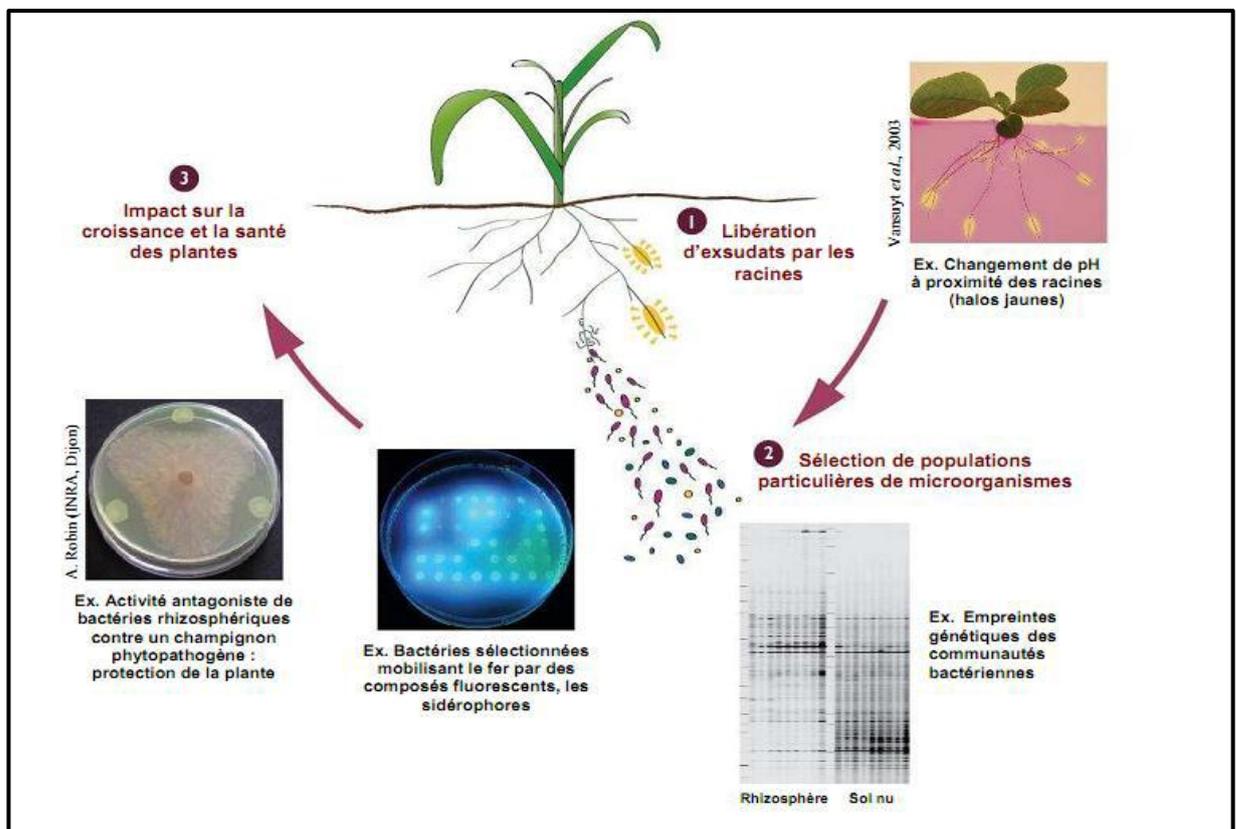


Figure 7 : Représentation schématique décrivant les interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère (Mezaache (2012) adapté de Lemanceau *et al.*, 2006).

La notion de spécificité dépend du type de bioagresseur choisi ; en effet si une espèce envahissante est la seule représentante de son genre ou de sa famille dans l'aire introduite, alors la spécificité au niveau du genre peut être suffisante. Au contraire, si l'espèce introduite appartient à un genre très diversifié dans l'aire introduite, incluant des espèces d'importance économique ou environnementale, la notion de spécificité sera d'autant plus importante (Carsalade *et al.*, 2007).

2.7. Le pouvoir des bactéries pathogènes :

Le rôle des bactéries en lutte biologique peut être résumé comme suit [2] :

- Utilisées dans une fonction antagoniste, les bactéries (ou les champignons) permettent de réduire le niveau de pression globale des maladies cryptogamiques.
- Les bactéries se comportent dans l'organisme de l'hôte infecté comme des éléments étrangers à ses constituants, dotés de propriétés de parasitisme capables de se développer à ses dépens et produisant des effets pathologiques par leur prolifération ou par l'intermédiaire de substances qu'elles synthétisent.
- La virulence des bactéries peut se définir être la mesure quantitative de la pathogénicité, elle est donc liée soit à la prolifération des bactéries, soit à l'intensité de libération de substances pathogènes telles que les toxines.

2.7.1. Présentation des effets bénéfiques :

Certaines souches bactériennes appelées «Plant Growth Promoting Rhizobacteria» semblent présenter un effet de bactérisation, favorable pour l'amélioration des rendements des cultures. L'augmentation de rendement d'une culture bactérisée résulte de deux effets bénéfiques principaux : La stimulation de croissance des plantes et la protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique. D'autres effets bénéfiques ont également été décrits. Ainsi certaines souches de *Pseudomonas* stimulent la germination des graines. D'autres influencent positivement les interactions entre les microorganismes symbiotiques (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*; champignons mycorhiziens) et la plante hôte (Lemanceau, 1992).

2.7.2. Principaux groupes de bactéries utilisées en lutte biologique :

2.7.2.1. Les bactéries du genre *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont des bactéries Gram négatif, aérobie stricte (à l'exception de certaines souches capables d'utiliser les nitrates comme accepteurs d'électrons) et non

sporulantes. Elles sont mésophiles, chimioorganotrophes et possèdent un ou plusieurs flagelles polaires.

Le terme *Pseudomonas* signifie « fausse unité » et provient du grec pseudo (Grec: i/eoôo « faux ») et monas (Grec: uovàç/uovdôa « unité »). Les *Pseudomonas* sensu stricto constitue un groupe très hétérogène et comprend notamment *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens* et *P. syringae* (Haas et Defago, 2005).

Les *P. fluorescens* et *P. putida* se retrouvent naturellement dans le sol. Plusieurs souches sont utilisées comme biopesticides en raison de leurs actions antagonistes envers plusieurs phytopathogènes. Les *P. fluorescens* sont difficilement discernables des *P. putida* malgré les méthodes moléculaires utilisées en phylogénie. Elles peuvent présenter les mêmes caractéristiques notamment au niveau des mécanismes par lesquels elles exercent une activité antagoniste. Les *Pseudomonas* spp. *Fluorescents saprophytes* sont les habitants type des sols agricoles et la rhizosphère des plantes, et sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes. Ces bactéries sont considérées comme des composés biologiques du sol agricole, et sont responsables de la suppression des maladies fongiques dans les cultures. Ces *Pseudomonas* diminuent la sévérité de la maladie et stimulent la croissance des plantes, notamment le blé (Bojanowski, 2011).

***Mécanismes d'action**

- Les *P. fluorescens/putida* utilisent plusieurs stratégies afin de défendre leur niche écologique, notamment la synthèse d'un pigment fluorescent nommé pyoverdine, sidérophore permettant la capture des ions fer (Fe^{3+}), à l'origine de leur nom. En capturant les ions fer, ces bactéries les rendent indisponibles aux autres microorganismes (Haas et Defago, 2005).

- Un autre sidérophore, la pyochéline (Sécrétée par certaines souches de *Pseudomonas*), permet de compétitionner pour le fer mais aussi le zinc et le cuivre. la pyochéline a une plus grande affinité pour le zinc que pour le fer (Bojanowski, 2011).

- La production de molécules antimicrobiennes est également utilisée par les *Pseudomonas* afin d'inhiber la croissance d'organismes compétiteurs (Fig. 9). Ce mécanisme d'action est le plus important chez les *Pseudomonas*.

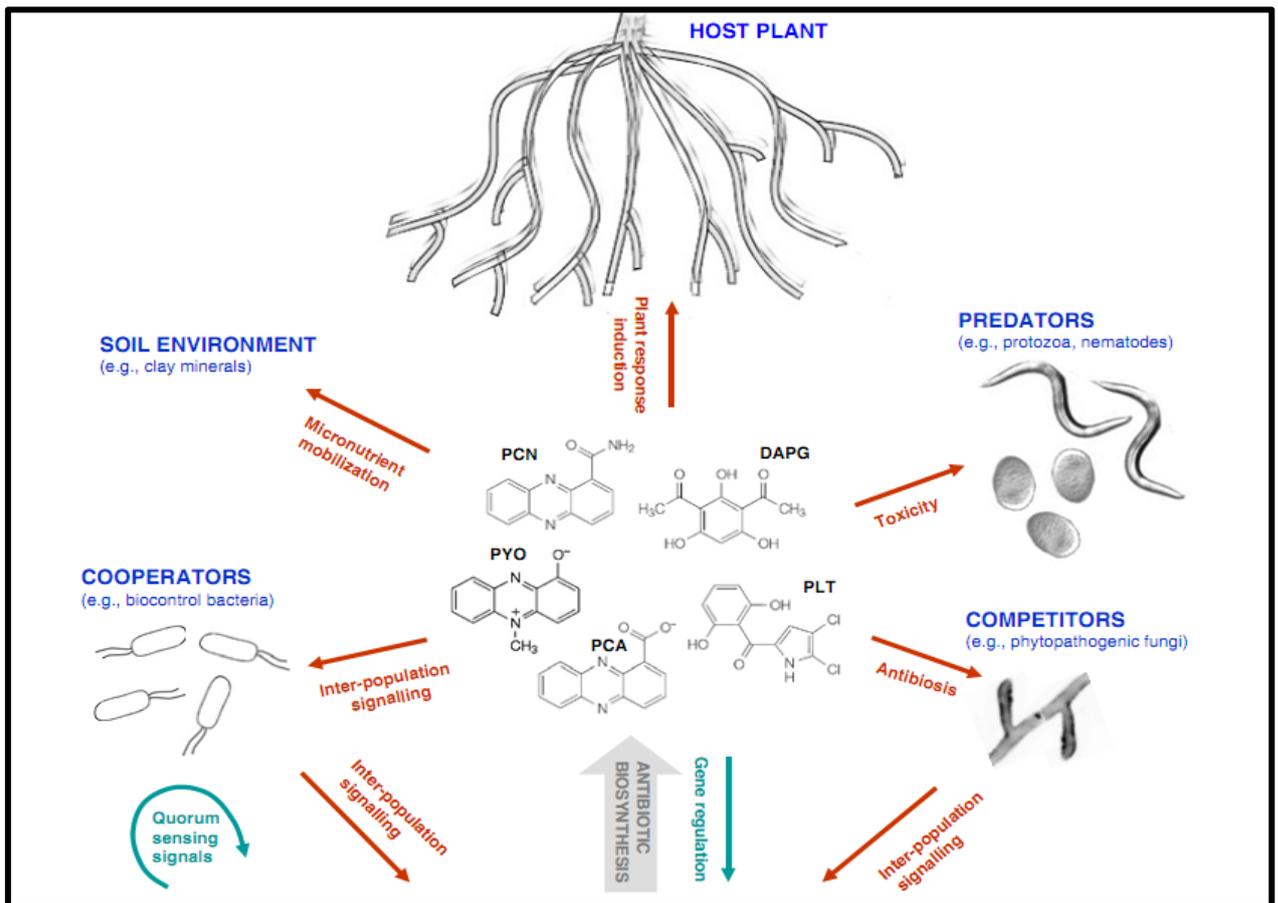


Figure 8: Les principaux antibiotiques produits par les souches de *Pseudomonas*. PCA : phénazine-1-carboxylate, PYO : pyocyanine, PCN : phénazine-1-carboxamide, DAPG : 2,4, diacétylphloroglucinol, PLT : pyolutéorine. (Dubuis *et al.*, 2007).

*** Molécules antimicrobiennes connues chez les *Pseudomonas spp.***

Les recherches réalisées ont permis l'isolation de plusieurs molécules antibiotiques. Les premières molécules antibiotiques à avoir été isolées d'une souche (Pf-5) de *P. fluorescens* et identifiées sont la pyrrolnitrine en 1979, puis la pyolutéorine. Par la suite, d'autres composés ont été isolés comme la phénazine, le DAPG (2-4, diacétylphloroglucinol), la pyocyanine et la viscosamide. Le mode d'action de certaines de ces molécules est déjà élucidé (Bojanowski, 2011) :

- Les phénazines, analogues des flavines (Coenzymes), inhibent le transport des électrons. Elles peuvent aussi libérer des radicaux libres en présence de pyochéline chargée en ions ferreux qui causeront des dommages aux lipides et autres macromolécules. Pour sa part, le

DAPG (2-4, diacétylphloroglucinol) cause des dommages aux membranes de *Pythium* spp. et inhibe fortement la germination des zoospores de cet oomycète.

- Le cyanide d'hydrogène produit également par les *P. fluorescens* peut inhiber un grand nombre de métalloenzymes. Les lipopeptides produits par les *P. fluorescens* jouent le rôle de surfactants et peuvent s'insérer dans les membranes microbiennes causant d'importants dommages à certains microorganismes (Haas et Defago, 2005).

2.7.2.2. Les actinomycètes

*Définition et caractères généraux

Les actinomycètes sont des bactéries filamenteuses, séptées, ramifiées, à coloration de Gram positive (Nanjwad *et al.*, 2010). La morphologie des différents groupes d'actinomycètes est très variable, elle va de formes peu évoluées comme *Mycobacterium*, à des formes très évoluées comme le genre *Streptomyces* qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant (Smaoui, 2010).

Les actinomycètes ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs, du fait de leur mycélium, souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, du fait également de la fructification par sporanges libérant des spores chez nombre d'entre eux (Loucif, 2011). Leurs propriétés chimiques, physiologiques, et immunologiques les rangent parmi les procaryotes. Leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (formes oxydatives), et leur cytologie est celle des bactéries. Ces caractères s'ajoutant à d'autres (leur parasitage par des bactériophages, leur sensibilité aux antibiotiques antibactériens) ne permet pas de les classer parmi les mycètes (Loucif, 2011).

Les actinomycètes appartiennent au règne des Procaryotes, à la division des Firmicutes et à la classe des Thalobacteria, contenant l'ordre des Actinomycetales (Larpen, 2000).

*Importance des actinomycètes

Melouah (2015) rapporte que les Actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les microorganismes en tant que producteurs d'antibiotiques. On estime que les deux tiers des quelque six mille antibiotiques isolés jusqu'ici sont produits par les actinomycètes, et c'est Selman A. Waksman qui, le premier, a démontré la richesse des actinomycètes dans ce domaine. Ce fut dans ses laboratoires que furent isolés quatre des premiers antibiotiques utiles: l'actinomycine

(1940), antitumorale; la streptomycine (1944), antibactérienne, y compris antituberculeuse; la néomycine (1949), antibactérienne; et la candicidine (1953), antifongique, ayant aussi des propriétés pharmacologiques intéressantes en tant que ligand des stéroïdes.

Les enzymes sont, après les antibiotiques, les plus importants produits des actinomycètes. Certaines sont utilisées à cet effet dans l'industrie alimentaire (isomérase du glucose) et dans celle des détergents (protéases). Les glycosidases des actinomycètes jouent un rôle important dans la dégradation des biomasses végétales (amylases, xylanases) et animales (chitinases). L'activité antifongique des actinomycètes, ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'étend aux levures et aux dermatophytes. Les actinomycètes sont employés en agriculture comme des agents biologiques, qui peuvent être utilisés pour tuer les insectes nuisibles et les mauvaises herbes (Loucif, 2011).

2.7.2.3. Les bactéries du genre *Erwinia*

* Caractères microbiologiques

Le genre *Erwinia* appartient à la famille des Entérobactéries qui comprend de nombreuses espèces pathogènes d'animaux, d'insectes ou de plantes. Il comprend des espèces pathogènes comme *E. amylovora*, *E. pyrifoliae*, *E. mallotivora*, *E. papayae*, *E. psidii*, *E. rhapontici*, ou épiphytes comme *E. billingiae*, *E. toletana*, *E. trachaephila*, *E. aphidicola*, *E. persicina*, et *E. tasmaniensis*. [3].

* Les facteurs du pouvoir pathogène

Les bactéries du genre *Erwinia* sont plus particulièrement connues par leur pouvoir pathogène à l'égard de plusieurs espèces végétales, leur rôle en lutte biologique est très peu étudié.

De nombreux travaux réalisés sur *E. amylovora* ont montré que trois déterminants ont été identifiés chez cette bactérie : le système d'acquisition du fer, les exopolysaccharides, et les protéines, codées par les gènes *hrp-dsp* (Hyper sensitive Reaction and Pathogenicity- Disease Specific). *E. amylovora* possède un système d'acquisition du fer, important pour la survie de la bactérie en milieu carencé en fer comme l'apoplaste. Plusieurs sidérophores sont synthétisées par cette bactérie. (Cesbron, 2010).

Kettani (2014) rapporte que les *Pectobacterium* produisent de grandes quantités d'enzymes pectinolytiques qui en synergie avec d'autres enzymes provoquent la dégradation des tissus végétaux, à des degrés d'agressivité variables. *Pectobacterium carotovorum* sub sp. *carotovorum*

(Pcc ; ex *Erwinia carotovora*) sécrète de façon synchrone et en réponse à un mécanisme de régulation appelé quorum sensing l'ensemble des enzymes lytiques (pectate lyases, pectinases, polygalacturonase, cellulase, protéase, etc.) dont l'activité est responsable des symptômes de macération observables sur plants et tubercules. Cet arsenal enzymatique est particulièrement bien adapté à la dégradation de tous les composants des parois cellulaires végétales, ce qui explique l'ampleur des dégâts observés et leur vitesse d'apparition. Il existe d'autres mécanismes importants participant au pouvoir pathogène des *Pectobacterium* sp à savoir: la mobilité, l'acquisition du fer via la production des sidérophores, la formation de biofilm, le chimiotaxisme, etc.

3- Matériel et méthodes.

3-1- Préparation et cultures de l'agent pathogène *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola*:

3-1-1- Prospections et collecte des échantillons de septoriose :

Des prospections réalisées pendant les mois de février et mars dans la région de Guelma ont permis de visiter une trentaine de champs de blé (blé dur et blé tendre), choisis au hasard par arrêt le long des axes routiers tous les 10 à 20 km. Pour chaque champ, dix à vingt pieds ont été inspectés au hasard. Ceci a montré que l'incidence de la maladie est faible pour cette campagne 2015/2016 en comparaison avec les années précédentes où la tache septorienne des feuilles a infesté en 2012/2013, plus de 80 % des champs de blé dans la région Est du pays (Allioui, 2015).

Trois régions ont montré une incidence plus ou moins remarquable : Belkheir, Boucheggouf et Hadjer Mengoub, notamment dans des champs de blé tendre.

Les isolats de *Zymoseptoria tritici* utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir de plants de blé tendre présentant des symptômes de la tache septorienne des feuilles, collectés d'un champ de blé situé à route Belkheir, wilaya de Guelma (Fig. 09).



Figure 09 : Champ de blé tendre infecté par la tache septorienne des feuilles (Belkhir, Guelma), site de collecte des souches de *Z. tritici*, utilisées dans cette étude.

3-1-2- Isolement des souches de *Zymoseptoria tritici*:

3-1-2-1- Préparation des échantillons :

Des échantillons de feuilles, montrant des symptômes typiques (nécrose foliaires, parsemées de pycnides) de la tache septorienne des feuilles (Fig. 10), prélevées de plantes différentes ont été sélectionnés et mis dans des boîtes de pétri en chambre humide pendant une nuit dans les conditions de température ambiante au laboratoire pour l'émission des cirrhes (Fig. 11).

3-1-2-2- Isolement du pathogène :

Après une nuit d'incubation en chambre humide, les pycnides émettent un cirrhe blanchâtre chargé de spores (Fig. 12), et des cultures monospores sont préparées selon la technique décrite par Allioui (2015) :

- Les cirrhes contenant les spores sont prélevés sous loupe binoculaire à partir de la surface des pycnides avec une aiguille stérile avant de les mettre en suspension dans de l'eau stérile. Pour avoir suffisamment d'isolats, trois cirrhes de différentes pycnidiospores ont été prélevées de chaque feuille.

- La suspension de spores est ensuite étalée sur des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar).

- Après une période d'incubation de 4 à 6 jours à l'obscurité, des micro-colonies de couleurs blanchâtre à rosâtre, caractéristiques de *Zymoseptoria tritici*, se sont développées.

- A l'aide d'une Anse de platine, une seule colonie est prélevée puis repiquée sur du milieu PDA neuf et utilisée ultérieurement pour les tests de confrontation.

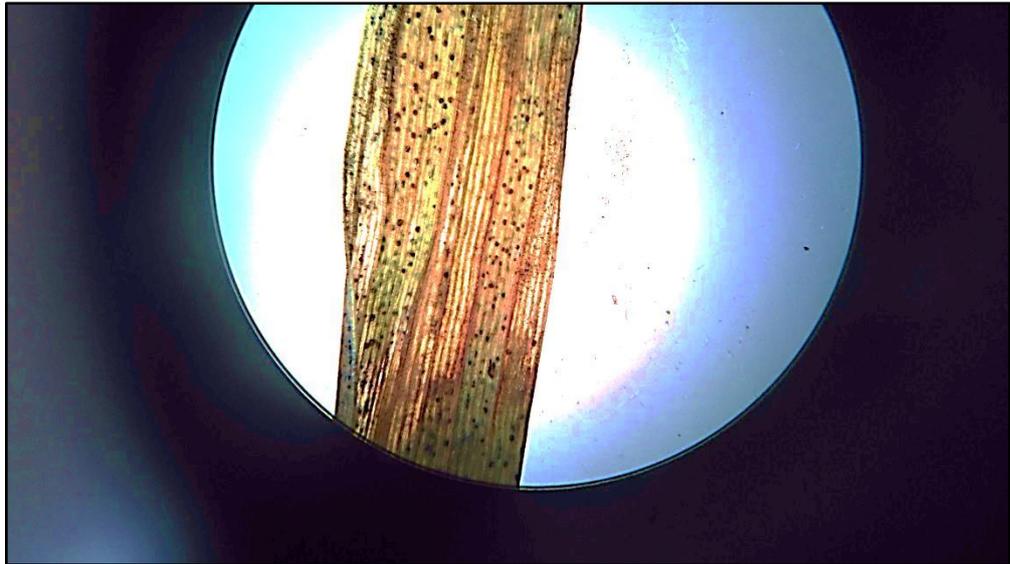


Figure 10:Feuille de blé montrant les pycnides de *Zymoseptoria tritici* observée à la loupe binoculaire (x 5).(Photo personnelle).

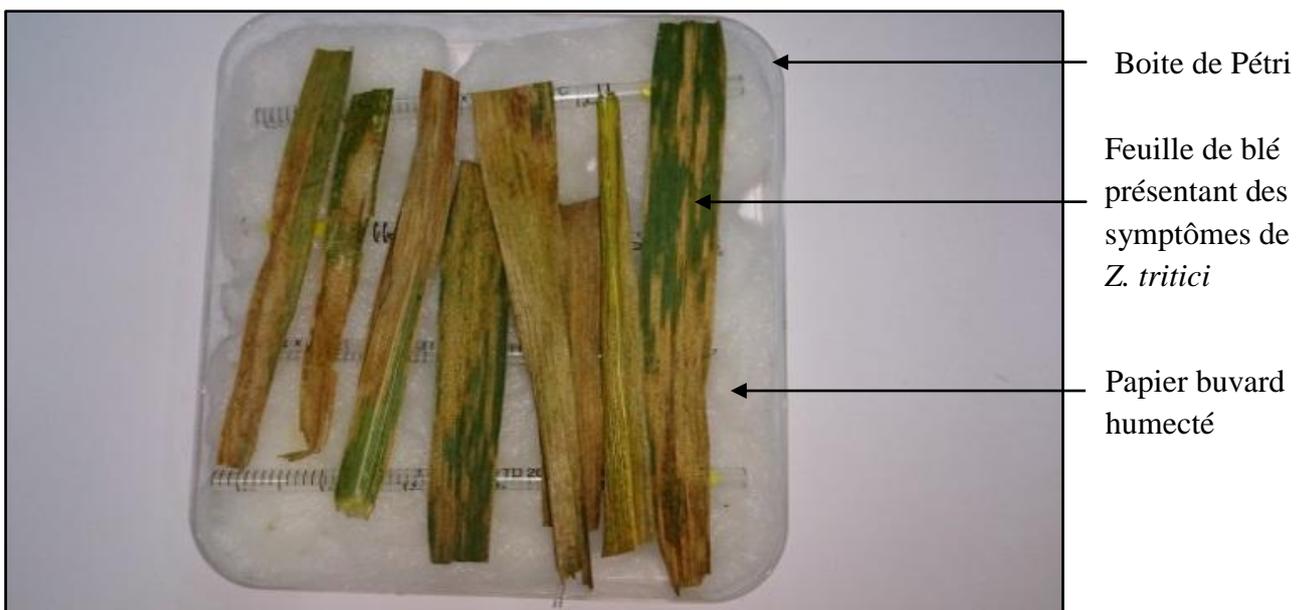


Figure 11:Préparation des échantillons pour l'isolement du pathogène (Photo personnelle).

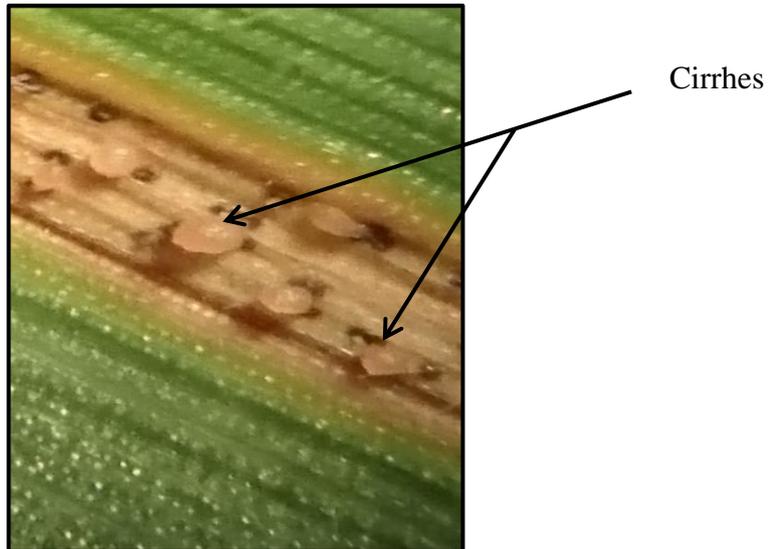


Figure 12: Cirrhés de *Mycosphaerella graminicola* sur feuille de blé, émis après une nuit dans la chambre humide, observées à la loupe binoculaire (x 5).
(Photo personnelle).

3-1-3- Caractérisation des souches de *Zymoseptoria tritici* :

Après une période de 6 à 8 jours de croissance sur le milieu PDA, une masse fongique, caractéristique de l'agent pathogène de la tache septorienne *Mycosphaerella graminicola* se développe à la surface de la boîte de Pétri. Des observations à la loupe binoculaire et au microscope optique ont été réalisées, dans le but de confirmer les caractéristiques de l'espèce (*Z. tritici*).

-Caractérisation macroscopique :

Deux paramètres ont été pris en considération pour la caractérisation des isolats de *Mycosphaerella graminicola*:

- Aspect (forme) de la culture sur le milieu de culture PDA (type de croissance).
- Couleur de la colonie.

-Caractérisation microscopique :

Le type de spores du champignon est le seule paramètre pris en considération pour la confirmation des caractéristiques microscopiques des isolats de *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola* utilisés dans cette étude.

3-2- Préparation et culture des agents antagonistes testés:

Les manipulations portant sur l'étude du pouvoir antagoniste de quelques bactéries à l'égard de *Mycosphaerella graminicola*, ont porté sur 32 souches de bactéries. Le tableau 3 indique le site d'isolement et de collecte des souches.

Les souches d'*Erwinia* et de *Pseudomonase* sont été fournies par Mr. BENADA M., enseignant de phytopathologie au sein de l'université de 8 mai 1945 de Guelma, alors que les souches d'actinomycètes ont été fournies par Mme KHENAKA K., enseignante de microbiologie au sein de l'université de 8 mai 1945 de Guelma.

3-2-1- Culture des agents de lutte biologique :

Tous les isolats des agents de lutte biologique (agents probablement antagonistes de *Mycosphaerella graminicola*) sont cultivés sur du milieu LPGA (Annexe).

3-2-2- Bilan des traitements et des tests réalisés :

Les combinaisons établies entre les différents microorganismes faisant l'objet de cette étude et l'agent de la tache septorienne des feuilles du blé (*Mycosphaerella graminicola*) a fait ressortir, en total 32 traitements:

- ✓ 14 traitements pour les tests de confrontations de *Mycosphaerella graminicola* et les souches d'*Erwinia carotovora*:(*E.c.1*- *E.c.14*).
- ✓ 05 traitements pour les tests de confrontation de *Mycosphaerella graminicola* et les souches d'*Erwinia sp*: (*E.sp.1* - *E.sp.5*).
- ✓ 12 traitements pour les tests de confrontation de *Mycosphaerella graminicola* et les souches des *Actinomycètes*:(*Act.1* - *Act.12*)
- ✓ 01 traitement pour le test de confrontation de *Mycosphaerella graminicola* et la souche de *Pseudomonas fluorescens* : (*P.f.*).

Tableau 02:Liste et origines des souches bactériennes utilisées dans cette étude.

N°	Genre, espèce	Souche	Isolement	Origine
01	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.1</i>	Sol	Mascara 1
02	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c. 2</i>	Pomme de terre	Mascara 1
03	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.3</i>	Pomme de terre	Mascara 1
04	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.4</i>	Pomme de terre	Mascara 1
05	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.5</i>	Pomme de terre	Mostaganem 1
06	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.6</i>	Pomme de terre	Mostaganem 1
07	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.7</i>	Sol	Mostaganem 1
08	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.8</i>	Sol	Mostaganem 2
09	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.9</i>	Sol	Mostaganem 2
10	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.10</i>	Pomme de terre	Ain Timouchent
11	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c.11</i>	Pomme de terre	Ain Timouchent
12	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c. 12</i>	Pomme de terre	Ain Timouchent
13	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c. 13</i>	Pomme de terre	Mascara 2
14	<i>Erwinia carotovora</i>	<i>E.c. 14</i>	Pomme de terre	Mascara 2
15	<i>Erwinia sp.</i>	<i>E.sp. 1</i>	Sol	Oran 1
16	<i>Erwinia sp.</i>	<i>E.sp. 2</i>	Pomme de terre	Oran 1
17	<i>Erwinia sp.</i>	<i>E.sp. 3</i>	Sol	Mostaganem 1
18	<i>Erwinia sp.</i>	<i>E.sp. 4</i>	Sol	Mostaganem 1
19	<i>Erwinia sp.</i>	<i>E.sp. 5</i>	Sol	Oran 2
20	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 1</i>	Rhizosphère de l'olivier	Guelma
21	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 2</i>	Sole	Guelma
22	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 3</i>	Sole	Guelma
23	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 4</i>	Sole	Guelma
24	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 5</i>	Sole	Guelma
25	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 6</i>	Sole	Guelma
26	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 7</i>	Sole	Guelma
27	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act. 8</i>	Sole	Guelma
28	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act.9</i>	Sole	Guelma
29	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act.10</i>	Sole	Guelma
30	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act.11</i>	Sole	Guelma
31	<i>Actinomycètes</i>	<i>Act.12</i>	Sole	Guelma
32	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>P.f.</i>	/	Souche de référence (ATCC) -28753-

3-3- Techniques de confrontation:

Les tests de confrontation *Mycosphaerella graminicola*-Agents microbiologiques testés ont été réalisés *in vitro*, selon des méthodes indiquées en bibliographie et dont les protocoles sont décrits ci- dessous :

- Méthode 1 : Confrontation directe.

Les confrontations sont effectuées selon la méthode Patel et Brown, (1969) décrite par Benouzza (2012), qui consiste à déposer deux pastilles de 5 mm de diamètre provenant des cultures des deux protagonistes (Pathogène et Antagoniste) dans une boîte de Pétri contenant du milieu PDA. Les pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm de distance et à équidistance du centre de la boîte (Fig. 13).

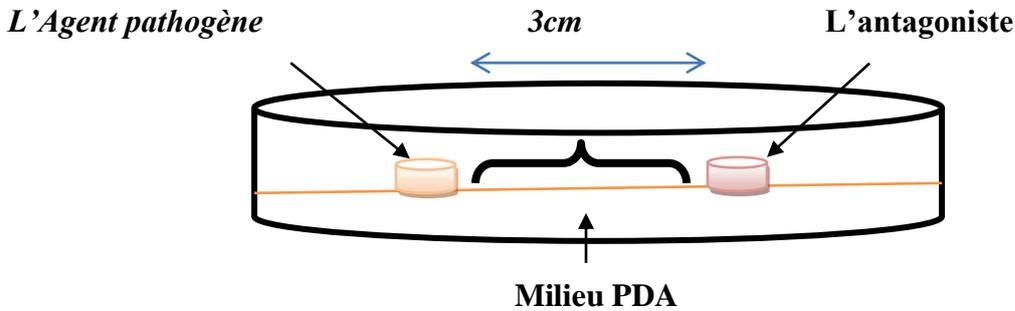


Figure 13 : Méthode de confrontation directe sur milieu PDA (Berbere *et al*, 2009).

- Méthode 2 : Contact direct (par le biais de cylindres ou « pastilles »)

Selon Ghomari (2009), cette méthode consiste à prendre un fragment de l'agent pathogène (*Z. tritici*) et faire un ensemencement sur toute la surface de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA ensuite, déposer des pastilles gélosées (6 mm de diamètre) portant l'agent antagoniste (Fig. 14).

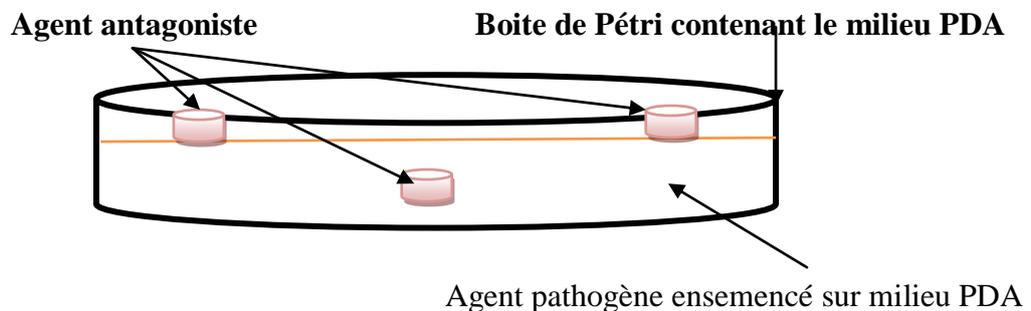


Figure 14: Confrontation de l'agent pathogène (*Z. tritici*) et l'agent antagoniste par contact direct sur milieu PDA (Ghomari, 2009).

- Méthode 3 : Contact direct

Cette méthode consiste à prendre un fragment de l'agent pathogène (*Z. tritici*) et faire un ensemencement sur toute la surface de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA, ensuite, faire dessus deux stries parallèles de 2 à 3 mm de large, de l'agent antagoniste (Fig. 15).

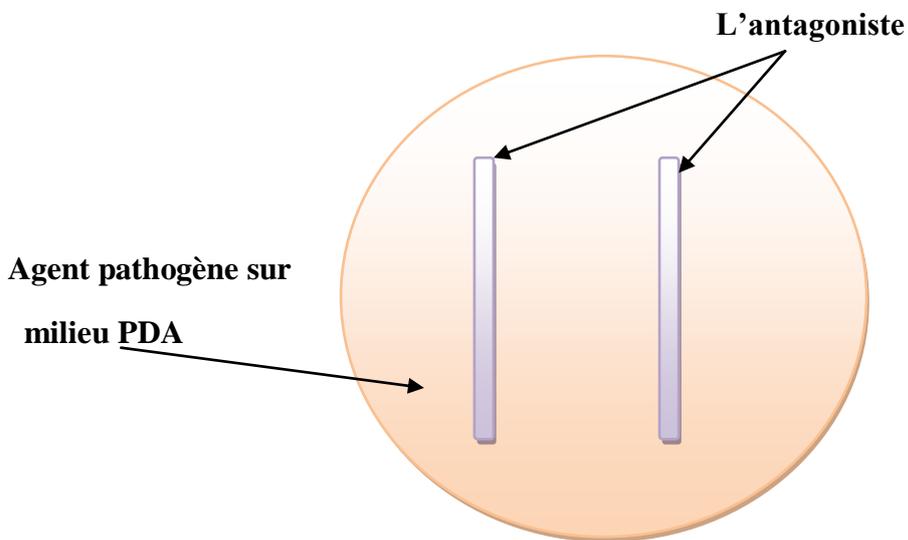


Figure 15 : Confrontation de l'agent pathogène et l'agent antagoniste par contact direct sur milieu PDA (Ghomari, 2009).

Pour toutes les souches testées, la confrontation avec *Mycosphaerella graminicola* a été faite par les 03 méthodes citées ci-dessus, pour chaque traitement et à raison de 5 répétitions par traitement, les boîtes témoins sont préparées à part, en mettant des cylindres de l'agent pathogène ou de l'agent de lutte biologique sur du milieu PDA en vue d'estimer le taux de croissance des microorganismes (Agent pathogène et Agent antagoniste) en absence de toute confrontation.

3-4- Lecture des boîtes et notation des résultats :

La lecture des boîtes est réalisée sur une période de 15 jours, et deux paramètres sont pris en considération :

- Présence ou absence d'une zone d'inhibition.
- Taux de la croissance mycélienne de l'agent pathogène (diamètre de la colonie).

4- Résultats et discussion

4-1- Caractérisation du champignon agent causal de la septoriose des feuilles chez le blé (*Zymoseptoria tritici*/*Mycosphaerella graminicola*) :

Après 4 à 6 jours d'incubation des spores prélevées à partir des cirrhes, des micro-colonies de couleurs blanchâtre à rosâtre, se sont développées (Fig. 16)

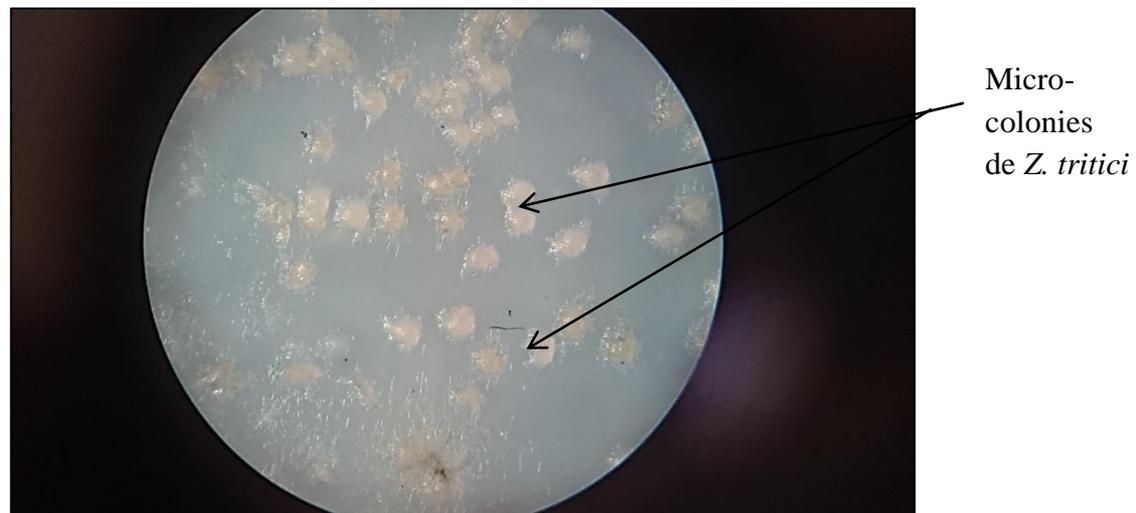


Figure 16 : Micro-colonies de *Zymoseptoria tritici*, observées à la loupe binoculaire (x 5)

Après repiquage d'une seule colonie sur un milieu PDA neuf et après une période de 6 à 8 jours d'incubation, une masse fongique à croissance de type levurien (Yeast like growth), de couleur rosâtre ou blanchâtre, caractéristique de *Zymoseptoria tritici* se développe à la surface des boîtes de Pétri (Fig. 17).

Au stade plus avancé du développement, les colonies de *Z. tritici* prennent une couleur vert foncé, qui vire vers le noir (Fig. 18).

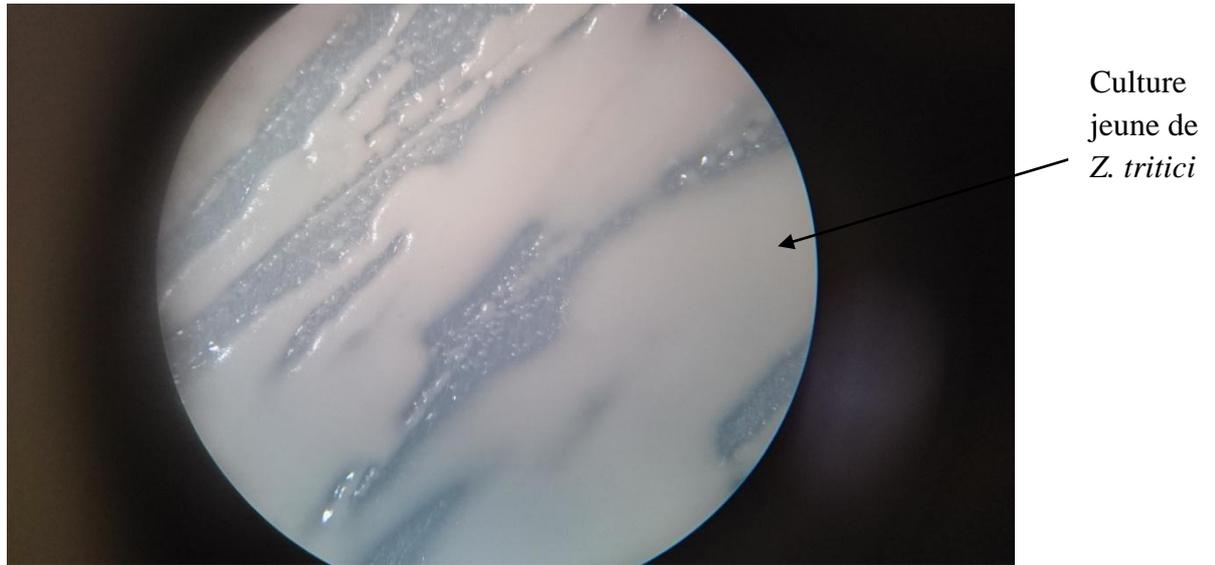


Figure 17 : *Zymoseptoria tritici* cultivé sur milieu PDA, après 6 jours d'incubation, Observé à la loupe binoculaire (x 5)

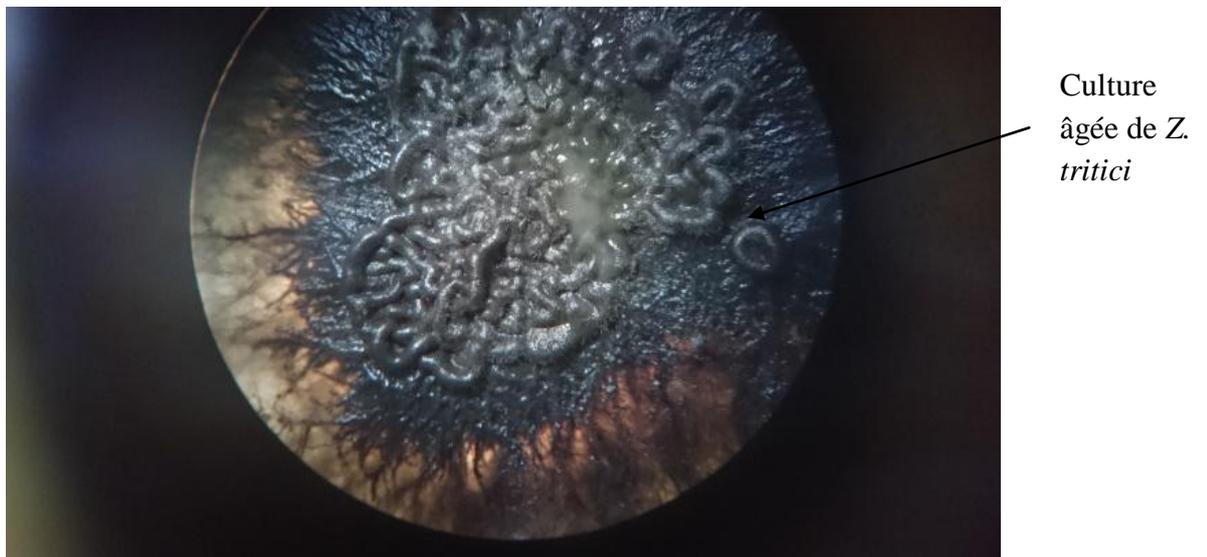


Figure 18: *Zymoseptoria tritici* cultivé sur milieu PDA, après 20 jours d'incubation, observé à la loupe binoculaire (x 5)

Les observations réalisées au microscope optique ont montré que les conidies (fructifications asexuées) observées, de *Zymoseptoria tritici* ont la forme de bâtonnets hyalins, filiformes.

Selon Zillinsky (1983), les conidies de *Zymoseptoria tritici* (Ex. *Septoria tritici*), agent de la tache septorienne des feuilles du blé, sont sous forme de bâtonnets, hyalins, filiformes, généralement courbés, aux extrémités arrondies, munis de trois à sept parois peu distinctes et mesurent environ 40 - 80 µm x 1.7- 3.0 µm. Quelques fois des petites spores (microspores) sont produites (Fig. 19).

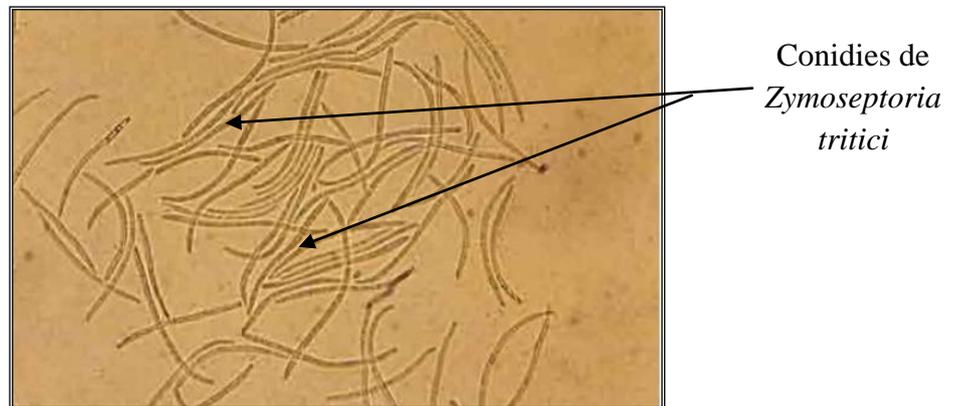


Figure 19: Conidies de *Z. tritici* observées au microscope optique (x 40) (Zillinsky, 1983).

4-2- Résultats de la confrontation *Z.tritici* x Agents antagonistes :

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que le pouvoir d'antagonisme exercé par les différentes souches bactériennes testées, à l'égard de *Zymoseptoria tritici*, agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé, varient en fonction des groupes de bactéries. Cependant, des résultats satisfaisants ont été obtenus pour certaines souches, et ce pour les trois groupes de bactéries testés.

4-2-1- *Z.tritici*/ Actinomycètes

La confrontation directe de 12 isolats d'actinomycètes avec *Z. tritici* sur le milieu de culture PDA ; nous a permis de mettre en évidence l'aptitude de certaines de ces isolats à inhiber la croissance mycélienne du pathogène *Z. tritici* ; l'action antagoniste se traduit par une faible croissance de l'agent pathogène, détectable à partir de 8 à 10 jours d'incubation. Le degré d'inhibition de la croissance mycélienne de *Z. tritici* varie d'une souche d'actinomycète à une autre et cela ; quelle que soit la méthode de confrontation utilisée. Tandis que pour certaines souches nous n'avons noté aucun effet sur le champignon pathogène *Z. tritici*.

Les résultats relatifs aux différents tests de confrontation entre *Z. tritici* (*Z.t.*), et les souches d'actinomycètes testées dans cette étude sont présentés dans le tableau 4. L'analyse détaillée des résultats de confrontations réalisées a permis de classer les souches d'actinomycètes testées en deux groupes :

- Souches d'actinomycètes montrant un effet d'antagonisme :

Ce groupe renferme une seule souche : *Act. 1*, c'est la seule souche parmi les 12 souches d'actinomycètes testées pour laquelle nous avons noté une inhibition de la croissance du pathogène *Z. tritici* au voisinage de l'antagoniste. Cette zone d'inhibition est plus ou moins remarquable pour certaines boîtes, elle est légèrement visible au début de la croissance, mais devient très nette à des stades avancés (Fig. 20).

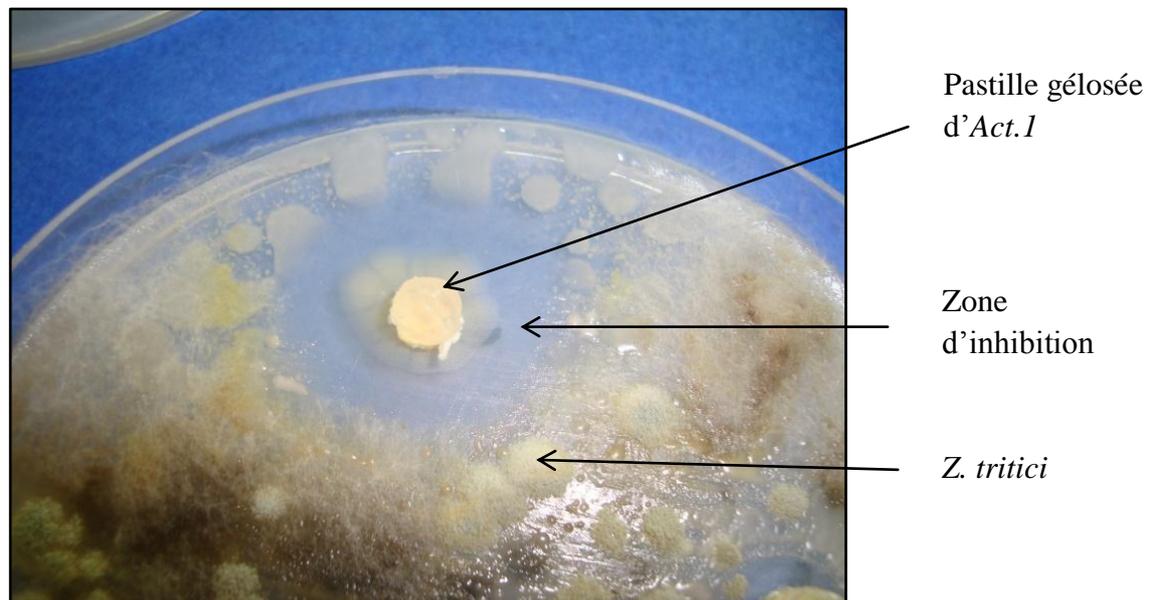


Figure 20 : Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Act. 1* après 15 jours d'incubation

Tableau 03: Traitements et résultats des confrontations *Z. tritici* / Actinomycètes

Traitements		Résultats	
		“Antagoniste”	<i>Zymoseptoria tritici</i>
T1	<i>Act.1</i> × <i>Z.t.M1</i>	+++	+
T2	<i>Act.1</i> × <i>Z.t.M2</i>	+++	+
T3	<i>Act.1</i> × <i>Z.t.M3</i>	+++	+
T4	<i>Act.2</i> × <i>Z.t.M1</i>	+	++
T5	<i>Act.2</i> × <i>Z.t.M2</i>	++	+++
T6	<i>Act.2</i> × <i>Z.t.M3</i>	+	++
T7	<i>Act.3</i> × <i>Z.t.M1</i>	++	+++
T8	<i>Act.3</i> × <i>Z.t.M2</i>	++	+++
T9	<i>Act.3</i> × <i>Z.t.M3</i>	+	++
T10	<i>Act.4</i> × <i>Z.T.M1</i>	++	+++
T12	<i>Act.4</i> × <i>Z.t.M2</i>	+	+++
T13	<i>Act.4</i> × <i>Z.t.M3</i>	++	+++
T14	<i>Act.5</i> × <i>Z.t.M1</i>	+++	+++
T15	<i>Act.5</i> × <i>Z.t.M2</i>	+	+++
T16	<i>Act.5</i> × <i>Z.t.M3</i>	+	+++
T17	<i>Act.6</i> × <i>Z.t.M1</i>	++	+++
T18	<i>Act.6</i> × <i>Z.t.M2</i>	++	+++
T19	<i>Act.6</i> × <i>Z.t.M3</i>	+++	+++
T20	<i>Act.7</i> × <i>Z.t.M1</i>	+	+++
T21	<i>Act.7</i> × <i>Z.t.M2</i>	++	+++
T22	<i>Act.7</i> × <i>Z.t.M3</i>	++	+++
T23	<i>Act.8</i> × <i>Z.t.M1</i>	+	+++
T24	<i>Act.8</i> × <i>Z.t.M2</i>	++	+++
T25	<i>Act.8</i> × <i>Z.t.M3</i>	+	+++
T26	<i>Act.9</i> × <i>Z.t.M1</i>	+	++
T27	<i>Act.9</i> × <i>Z.t.M2</i>	++	++
T28	<i>Act.9</i> × <i>Z.t.M3</i>	+	++
T29	<i>Act.10</i> × <i>Z.t.M1</i>	+	++
T30	<i>Act.10</i> × <i>Z.t.M2</i>	+	++
T31	<i>Act.10</i> × <i>Z.t.M3</i>	++	++
T32	<i>Act.11</i> × <i>Z.t.M1</i>	+	++
T33	<i>Act.11</i> × <i>Z.t.M2</i>	+	++
T34	<i>Act.11</i> × <i>Z.t.M3</i>	+	++
T35	<i>Act.12</i> × <i>Z.t.M1</i>	++	++
T36	<i>Act.12</i> × <i>Z.t.M2</i>	+	++
T37	<i>Act.12</i> × <i>Z.t.M3</i>	++	++

(T) : Traitement (Act.) : Souche d'actinomycète (+): faible croissance.

(++): Croissance importante (+++): Croissance très importante.

M1, M2 et M3 : Méthodes de confrontation (M1 : confrontation directe, M2 et M3 : confrontation par contact direct).

L'inhibition de la croissance de *Z. tritici*, cultivé en présence de la souche *Act. 1*, peut être attribuée à la production de métabolites par cette souche, agissant sur la croissance mycélienne de l'agent pathogène.

Plusieurs auteurs ont signalé que les actinomycètes sont capables de synthétiser un grand nombre de métabolites secondaires (enzymes, protéases,), et peuvent exercer un effet d'antagonisme positif à l'égard de plusieurs agents phytopathogènes, notamment l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé *Z. tritici*. (Levy *et al.*, 1988 ; Flaishman *et al.*, 1990 ; 1996).

- Souches d'actinomycètes ne montrant aucun effet d'antagonisme :

Ce groupe renferme 11 souches sur les 12 souches testées : *Act. 2- Act. 12*. La croissance de l'agent pathogène était plus ou moins importante dans toutes les boîtes et pour toutes les méthodes de confrontation réalisées (Figs.21, 22, 23, 24 et 25).

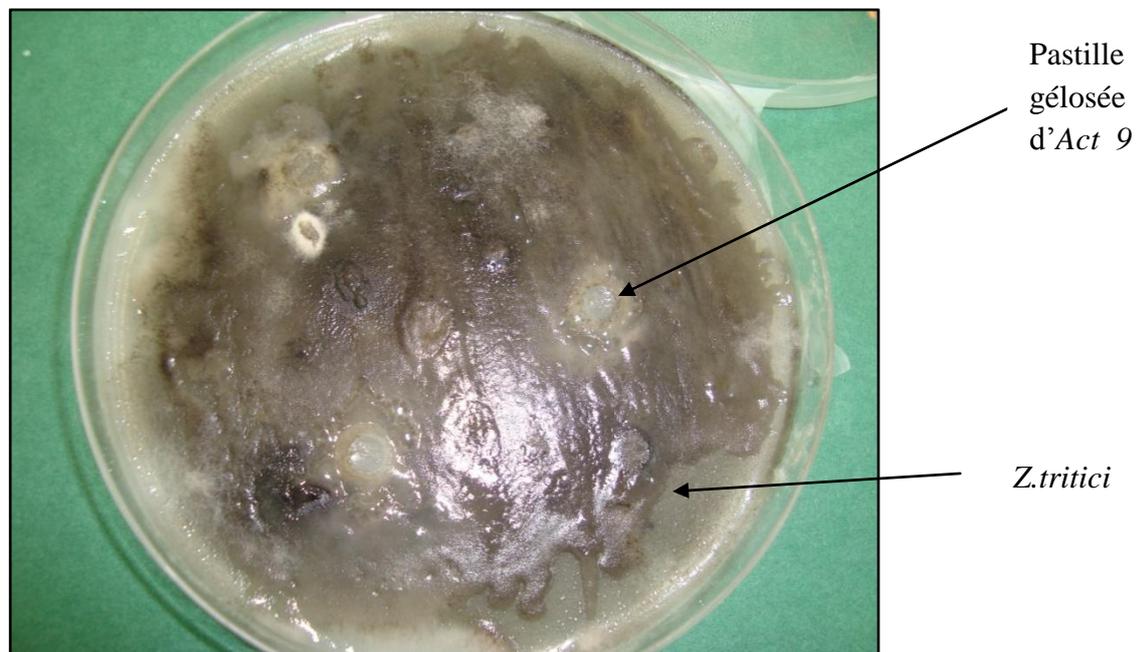


Figure 21 : Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Act. 9* après 15 jours d'incubation :

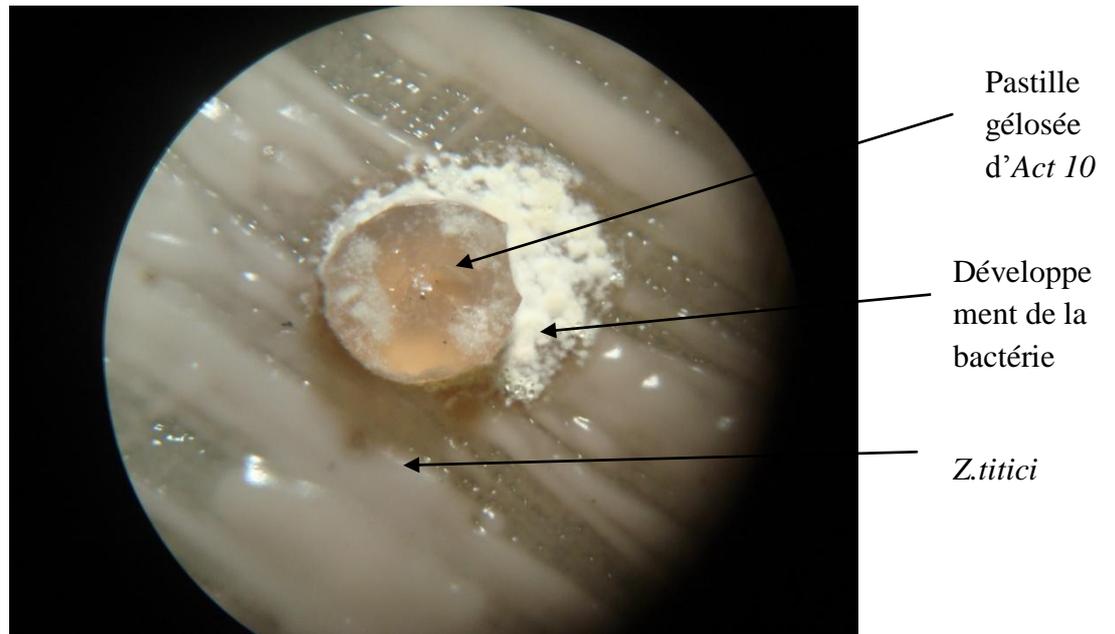


Figure 22: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Act. 10* après 15 jours d'incubation : observé à la loupe binoculaire (x 5)

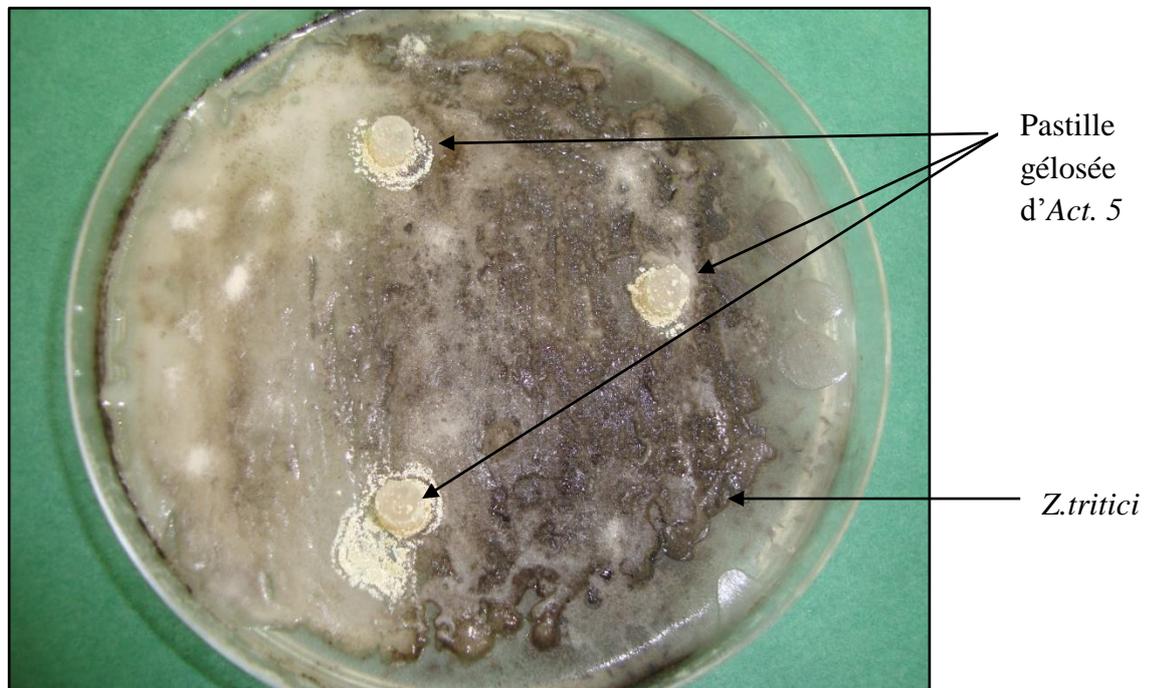


Figure 23: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Act. 5* après 15 jours d'incubation

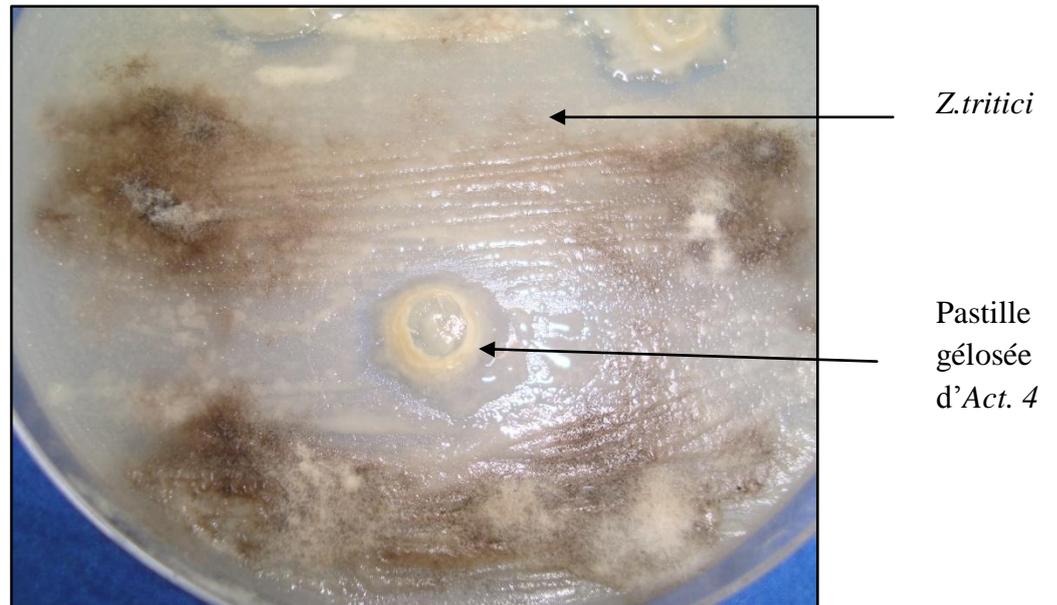


Figure 24: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Act. 4* après 8 jours d'incubation

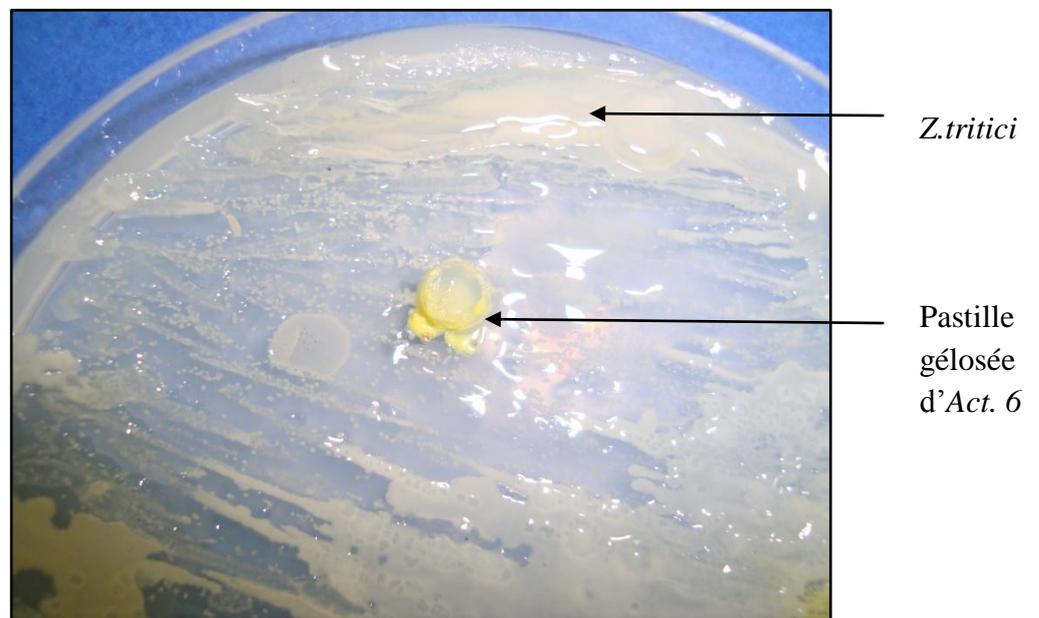


Figure 25: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Act. 6* après 8 jours d'incubation

Des résultats analogues ont été obtenus par Moustiri (1992) qui a constaté que l'efficacité des souches d'actinomycètes est beaucoup plus liée à leur aptitude à coloniser les racines qu'à leur action inhibitrice (in vitro) envers les champignons pathogènes.

Cependant, pour la souche *Act. 2*, cette même souche a été préalablement testée (Allioui, données personnelles), et a donné des résultats très satisfaisants à l'égard de *Z. tritici*. Ceci peut être expliquée par le fait que la souche de *Z. tritici* utilisée n'est pas la même pour les deux essais réalisés. Les caractéristiques pathogéniques de la souche de l'agent pathogène (virulence), peut être à l'origine de ce résultat.

D'autre part, l'absence de l'effet d'antagonisme pour les souches d'actinomycètes testées peut être lié à l'absence de synthèses de métabolites secondaires pouvant altérer ou inhiber la croissance du pathogène, ou bien au fait que, ces souches sont dotées de mécanismes de production de métabolites secondaires à effets antagonistes, mais cette production a été altérée par les conditions du milieu de l'expérimentation.

Plusieurs travaux ont signalé que la production de métabolites par les agents de lutte biologique est très dépendante des conditions du milieu. Une grande différence dans les capacités de production de ces métabolites peut être observée entre une expérimentation « in vitro » et une expérimentation « in vivo ».

4-2-2- *Z. tritici/ Pseudomonas fluorescens*

La souche de *Pseudomonas fluorescens* n'a pas donné les résultats attendus par le biais des différentes méthodes de confrontation. Le rôle de cette espèce dans la lutte biologique est très connu, et largement signalé en bibliographie. L'efficacité de cette espèce à inhiber le développement d'un grand nombre de microorganismes, notamment les champignons phytopathogènes, ou autres, a été attribué à la production par cette bactérie, de sidérophores, composés chélatant le fer et le rendant indisponible pour les agents pathogènes, lesquels sont alors inhibés, ainsi que la production de composés antifongiques tels que les phénazines et la pyrrolnitrine.

Pour toutes les boîtes, testées par les 3 méthodes de confrontation (Tab. 04), une seule boîte, pour laquelle le test de confrontation a été réalisé par la méthode 01 (confrontation directe de l'agent pathogène et de l'antagoniste sur milieu PDA), a montré une croissance importante de la souche bactérienne par rapport à l'agent pathogène *Z. tritici* (Fig. 26). Le diamètre de la

colonie du côté de la zone d'interaction entre les deux agents est très faible part rapport aux autres zones de la même boîte.

Tableau 04 : Traitements et résultats des confrontations *Z. tritici* /*Pseudomonas fluorescens*

Traitements		Résultats	
		"Antagoniste"	<i>Zymoseptoria tritici</i>
T1	<i>P.f.</i> × <i>Z.t.</i> M1	+++	+
T2	<i>P.f.</i> × <i>Z.t.</i> M2	++	+++
T3	<i>P.f.</i> × <i>Z.t.</i> M3	++	+++

(T) : Traitement (*P.f.*) : *Pseudomonas fluorescens*
 (+) : faible croissance. (++) : Croissance importante.
 (+++): Croissance très importante.

M1, M2 et M3 : Méthodes de confrontation (M1 : confrontation directe, M2 et M3 : confrontation par contact direct).

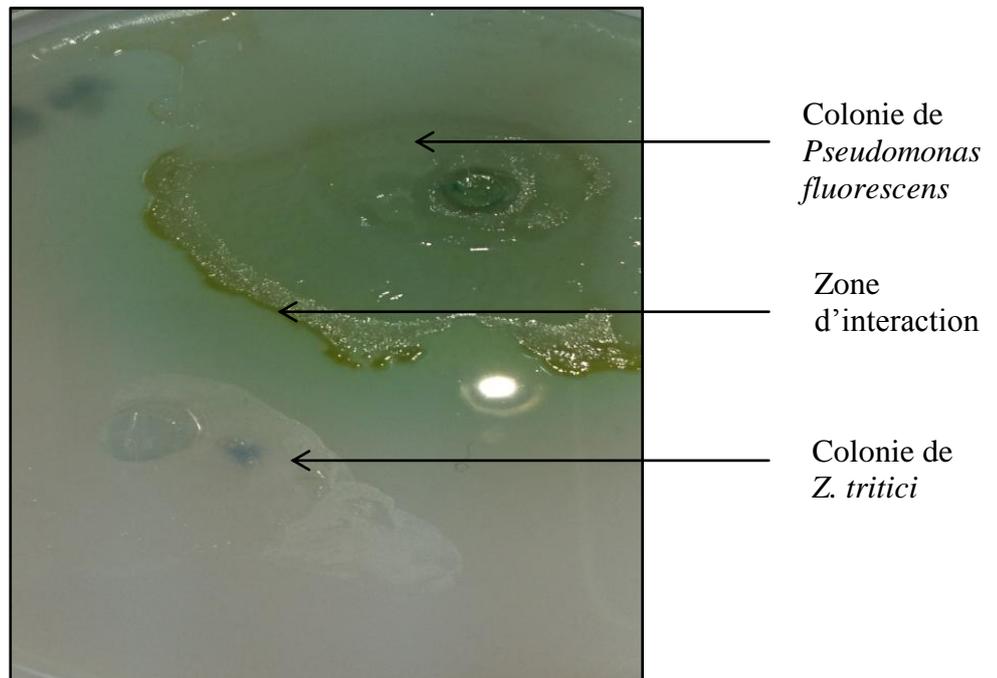


Figure 26: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *Pseudomonas fluorescens* après 8 jours d'incubation : (agrandie).

Plusieurs travaux ont signalé le rôle des bactéries du genre *Pseudomonas* dans la lutte biologique, notamment contre *Z. tritici* (Levy *et al.*, 1988 et 1989 ; Carmi *et al.*, 1992 ; Boumzaout et Hachani, 2015).

Deux isolats de *Pseudomonas spp.* LEC1 et LEC2, isolés à partir du sol cultivé en blé, se sont montrés capables d'inhiber le développement de *M. graminicola* (97.4 % et 92.3 % respectivement) et *Puccinia recondita* (85 à 98 %) sur les feuilles de blé, et de supprimer *in vitro* le développement de plusieurs champignons phytopathogènes, notamment, « *Septoria tritici* », *Geotrichum candidum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* (Levy *et al.*, 1988).

Pseudomonas fluorescens, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* et *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, ont montré également des effets antagonistes contre « *S. tritici* » mais à des degrés faibles (Levy *et al.*, 1988).

Levy *et al.* (1988) rapportent que, le phénomène d'inhibition de la septoriose par les bactéries, peut être lié en partie à la capacité de ces agents de produire des composés inhibiteurs du développement des champignons pathogènes.

La souche LEC 1 de *Pseudomonas sp.*, produit des substances antibiotiques telles que la chlororaphine et le 1-hydroxyphenazine (phOH), ce dernier, appliqué à la dose de 160 mg/L sur des plantules de blé a diminué l'infection par la septoriose (*S. tritici*) de 61 % et celle de la rouille brune (*Puccinia recondita*) de 75 % (Levy *et al.*, 1989).

L'absence d'efficacité de la souche de *Pseudomonas fluorescens* testée dans cette étude contre *Z. tritici*, peut être attribuée aux aptitudes de la souche elle-même à produire des antibiotiques, ce qui peut être également lié aux conditions de l'expérimentation (milieu de culture, de manipulation et d'incubation...).

4-2-3- *Z. tritici/ Erwinia sp.*

Les résultats des tests de confrontation entre *Z. tritici* (agent pathogène) et les 19 souches d'*Erwinia sp.* ont montré des résultats variables, en fonction de la souche testée et de la méthode de confrontation utilisée. Le tableau 05 affiche les résultats des différents tests, réalisés pour les différentes espèces d'*Erwinia* testées dans cette étude.

Tableau 05 : Traitements et résultats des confrontations *Z. tritici* / *Erwinia* sp.

Traitements		Résultats	
		“Antagoniste”	<i>Zymoseptoria tritici</i>
T1	<i>E.c.1</i> × <i>Z.t</i> M1	+	+++
T2	<i>E.c.1</i> × <i>Z.t</i> M2	+	+++
T3	<i>E.c.1</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+++
T4	<i>E.c.2</i> × <i>Z.t</i> M1	++	+++
T5	<i>E.c.2</i> × <i>Z.t</i> M2	+	+++
T6	<i>E.c.2</i> × <i>Z.t</i> M3	+	+++
T7	<i>E.c.3</i> × <i>Z.t</i> M1	+	+++
T8	<i>E.c.3</i> × <i>Z.t</i> M2	+	+++
T9	<i>E.c.3</i> × <i>Z.t</i> M3	+	+++
T10	<i>E.c.4</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+++
T11	<i>E.c.4</i> × <i>Z.t</i> M2	++	+++
T12	<i>E.c.4</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+++
T13	<i>E.c.5</i> × <i>Z.t</i> M1	+	+++
T14	<i>E.c.5</i> × <i>Z.t</i> M2	+++	+
T15	<i>E.c.5</i> × <i>Z.t</i> M3	++	++
T16	<i>E.c.6</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+
T17	<i>E.c.6</i> × <i>Z.t</i> M2	+	+++
T18	<i>E.c.6</i> × <i>Z.t</i> M3	+++	+++
T19	<i>E.c.7</i> × <i>Z.t</i> M1	++	+++
T20	<i>E.c.7</i> × <i>Z.t</i> M2	++	+
T21	<i>E.c.7</i> × <i>Z.t</i> M3	+	+++
T22	<i>E.c.8</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+++
T23	<i>E.c.8</i> × <i>Z.t</i> M2	+	++
T24	<i>E.c.8</i> × <i>Z.t</i> M3	+	++
T25	<i>E.c.9</i> × <i>Z.t</i> M1	+	+
T26	<i>E.c.9</i> × <i>Z.t</i> M2	+++	+
T27	<i>E.c.9</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+++
T28	<i>E.c.10</i> × <i>Z.t</i> M1	+	+++
T29	<i>E.c.10</i> × <i>Z.t</i> M2	++	+++
T30	<i>E.c.10</i> × <i>Z.t</i> M3	+++	++
T31	<i>E.c.11</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+
T32	<i>E.c.11</i> × <i>Z.t</i> M2	++	+++
T33	<i>E.c.11</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+++
T34	<i>E.c.12</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+
T35	<i>E.c.12</i> × <i>Z.t</i> M2	+	++
T36	<i>E.c.12</i> × <i>Z.t</i> M3	+	+++
T37	<i>E.c.13</i> × <i>Z.t</i> M1	++	++
T38	<i>E.c.13</i> × <i>Z.t</i> M2	+++	+++
T39	<i>E.c.13</i> × <i>Z.t</i> M3	+	+++

Tableau 05 : Traitements et résultats des confrontations *Z. tritici* / *Erwinia* sp (suite).

Traitements		Résultats	
		“Antagoniste”	<i>Zymoseptoria tritici</i>
T40	<i>E.c.14</i> × <i>Z.t</i> M1	++	+
T41	<i>E.c.14</i> × <i>Z.t</i> M2	+++	+
T42	<i>E.c.14</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+
T43	<i>E.sp. 1</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+++
T44	<i>E.sp. 1</i> × <i>Z.t</i> M2	++	+++
T45	<i>E.sp. 1</i> × <i>Z.t</i> M3	+	++
T46	<i>E.sp. 2</i> × <i>Z.t</i> M1	+	+++
T47	<i>E.sp.2</i> × <i>Z.t</i> M2	+	+++
T48	<i>E.sp.2</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+++
T49	<i>E.sp.3</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+
T50	<i>E.sp.3</i> × <i>Z.t</i> M2	++	++
T51	<i>E.sp.3</i> × <i>Z.t</i> M3	+++	+
T52	<i>E.sp.4</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	++
T53	<i>E.sp.4</i> × <i>Z.t</i> M2	++++	+
T54	<i>E.sp.4</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+
T55	<i>E.sp.5</i> × <i>Z.t</i> M1	+++	+++
T56	<i>E.sp.5</i> × <i>Z.t</i> M2	++	++
T57	<i>E.sp.5</i> × <i>Z.t</i> M3	++	+++

(T) : Traitement

(*E.c.*) : *Erwinia carotovora* (*E.sp.*) : *Erwinia* “saprophyte” (espèce non identifiée)

(+) : faible croissance.

(++) : Croissance importante. (+++): Croissance très importante.

M1, M2 et M3 : Méthodes de confrontation (M1 : confrontation directe, M2 et M3 : confrontation par contact direct).

4-2-3-1-*Z.tritici* /*Erwinia carotovora*

Les résultats obtenus pour les tests de confrontation *in vitro* de *Z.tritici* et les 14 souches d'*Erwinia carotovora*, ont montré que seule la souche *E.C. 14* a montré une inhibition de la croissance de *Z. tritici* au voisinage de la colonie bactérienne (Fig. 27).

Pour les autres souches (*E.c1- E.c 13*), aucun effet d'antagonisme n'a été noté et ce pour toutes les méthodes de confrontation. Au contraire, pour certaines boîtes de certaines souches, l'effet inverse a été noté, et un ralentissement de la croissance de la bactérie a été observé. (Fig. 28).

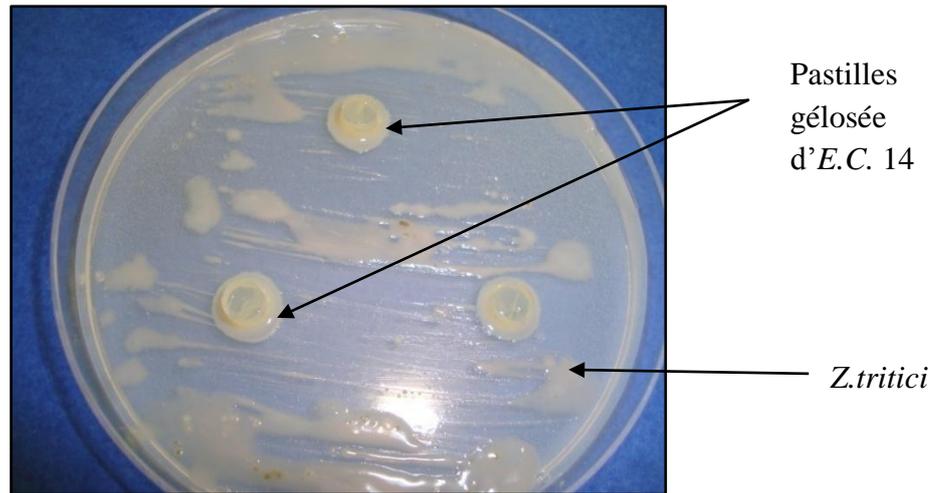


Figure 27: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *E.C. 14*, après 8 jours d'incubation

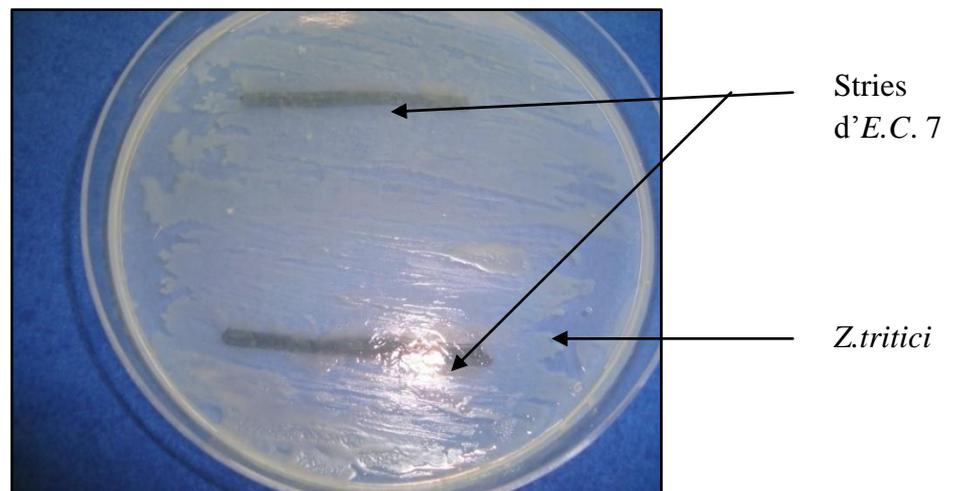


Figure 28: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *E.C. 7*, après 8 jours d'incubation : absence de croissance de la bactérie

4-2-3-2- *Z. tritici* /*Erwinia* sp.

Les résultats obtenus pour les tests des 05 souches de l'espèce saprophyte d'*Erwinia* (*E. sp.*), ont montré une inhibition modérée de la croissance de *Z. tritici* par certaines souches, et des zones d'inhibition plus ou moins nettes ont été observées et ce pour les différentes méthodes de confrontation (Fig. 29, 30 et 31).

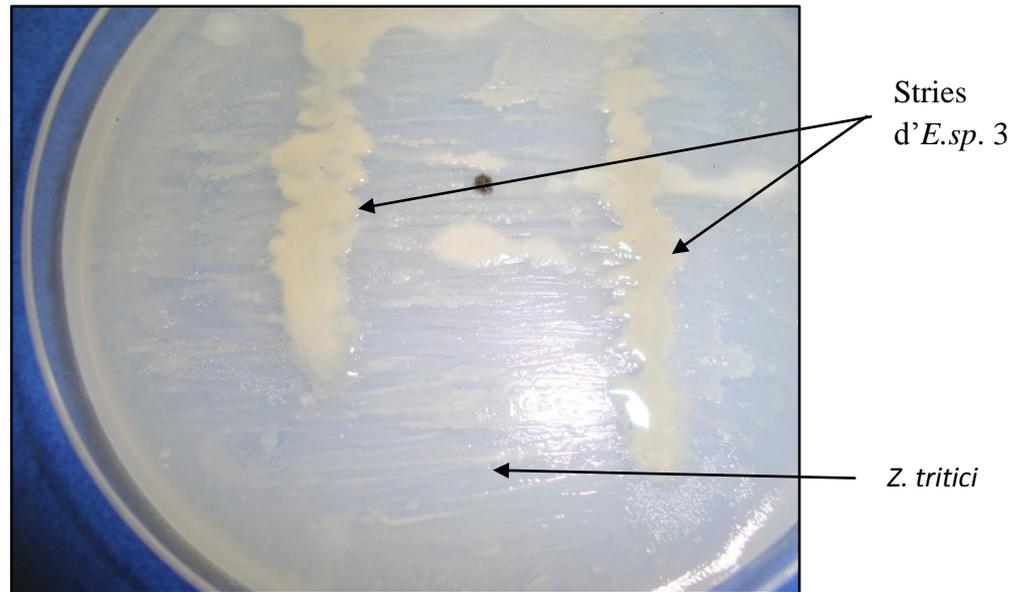


Figure 29 : Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *E.sp. 3*, après 8 jours d'incubation

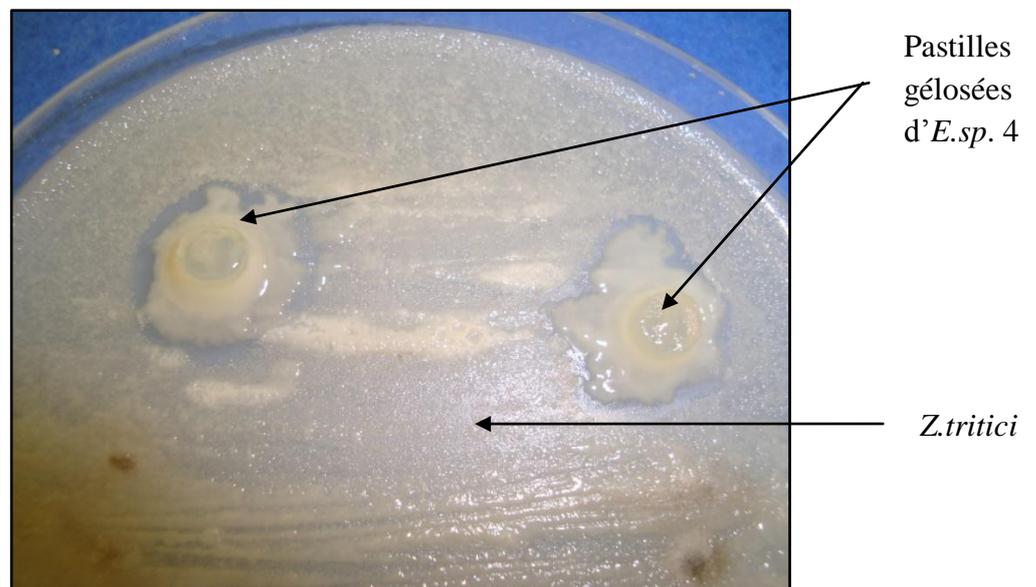


Figure 30: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *E.sp. 4*, après 8 jours d'incubation : Méthode de confrontation 02

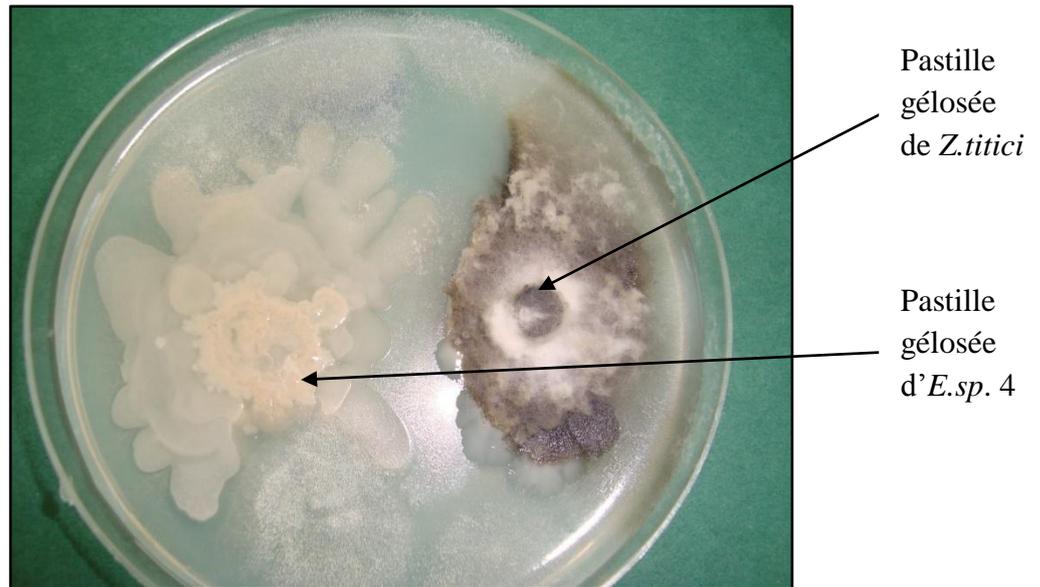


Figure 31: Résultats du test de confrontation de *Z. tritici* x *E.sp. 4*, après 15 jours d'incubation : Méthode de confrontation 01

Nous tenons à signaler qu'aucune donnée n'est actuellement disponible en bibliographie, concernant le rôle des bactéries du genre *Erwinia* dans la lutte biologique. Un essai préliminaire a été réalisé en 2015 par Boumzaout et Hachani, a porté sur 03 souches seulement d'*Erwinia*, testées contre *Z. tritici*, et les résultats étaient très satisfaisants. Ceci laisse supposer que certaines espèces d'*Erwinia* peuvent avoir un rôle dans la protection des cultures, en tant qu'agents de lutte biologique.

Cependant les recherches bibliographiques approfondies sur les caractéristiques des bactéries du genre *Erwinia* nous ont permis de traduire l'effet antagoniste que peuvent avoir ces bactéries à l'égard de d'autres microorganismes, du fait qu'elles disposent des systèmes de sécrétion leur permettant de sécréter des enzymes lytiques impliquées dans leur virulence (Sandkvist, 2001).

Une de leurs particularités aussi est la mobilité, qui a été décrite comme un facteur de pathogénie ; la combinaison de la mobilité et du chimiotactisme permet aux bactéries de détecter et rejoindre leurs niches écologiques préférées, en d'autre terme s'adapter (Mulholland *et al.*, 1993; Lautier, 2007)

Une autre hypothèse qui est plus évidente, pour le rôle des bactéries du genre *Erwinia*, en tant qu'antagoniste, est la sécrétion de sidérophores, lui permettant de capter le fer, qui en tant que co-facteur de nombreux processus cellulaires, il contribue à l'adaptation de la bactérie au cours de son cycle de vie et joue un rôle indirect dans le pouvoir pathogène (Ferguson et Deisenhofer, 2002). Ce même processus a été décrit chez les bactéries du genre *Pseudomonas*, qui sont décrits en tant qu'agents de lutte biologique de premier degré, et ont montré un antagonisme très prononcé contre un grand nombre de microorganismes, fongiques et bactériens.

Conclusion :

En Algérie, la culture du blé occupe une place importante parmi les céréales. Elle fait partie de nos mœurs et constitue l'alimentation de base de notre population. Cependant, cette culture est exposée à différents facteurs induisant la dégradation de la qualité et de la quantité des rendements. Les maladies cryptogamiques, notamment les septorioses interviennent considérablement dans la limitation des rendements et la dégradation de la qualité de la récolte.

La tache septorienne des feuilles du blé causée par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici/ Mycosphaerella graminicola*, est l'une des maladies les plus répandues, et elle peut engendrer des pertes dépassant 60%, lorsque les conditions sont favorables. La lutte contre cette maladie repose plus particulièrement sur l'emploi de pesticides (fongicides), pour lesquels plusieurs effets intentionnels ont été décrits.

Au courant des défauts de l'utilisation des pesticides conventionnels, le développement d'une conscience collective plus écologique doit être envisagé. En comparaison à la plupart de ces derniers, l'utilisation des auxiliaires est beaucoup plus écologique, plus sécuritaire et plus spécifique. La lutte biologique semble une alternative écologique aux pesticides chimiques, utilisés sérieusement depuis des dizaines d'années dans les champs et les serres.

Cette étude vient contribuer à la recherche de moyens de lutte efficaces, et sans effets non intentionnels, contre la tache septorienne des feuilles du blé, pour laquelle peu de molécules chimiques sont à la hauteur d'assurer la protection attendue par les agriculteurs, et ce par le biais d'un essai de lutte biologique, visant à tester l'effet d'antagonisme probable, entre quelques souches bactériennes, et l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé *Zymoseptoria tritici / Mycosphaerella graminicola*. Les souches bactériennes faisant l'objet de cette étude sont en tout 32 souches : 12 souches d'actinomycètes, 14 souches d'*Erwinia carotovora*, 05 souches d'*Erwinia sp.* (une espèce saprophyte non identifiée), et 01 souche de *Pseudomonas fluorescens*.

Les résultats obtenus dans cette étude ont fait ressortir les constatations suivantes :

➤ Le pouvoir d'antagonisme exercé par les différentes souches bactériennes testées, à l'égard de *Zymoseptoria tritici*, agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé, varient en fonction des groupes de bactéries. Cependant, des résultats satisfaisants ont été obtenus pour certaines souches, et ce pour les différentes méthodes de confrontation testées.

➤ Pour les actinomycètes seule la souche *Act. 1*, a donné un résultat satisfaisant, et pour laquelle nous avons noté une inhibition de la croissance du pathogène *Z. tritici* au voisinage de l'antagoniste.

➤ La souche de *Pseudomonas fluorescens* n'a pas donné les résultats attendus par les biais des différentes méthodes de confrontation ; pour toutes les boîtes testées, par les 3 méthodes de confrontation, une seule boîte, a montré une croissance importante de la souche bactérienne par rapport à l'agent pathogène *Z. tritici*.

➤ Pour les tests de confrontation entre *Z. tritici* (agent pathogène) et les 19 souches d'*Erwinia sp.*, les résultats enregistrés, varient en fonction de la souche testée et de la méthode de confrontation utilisée : les résultats obtenus pour les tests de confrontation de *Z. tritici* et les 14 souches d'*Erwinia carotovora*, révèlent que, seule la souche *E.c. 14* a montré une inhibition de la croissance de *Z. tritici* au voisinage de la colonie bactérienne. Alors que pour les autres souches (*E.c1- E.c 13*), aucun effet d'antagonisme n'a été noté et ce pour toutes les méthodes de confrontation. Bien au contraire, pour certaines boîtes de certaines souches, l'effet inverse a été noté, et une réduction de la croissance de la bactérie a été observée.

A la lumière de ces résultats, qui ne peuvent être considérés que comme préliminaires, nous pouvons conclure que certaines des souches testées peuvent avoir probablement un rôle important dans le contrôle biologique de *Z. tritici*, notamment la souche *Act. 1* d'actinomycètes, la souche *Pseudomonas fluorescens* et quelques souches d'*Erwinia*. Cependant, des études approfondies basées sur des expérimentations *in vitro* et *in vivo* doivent être envisagées pour confirmer le rôle probable de ces bactéries dans la lutte biologique de *Z. tritici*.

Annexe

Le milieu PDA :

Extrait de levure5g
Peptone5g
Gélose (agar)15 g
Glucose10g
Eau distillé remplir jusqu'à 1 litre

Le milieu LPGA :

.Extrait de levure5g
Peptone.....5g
Glucose.....10g
Agar.....15g
Eau distillé remplir jusqu'à 1 litre

Introduction

Chapitre 1 :
Généralités sur les
septorioses du blé

Chapitre 2 :
Lutte biologique
contre la septoriose
du blé

Chapitre 3 :

Matériel et méthodes

Chapitre 4 :
Résultats et
discussion

Conclusion

Annexe

*Références
bibliographiques*

Résumés

Références bibliographiques

- Abbas K., A. Abdelguerfi. 2005. Perspectives d'avenir de la jachère pâturée dans les zones céréalières semi-arides. *Fourrages* 184: 533-546.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press, Burlington (MA), USA, 5ème édition : Pages ??
- Alliou N., 2015. Structure et diversité génétique d'une population algérienne de l'agent causal de la septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola*). Thèse de Doctorat en biologie végétale, option : Phytopathologie. Département de biologie, Université Badji Mokhtar, Annaba.: 220 p.
- Alliou N., Siah A., Brinis L., Reignault P. & Halama P., 2016. Identification of QoI fungicide-resistant genotypes of the wheat pathogen *Zymoseptoria tritici* in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea* (2016) 55, 1, 89–97
- Arvalis. 2014. la gestion de la résistance aux fongicides utilisés pour lutter contre les maladies des céréales à pailles. INRA, ANSES, ARVALIS – Institut du végétal. : 15 p.
- Arvalis, 2016. Septoriose *S. tritici*, *S. nodorum*, ARVALIS – Institut du végétal : 6 p.
- Lisan B, 2010. Protection des cultures contre parasites, ravageurs et maladies. Dernière date de mise à jour : 10/01/2010. Version : 1.0. Communiqué en ligne. Paris 106p.
- Berber F., Ouazzani touhami A .,Badoc A., Douira A , 2009. Antagonisme in vitro et in vivo de deux *Trichoderma* à l'égard de quatre espèces de *Bipolaris*, pathogènes sur le Sorgho. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*148, 93-114.
- Bojanowski A. 2011. Molécules antifongiques et activité antagoniste de deux souches de deux souches de *Pseudomonas* envers *Helminthosporium Solani*, agent responsable de la tache argentée de la pomme de terre, mémoire en vue de l'obtention du grade de maitre en science. Faculté des études supérieures de l'Université Laval. Department de phytologie : 70 p.
- Boller, E.F., Häni, F., Poehling, H.-M., 2004. Ecological infrastructures: ideabook on functional biodiversity at the farm level, temperate zones of Europe. *IOBC wprs, Commission on Integrated Production Guidelines and Endorsement, Switzerland*. 27p
- Carmi R., Carmeli S., Levy E. & Gough F.J., 1994. (+)-(S)-Dihydroaeruginic Acid an inhibitor of *Septoria tritici* and other phytopathogenic fungi and bacteria, produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of natural products* Vol. 57 N° 9: 1200-1205.

- Carsalade H., Sforza R. et Amsallem I., 2007. Lutte biologique, biodiversité et écologie en protection des plantes , Les dossiers d'agropolis international, Numéro 4, Montpellier France : 24.
- Caron J., M.Sc. & Laverdière L., 2006. Recherche et développement de biopesticides et pesticides naturels à faible toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement. Thèse de doctorat. *Université Laval. Canada.* : 278p.
- Cesbron S., Paulin J.P., Tharaud M., Barny M.A. et Brisset M.N., 2006. The alternative sigma factor HrpL negatively modulates the flagellar system in the phytopathogenic bacterium *Erwinia amylovora* under *hrp*-inducing conditions. *FEMS Microbiol Lett.* 257:221-227.
- Cesbron S., 2009. Interaction entre des mutants *hrp* d'*Erwinia amylovora*, agent du feu bactérien, le parent pathogène et la plante hôte: recherche de mécanismes modulant la compatibilité. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire végétale. Université d'Angers : 193p.
- Dib H., 2010. Rôle des ennemis naturels dans la lutte biologique contre le puceron cendré, *Dysaphis plantaginea* Passerini (*Hemiptera: Aphididae*) en vergers de pommiers, Thèse de doctorat en science agronomique. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse Institut National de la Recherche Agronomique : 252 p.
- Dubuis C. & Haas D., 2007. Cross-species GacA-controlled induction of antibiosis in Pseudomonads. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 650-654.
- Duncan K. & Howard R., 2000. Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Mycol. Res.* 104 (9) : 1074-1082.
- Eyal Z., Scharen A.L., Prescott J.M. & van Ginkel M., 1987. *The Septoria diseases of wheat: Concepts and methods of disease management.* Mexico: 52p.
- Ferguson A.D. & Deisenhofer J., 2002. TonB-dependent receptors – structural perspectives. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 1565:318-332.
- Flaishman M., Eyal Z., Voisard C. & Haas D., 1990. Suppression of *Septoria tritici* by Phenazine or Siderophore-deficient mutants of *Pseudomonas*. *Current Microbiology* 20(2):121-124.
- Flaishman M., Eyal Z., Zilberstein A., Voisard C. & Haas D., 1996. Suppression of *Septoria tritici* blotch and leaf rust of wheat by recombinant cyanide-producing strains of *Pseudomonas putida*. *Molecular Plant Microbe Interaction* 9 (7): 642-645.
- Gouache D., Chaouch S., Florin L., Masdoumier G., Barrilliet G., Garcia C., Sailliot E., Deswarte J.C., Valade R., Dufresne M., Seng J.M., Ayrat J.L., Saindrenan P., 2015. MiCODetect

- vers le cahier des charges d'un Capteur Optique de Détection présymptomatique de *Septoria tritici* pour la lutte intégrée contre la septoriose. *Innovations Agronomiques* 46 : 11-26

- Goodwin S.B., 2007. Back to basics and beyond: increasing the level of resistance to *Septoria tritici* blotch in wheat. *Australasian Plant Pathology* (36) : 532-538.

- Gigot C., Saint-Jean S., Huber L., Maumene C., Leconte M., Kerhornou B. & de Vallavieille-Pope C., 2013. Protective effects of a wheat cultivar mixture against splash-dispersed *Septoria tritici* blotch epidemics. *Plant Pathology*. N° ?? : pages.

- Ghomri F., 2009. Moyens de lutte chimique et biologique contre le *fusarium oxysporum f.sp albedinis* agent causal du bayoud chez le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. Mémoire de magister en biologie végétale. Département de biologie. Université d'Oran Essania. :131 p.

- Haas D. & Defago G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology* 3: 307-319.

- Hakimi M. 1993. L'évolution de la culture de l'orge : le calendrier climatique traditionnel et les données agro-météorologiques modernes. In the agrometeorology of rainfed barley-based farming systems. Proceeding of an International symposium. Ed. Jones M., Marthys G., Rijks D.: 157 – 166.

- Haslay C., Leclerc H., 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier TEC & DOC. France. : Pages ?.

- Hervieu B., Capone R., Abis S., 2006. The challenge posed by the cereals sector in the Mediterranean. *Ciheam analytical note*, N° 9 : 14 p.

- HGCA, 2012. Topic Sheets, Information Sheets and Project Progress TS113 *Septoria tritici* in winter wheat : pages ?.

- Kema G.H.J., Yu D.Z., Rijkenberg F.H.J., Shaw M.W. & Baayen R.P., 1996. Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology* 86 (7) : 777-786.

- Kettani M., 2014. Etude de la diversité de *Pectobacterium spp* et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Thèse de doctorat en microbiologie, Université Hassan II Mohammedia Casablanca (Maroc) : 219 p.

- Lacroix L., 2002. Maladies des céréales et de la luzerne : diagnostic, dépistage et prévention édition ?? : 24 p.

- Lambert N., 2011. Lutte biologique aux ravageurs: Applicabilité au Québec centre universitaire de formation en environnement. Université de Sherbrooke. Canada : 103 p.

- Lahmar R. & Ruellan A., 2007. Dégradation des sols et stratégies coopératives en Méditerranée: la pression sur les ressources naturelles et les stratégies de développement durable. *Cahiers Agricultures* 16 : 318-323.
- Larpent J. P., 2000. Introduction à la nouvelle classification bactérienne et les principaux groupes bactériens. Lavoisier. France : 183-212.
- Lautier T., 2007. Rôle de la protéine associée au nucléoïde Fis dans le contrôle de la virulence chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi*. I.N.d.S.A.d. Lyon, ebook. : 1-200.
- Lemanceau P., 1992. Beneficial effects of rhizobacteria on plants: exemple of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Agronomie*, 12: 413-437.
- Levy E., Eyal Z. & Chet I., 1988. Suppression of *Septoria tritici* blotch and leaf rust on wheat seedling leaves by pseudomonads. *Plant Pathology* 37: 551-557.
- Levy E., Eyal Z., Carmely S., Kashman Y. & Chet I., 1989. Suppression of *Septoria tritici* and *Puccinia recondita* of wheat by an antibiotic-producing fluorescent pseudomonad. *Plant Pathology* 38: 564-570.
- Loucif K., 2011. Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Mémoire de Magister en microbiologie. Université Mentouri Constantine. Algérie : 139 p.
- Mahfoud A. & Lasbahani A., 2015. Approche de lutte contre les maladies fongiques du blé : étude de l'efficacité de trois molécules antifongiques (in-vitro et in situ) et l'effet antagoniste de certains microorganismes fongiques (in-vitro)".Mémoire de magister en microbiologie. Université des Frères Mentouri, Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie:70 p.
- Melouah R., 2015. Production et extraction de quelques principes actifs isolés à partir des Actinomycètes. Mémoire de Master en microbiologie. Université Kasdi Merbah. Ouargla. Algérie : 65 p.
- Mekhlouf A., Bouzerzour H., Benmahammed A., Hadj Sahraoui A. et Harkati N., 2006. Adaptation des variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) au climat semi-aride. *Sécheresse* 17 : 206-213.
- Mezaache S., 2012 Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Mémoire de magister en microbiologie. Université Ferhat Abbas, Sétif Faculté des Sciences de la Nature et de la vie: 221p.
- Montesinos E., Bonaterra A. et Moselio S. 2009. Pesticides, Microbial. In : *Encyclopedia of Microbiology* édit. Moselio S.. Academic Press, Oxford, UK. :110-120.

- **Morais**, 2015. Les déterminants des phases épidémiques précoces de la septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici*) : quantité, efficacité et origine de l'inoculum primaire, Thèse de Doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech) : 202p.

- **Moustiri A.**, 1992. Etude comparative des actinomycètes de la rhizosphère de deux cultivars de palmier dattier sensible et résistant au bayoud: influence de quelques isolats sur l'expression de la fusariose. Thèse de Magister, ENS, Alger : 130 p.

- **Mulholland V., Hinton J.C.D., Sidebotham J., Toth I.K., Hyman L.J., Perombelon M.C.M., Reeves P.J., & Salmond G.P.C.** 1993. A pleiotropic reduced virulence (Rvi-) mutant of *Erwinia carotovora* subspecies *atroseptica* is defective in flagella assembly proteins that are conserved in plant and animal bacterial pathogens. *Molecular Microbiology* 9:343-356.

- **Nanjwad B., Chandrashehara S., Goudanavar P. S., Shamarez A. M., Manvi F.**, 2010. Production of antibiotics from soil isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 9: 373-377.

- **Ouanzer S.**, 2012. Etude comparative de l'effet du semis direct et du labour conventionnel sur le comportement du blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Magister Université en biologie végétale, Université Ferhat Abbas, Setif : 70 p.

- **Quaedvlieg W., Kema G. H. J., Groenewald J. Z., Verkley G. J. M., Seifbarghi S., Razavi M., Gohari A. M., Mehrabi R. & Crous P. W.**, 2011. *Zymoseptoria* gen. nov. : a new genus to accommodate septoria-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia* 26 :57-69

- **Schiffers B. et wainwright H.**, 2011 Lutte biologique et protection intégrée, Manuel N° 10 Edition C /O coleacp Bruxelles Belgique : 128 p.

- **Shaw M.W.**, 1987. Assessment of upward movement of rain splash using a fluorescent tracer method and its application to the epidemiology of cereal pathogens. *Plant Pathology* 36, 201-213.

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

- **Suffert F. & Satche I.**, 2011. Relative importance of different types of inoculum to the establishment of *Mycosphaerella graminicola* in wheat crops in northwest Europe. *Plant Pathology*, 60 (5) : 878-889.

- **Suffert F., Satche I. & Lannou C.**, 2011. Early stages of septoria tritici blotch epidemics of winter wheat: build-up, overseasoning, and release of primary inoculum. *Plant Pathology* 60 : 166-177

- Thakore Y., 2006. The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology* 2 : 194-208.
- Van Lenteren, J.C., Colazza, S., 2006. IOBC Newsletter 80. International Organization for Biological Control of Noxious. *Animals and Plants* (IOBC). 20 p.

Sites internet utilisés :

- [1] : (<http://www.climatsetvoyages.com/Climat/Algerie>) : (08/06/2016)
- [2] : (www.lesbacteries.canalblog.com/archives/) : (05/04/2016)
- [3] (http://www.sanger.ac.uk/Projects/E_amylovora/).(12/04/2016)

Résumé

La tache septorienne des feuilles du blé, causée par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola* est l'une des maladies les plus répandues en Algérie, et elle cause des pertes considérables du rendement lorsque les conditions sont favorables, et en absence de lutte efficace. Le contrôle de cette maladie s'opère plus particulièrement par l'utilisation de pesticides (fongicides), pour lesquels les effets non intentionnels ne sont pas à démontrer. En plus l'agent causal de cette maladie se caractérise par une grande diversité génétique, lui permettant de développer des résistances et de s'adapter facilement aux contraintes imposées par le milieu.

Cette étude a visé pour objectif de tester l'effet antagoniste de certaines souches bactériennes sur *Zymoseptoria tritici* par des confrontations *in vitro*. Les bactéries faisant l'objet de cette étude sont : 19 souches du genre *Erwinia sp*, 12 souches d'*Actinomycètes*, et une souche de *Pseudomonas fluorescens*.

Les résultats obtenus ont montré la présence d'un effet antagonisme assez important pour 01 souche d'*Erwinia sp*, 01 souche d'*Actinomycètes*, ainsi que pour la souche de *Pseudomonas fluorescens*.

Mots clés : blé, *Zymoseptoria tritici*, lutte biologique, effet d'antagonisme, *Erwinia sp*, *Actinomycètes*, *Pseudomonas fluorescens*

Abstract

The Septoria Leaf blotch of wheat, caused by the ascomycete fungus *Zymoseptoria tritici*/*Mycosphaerella graminicola* is one of the most prevalent diseases in Algeria, and it causes considerable yield losses when conditions are favorable, and in the absence of effective control. The control of this disease occurs specifically by the use of pesticides (fungicides), for which the undesirable effects are not to demonstrate. In addition the causal agent of this disease is characterized by a great genetic diversity, allowing it to develop resistance and to easily adapt to the constraints imposed by the environment.

This study aimed to testing the effect of certain bacterial strains on *Zymoseptoria tritici* by confrontations *in vitro*. The bacteria which are the subject of this study are: 19 strains of the genus *Erwinia* sp, 12 strains of Actinomycetes, and one strain of *Pseudomonas fluorescens*.

The results showed the existence of significant antagonism for 01 strain of *Erwinia* sp, 01 Actinomycete strain, as well as the strain of *Pseudomonas fluorescens*

Key words: wheat, *Zymoseptoria tritici*, biological control, antagonism effect, *Erwinia* sp, Actinomycètes, *Pseudomonas fluorescens*.

Sommaire

	Page
Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii
Introduction	1
Chapitre 1 : Généralités sur les septorioses du blé	3
1-1-Les septorioses du blé.....	3
1-1-1-La septoriose des épis.....	3
1-1-2-La tache septorienne des feuilles	4
1-1-2-1-Importance de la maladie	4
1-1-2-2- Présentation de l'agent causal	4
1-1-2-3- Symptômes de la maladie	5
1-1-2-4-Développement de la maladie.....	6
1-1-2-2-5- Cycle biologique de <i>M. graminicola</i>	7
1-1-2-6- Plantes hôtes.....	10
1-1-2-7- Facteurs environnementaux favorisant la maladie	10
1-2-Méthodes de lutte contre les septorioses du blé	11
1-2-1- Lutte culturale.....	11
1-2-2- Lutte génétique	11
1-2-3- Lutte chimique	11
1-2-4-Lutte biologique.....	12
Chapitre 2 : Lutte biologique contre la septoriose du blé	13
2. Lutte biologique contre la septoriose du blé	13
2.1. Définitions et concepts généraux de la lutte contre les maladies et ravageurs des cultures.....	13
2.1.1. La lutte conventionnelle et ses inconvénients	13
2.1.2. La lutte intégrée	14
2.2 Historique de la lutte biologique.....	14
2.3 Objectifs de la lutte biologique.....	14
2.4. Les principaux types de lutte biologique	14
2.5. Avantages et inconvénients de la lutte biologique.....	15
2.5.1. Particularités d'application	15
2.5.2. Précautions élémentaires.....	16
2.5.3. Avantages, bienfaits et commodité de la lutte biologique.....	16
2.5.4. Inconvénients, risques et limites d'applicabilité de la lutte biologique...	17
2.6. Principaux organismes utilisés en lutte biologique	17
2.6.1. Mécanismes d'action des microorganismes antagonistes	18

2.6.2 Évaluation de la spécificité des auxiliaires en lutte biologique.....	18
2.7. Le pouvoir des bactéries pathogènes.....	20
2.7.1. Présentation des effets bénéfiques	20
2.7.2. Principaux groupes de bactéries utilisées en lutte biologique	20
2.7.2.1. Les bactéries du genre <i>Pseudomonas</i>	20
2.7.2.2. Les actinomycètes.....	23
2.7.2.3. Les bactéries du genre <i>Erwinia</i>	24
Chapitre 3 : Matériel et méthodes	26
3-1- Préparation et cultures de l'agent pathogène <i>Zymoseptoria tritici</i> / <i>Mycosphaerella graminicola</i>	26
3-1-1- Prospections et collecte des échantillons de septoriose	26
3-1-2- Isolement des souches de <i>Zymoseptoria tritici</i>	27
3-1-2-1- Préparation des échantillons.....	27
3-1-2-2- Isolement du pathogène.....	27
3-1-3- Caractérisation des souches de <i>Zymoseptoria tritici</i>	29
3-2- Préparation et culture des agents antagonistes testés.....	30
3-2-1- Culture des agents de lutte biologique	30
3-2-2- Bilan des traitements et des tests réalisés	30
3-3- Techniques de confrontation.....	31
3-4- Lecture des boîtes et notation des résultats	33
Chapitre 4 : Résultats et discussion	34
4-1- Caractérisation du champignon agent causal de la septoriose des feuilles chez le blé (<i>Zymoseptoria tritici</i> / <i>Mycosphaerella graminicola</i>)	34
4-2- Résultats de la confrontation <i>Z.tritici</i> x Agents antagonistes.....	36
4-2-1- <i>Z.tritici</i> / Actinomycètes.....	36
4-2-2- <i>Z.tritici</i> / <i>Pseudomonas fluorescens</i>	42
4-2-3- <i>Z.tritici</i> / <i>Erwinia sp</i>	44
4-2-3-1- <i>Z.tritici</i> / <i>Erwinia carotovora</i>	46
4-2-3-2- <i>Z.tritici</i> / <i>Erwinia sp</i>	47
Conclusion	
Résumés	
Annexe	

المخلص

تبع أوراق القمح الناتج عن الفطر الزقي *Zymoseptoria titici / Mycosphaerilla graminicola*

هو أحد الأمراض الأكثر انتشارا في الجزائر و الذي يتسبب في خسائر كبيرة في المحصول عندما تكون الظروف ملائمة و في غياب الوقاية الفعالة

و تتم مراقبة هذا المرض خاصة عن طريق استعمال المبيدات التي تبين أن لها أضرار جانبية متعددة إضافة إلى ذلك فإن العامل الممرض المسبب لهذا المرض يتميز بتنوع جيني كبير يسمح له باكتساب مقاومة و التأقلم بسهولة مع ظروف الوسط

تهدف هذه الدراسة الى تقييم التأثير العدائي لبعض السلالات البكتيرية على فطر *Zymoseptoria tritici*

و اعتمدت على اختيار : 19 سلالة من نوع *Erwinia* 12 سلالة من نوع *Actinomycètes* ,

و سلالة واحدة من نوع *Pseudomonas fluorescens*

أوضحت النتائج المحصل عليها وجود تأثير معتبر فيما يخص : سلالة واحدة من نوع *Erwinia*

سلالة واحدة من نوع *Actinomycètes* وكذلك سلالة واحدة من نوع *Pseudomonas fluorescens*

الكلمات المفتاح

القمح - *Zymoseptoria tritici* - المكافحة البيولوجية - التأثير العدائي - *Erwinia*

Pseudomonas fluorescens - *Actinomycète*