

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

### Essai de contrôle biologique de la tache septorienne des feuilles du blé (*Zymoseptoria tritici*) par des bactéries antagonistes

Présenté par : - FERDENACHE Aïcha  
- BOUADILA Hedda

Devant la commission composée de :

Président : Mr. BOUMAAZA B.	(MCB)	Université de Guelma
Examineur : Mme CHAHAT N.	(MAA)	Université de Guelma
Encadreur : Mme ALLIOUI N.	(MCB)	Université de Guelma
Membre : Mme LAOUAR H.	(MAA)	Université de Guelma
Membre : Mr. ZITOUNI A.	(MCB)	Université de Guelma
Membre : Mme OUCHTATI N.	(MCB)	Université de Guelma

Juin 2017

## REMERCIEMENTS

*A man can only attain knowledge with  
The help of those who possess it.  
This must be understood from the very beginning.  
One must learn from him who knows.  
George Gurdjieff.*

*Avant tout, nos remerciements au DIEU "Allah" de nous avoir donné la force,  
la patience et le courage pour accomplir ce travail.*

*Toutes nos estime et nos remerciements vont à Madame **Alloui Nora**, directrice de notre mémoire, pour son aide scientifique, pour sa constante disponibilité, ces conseils et sa patience et pour l'attention avec laquelle elle a dirigé ce travail malgré ses nombreuses occupations scientifiques et administratives. Nous somme très honorées par son accompagnement et son aide.*

*Nos remerciements s'adressent également A :*

*Monsieur **Boumaaza B.** Pour avoir accepté de présider le jury et juger notre travail.*

*Madame **Chahat N.** qui nous fait l'honneur de faire partie du jury, et pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*A tous les autres membres de la commission de soutenance, Mme **Ouchtati N.**, Mme **Laouar H.** et Mr. **Zitouni A.**, pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous remercions vivement Monsieur **Benada M.** et Madame **Khenaka K.**, enseignants à notre faculté, pour la fourniture de certaines souches, ainsi que pour leur aide dans l'identification des souches isolées, et la conception de la partie pratique de ce travail.*

*Sans oublier de remercier les responsables des laboratoires pour leur collaboration, leur aide, le grand soutien et l'encouragement.*

*Un grand merci pour nos amis, pour leur complicité et pour leur amitié.*

*Nous voudrions exprimer à nos familles, et plus particulièrement nos parents notre profonde reconnaissance pour le soutien qu'ils nous ont apporté en toute circonstance, ainsi que pour leur patience et leur amour. Qu'ils trouvent dans ce travail le témoignage de notre affection.*

*Enfin, une profonde reconnaissance à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail mais qui ne sont pas cités ici, nous les remercions tous, très chaleureusement.*

## Sommaire

<i>Titre</i>	<i>Page</i>
Liste des tableaux.....	<i>i</i>
Liste des figures.....	<i>ii</i>
<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre 01 : Revue Bibliographique sur le pathosystème blé-septoria</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Différentes espèces des taches septoriennes du blé</b> .....	<b>3</b>
1.1.1. La tache septorienne des glumes .....	3
1.1.2. la tache septorienne des des feuilles.....	3
<b>1.2. Le pathosystème Blé-<i>Mycospharella graminicola</i></b> .....	<b>4</b>
1.2.1. Importance de la maladie .....	4
1.2.2. Symptômes et nuisibilité .....	4
1.2.3. Présentation du pathogène.....	5
1.2.3.1. Taxonomie.....	5
1.2.3.2. Biologie du pathogène.....	6
1.2.4. Facteur favorisant le développement de la maladie.....	9
<b>1.3. Stratégies de lutte contre la septoriose du blé</b> .....	<b>10</b>
1.3.1. La lutte agronomique.....	10
1.3.2. La lutte chimique.....	10
1.3.3. La lutte génétique.....	10
1.3.4. La lutte biologique .....	11
<b>Chapitre 02 : La lutte biologique dans la protection des cultures</b>	<b>12</b>
<b>2.1. Concepts de la lutte biologique</b> .....	<b>12</b>
2.1.1. Définition.....	12
2.1.2. Objectifs .....	12
<b>2.2. Historique de la lutte biologique</b> .....	<b>12</b>
<b>2.3. Différents types de la Lutte biologique</b> .....	<b>13</b>

2.3.1 La lutte biologique par conservation ou par modifications environnementales....	13
2.3.2 La lutte biologique par acclimatation.....	13
2.3.3 La lutte biologique augmentative.....	14
2.4. Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique.....	14
2.4.1 Avantages .....	14
2.4.2 Inconvénients.....	14
2.4.3 Précautions élémentaires.....	15
2.5. Les acteurs de la lutte biologique.....	15
2.5.1 Mécanismes d'action des microorganismes antagonistes.....	16
2.5.2. Le Rôle des bactéries en lutte biologique.....	17
2.5.2.1. Les <i>actinomycètes</i> .....	17
2.5.2.2. La Bactérie de genre <i>Pseudomonace</i> .....	18
2.5.2.3. Les <i>Bacillus</i> .....	20
2.5.2.4. Le bactérie de genre <i>Erwinia</i> .....	21
<b>Chapitre 03 : Matériel et méthodes</b>	<b>23</b>
3.1. Matériel fongique.....	23
3.1.1. Origine des isolats de l'agent pathogène <i>Zymoseptoria tritici</i> / <i>Mycosphaerella graminicola</i> .....	23
3.1.2. Isolement des souches de <i>Zymoseptoria tritici</i> .....	23
3.1.2.1. Préparation des échantillons.....	23
3.1.2.2. Isolement du pathogène.....	24
3.1.3. Caractérisation des souches de <i>Zymoseptoria tritici</i> .....	25
3.2. Isolement et culture des isolats bactériens testés.....	26
3.2.1. Origine des isolats bactériens.....	26
3.2.2. Traitement des échantillons et isolement des bactéries.....	26
3.2.3. Purification et identification des souches bactériennes isolées.....	27
3.2.4. Coloration de Gram.....	28
3.2.5. Tests Oxydase/Catalase .....	28
3.2.6. Identification des bactéries isolées.....	28
3.2.7. Bilan des traitements.....	30
3.3. Techniques de confrontation.....	30
3.4. Lecture des boîtes et notation des résultats.....	31

---

<b>Chapitre 04 : Résultats et discussion</b>	<b>32</b>
4.1. Caractérisation du champignon agent causal de la septoriose des feuilles chez le blé ( <i>Zymoseptoria tritici</i> / <i>Mycosphaerella graminicola</i> ).....	32
4.2. Résultats de confrontation <i>Z. tritici</i> x Agents « antagonistes » testés.....	34
4.2.1. <i>Z. tritici</i> x <i>Bacillus sp</i> .....	34
4.2.2. <i>Z. tritici</i> x Actinomycètes.....	38
4.2.3. <i>Z. tritici</i> x <i>Erwinia carotovora</i> .....	46
<b>Conclusion</b> .....	<b>51</b>
<b>Résumés</b>	
<b>Références bibliographique</b>	
<b>Annexe</b>	



**Liste des tableaux**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Pages</b>
<b>01</b>	Historique de la systématique de la septoriose des feuilles et des gaines	06
<b>02</b>	Taxonomie des deux formes de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé	06
<b>03</b>	Origines des souches bactériennes testées pour leur activité antagoniste vis-à-vis de <i>Zymoseptoria tritici</i>	30
<b>04</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches du genre <i>Bacillus sp.</i> testées dans cette étude	34
<b>05</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches d'Actinomycètes testées dans cette étude	38
<b>06</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches d' <i>Erwinia carotovora</i> testées dans cette étude	46



## Liste des figures

N°	Titre	Pages
01	(a) Tache foliaire causée par <i>S. nodorum</i> (b) Conidies de <i>S. nodorum</i> , (c) Ascospores de <i>L. nodorum</i> (10 x 40)	03
02	(a) Taches foliaires longitudinales avec lésions sporulantes typiques de <i>M. graminicola</i> sur le blé, (b) Conidies de <i>S. tritici</i> (10 x 40)	04
03	Symptômes de septoriose sur feuilles de blé à des stades différents	05
04	Fructifications de <i>Z. tritici</i> durant la phase asexuée	07
05	cellules d'ascospores de <i>Zymoseptoria tritici</i>	08
06	Croissance biotrophique (0 à 24 heures après le contact)	08
07	Cycle biologique de <i>Mycosphaerella graminicola</i>	09
08	Interaction entre les PGPR, la plante, le pathogène et le sol	20
09	Feuilles de blé infectées par <i>Z. tritici</i> , mises en chambre humide	23
10	Cirrhés de <i>M. graminicola</i> sur feuille de blé, émises après une nuit dans la chambre humide, observés sous loupe binoculaire (x 5)	24
11	Micro-colonies de <i>Zymoseptoria tritici</i> après 6 jours d'incubation, observées sous loupe binoculaire	25
12	La technique des dilutions décimales	28
13	Technique de confrontation de l'agent pathogène ( <i>Z. tritici</i> ) et l'agent antagoniste par contact direct sur milieu PDA	31
14	Micro-colonies de <i>Zymoseptoria tritici</i> , après 06 jours d'incubation à 24° C, observées sous loupe binoculaire (x 5)	32
15	Aspect macroscopique de <i>Zymoseptoria tritici</i> cultivé sur milieu PDA, après 06 jours d'incubation à 24° C, observé sous la loupe binoculaire (x 5)	33
16	Conidies de <i>Zymoseptoria tritici</i> observées au microscope optique (x 40)	33
17	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Bacillus gilna</i> après 06 jours d'incubation à 24 °C	35
18	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Bacillus gilna</i>	35
19	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Bacillus sp.</i> 01 après 06 jours d'incubation	36

<b>20</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Bacillus sp.</i> 01	36
<b>21</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Bacillus sp.</i> 02 après 06 jours d'incubation	37
<b>22</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Bacillus sp.</i> 03 après 06 jours d'incubation	37
<b>23</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 08 après 06 jours d'incubation	39
<b>24</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 09 après 06 jours d'incubation	39
<b>25</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 01 après 06 jours d'incubation	40
<b>26</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 07 après 06 jours d'incubation	40
<b>27</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 06 après 06 jours d'incubation	41
<b>28</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 02 après 06 jours d'incubation	41
<b>29</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Actinomycète</i> 05 après 06 jours d'incubation	42
<b>30</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomycète</i> 07	42
<b>31</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomycète</i> 08	43
<b>32</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomycète</i> 09	43
<b>33</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomycète</i> 03	44
<b>34</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomycète</i> 04	44
<b>35</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomycète</i> 01	45

<b>36</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Actinomyète 06</i>	45
<b>37</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Erwinia carotovora</i> 03 après 06 jours d'incubation	47
<b>38</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Erwinia carotovora</i> 01 après 06 jours d'incubation	47
<b>39</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Erwinia carotovora</i> 02 après 06 jours d'incubation	48
<b>40</b>	Résultat du test de confrontation directe de <i>Z. tritici</i> x <i>Erwinia carotovora</i> 04 après 06 jours d'incubation	48
<b>41</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Erwinia carotovora</i> 01	49
<b>42</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Erwinia carotovora</i>	49
<b>43</b>	Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre <i>Zymoseptoria tritici</i> et la souche <i>Erwinia carotovora</i> 03	50

# *Introduction*

## ***Introduction***

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, notamment dans les pays maghrébins, et plus particulièrement en Algérie où les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djemoun, 2009). La préférence du blé dur reste très profondément ancrée dans nos habitudes alimentaire ; cette céréale et ses dérivées constituent l'épine dorsale du système alimentaire algérien et fournissent plus de 60% de l'apport calorique et 75 à 80% de l'apport protéique de la ration alimentaire (Ayad, 2012).

Cependant, la production nationale des céréales est marquée par une forte irrégularité. L'Algérie a produit 4,9 millions de tonnes de céréales principalement les blés durant la saison 2012-2013 contre 5,12 millions de tonnes lors de la campagne 2011-2012, 4,24 millions de tonnes en 2010-2011 et 4,5 millions de tonnes en 2009-2010, alors qu'une production record de 6,12 millions de tonnes avait été enregistrée en 2008-2009 (Djelti, 2014). Dans notre pays, malgré son importance, la filière céréalière se trouve constamment menacée par plusieurs contraintes qui affectent la productivité, de façon qualitative et quantitative, et les rendements enregistrés sont faibles et restent insuffisants pour satisfaire les besoins de la population, où la consommation en produits céréaliers se situe à un niveau proche de 205 Kg/habitant/an (Chehat, 2007), ce qui oblige le pays à faire recours aux importations.

L'irrégularité de la production et la faiblesse des rendements peuvent être attribués à plusieurs facteurs, notamment, les aléas climatiques (Rastoin et Benabderrazik, 2014), ainsi que les contraintes biotiques, plus particulièrement, les maladies cryptogamiques qui occasionnent chaque année des pertes substantielles (Lahmer et Zerbita, 2015).

La tache septorienne des feuilles du blé causée par le champignon ascomycète connu par son anamorphe *Zymoseptoria tritici* et son téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* est l'une des maladies les plus répandue dans notre pays et à travers le monde ; et les pertes occasionnées sont considérables en cas de fortes attaques, et peuvent atteindre les 60% (Ayad, 2012).

Les modalités de lutte contre les maladies reposent plus particulièrement sur la lutte chimique par utilisation de pesticides, ceci participe beaucoup à l'amélioration des rendements dans les zones traitées, mais parallèlement à cela, l'utilisation intensive des pesticides entraîne des conséquences néfastes sur le fonctionnement des écosystèmes (Ndiay, 2008).

Pour la tache septorienne des feuilles du blé, la lutte chimique est modérément efficace, car, d'une part, peu de molécules chimiques sont efficaces contre cette maladie, et d'autre part, l'agent causal de cette maladie se caractérise par une diversité génétique très élevée, qui lui attribue des capacités d'adaptation et de détournement des contraintes imposées par le milieu (Pesticide, résistance de l'hôte, ...), et ce par le développement des résistances (Allioui, 2015).

Il serait important donc d'examiner des méthodes de lutte qui peuvent être utilisées dans une stratégie de lutte intégrée. Ce sont des méthodes qui font appel à des êtres vivants pour réduire ou supprimer les dégâts causés par des espèces nuisibles. Elles se basent sur l'utilisation des antagonistes et diminuent les pathogènes : Ce sont les méthodes de lutte biologique (abdallah, 2013).

Le présent travail a pour but de tester *in vitro* l'effet antagoniste de quelques bactéries, isolées de différents substrats (sol, produits végétaux contaminés), à l'égard de *Zymoseptoria tritici*, agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé, en vue de sélectionner des souches performantes pouvant être utilisées dans le contrôle biologique de cette maladie.

# *Chapitre 01*

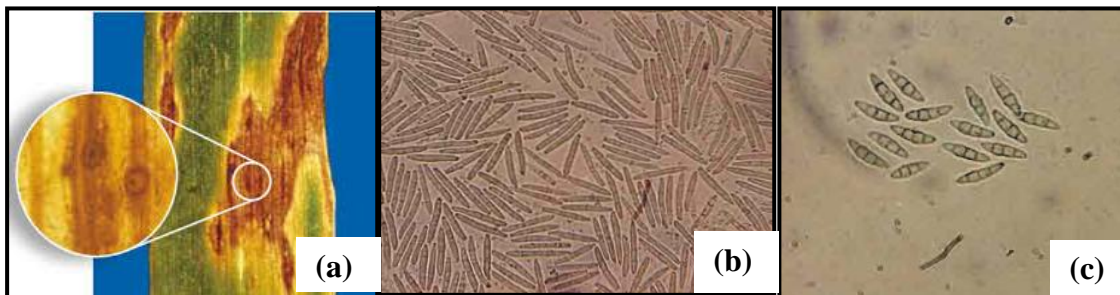
## *Revue Bibliographique Sur Le Pathosystème Blé- Septoriose*

## Chapitre 01 : Revue bibliographique sur le pathosystème blé-septoriose

### 1.1. Différentes espèces des taches septoriennes du blé

#### 1.1.1. La tache septorienne des glumes

La tache septorienne des glumes, causée par *Phaeosphaeria nodorum* (E.Müll.)Hadjaroude.(1968) décrit, sous le nom de *Leptosphaeria nodorum* E. Müll.(1952) (anamorphe = *Stagonospora nodorum* (Berk.) E.Castell. & Germano, synonyme *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. (1845), est assez polyphage. Elle attaque le blé, le triticale, le seigle et l'orge. Les glumes, ne sont pas les seuls organes atteints, le limbe, la gaine des feuilles et les nœuds le sont aussi fréquemment. Les taches foliaires au début sont jaunâtres à brun ocre, ovales ou lenticulaires, flanquées d'une bordure foncée. Ses conidies (Fig. 01) sont plus courtes, plus épaisses et plus droites que toutes les autres espèces de *Septoria* qui sont plus filiformes. A maturité, elles sont munies d'une à trois cloisons transversales bien distinctes et mesurant 15 à 24 $\mu$ m x 2.5 à 4 $\mu$ m. Les pycnides sont plus distinctes que celles de *Zymoseptoria tritici*, agent causal de la tache septorienne des feuilles, et à maturité elles exsudent du cirrhe de couleur rose (Zillinsky, 1983).

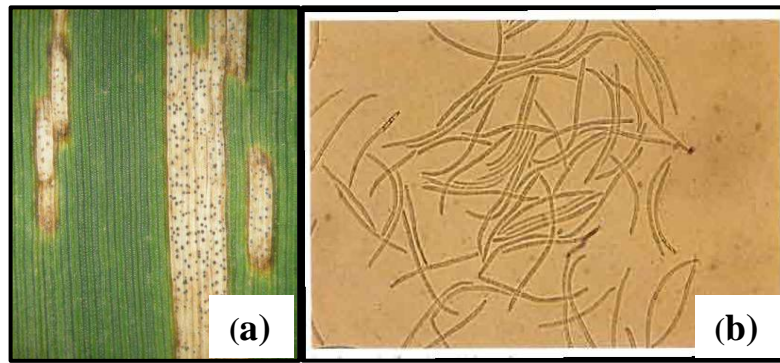


**Figure 01:**(a) Tachefoliaire causée par *S.nodorum* (b) Conidies de *S.nodorum* (c) Ascospores de *S.nodorum* (10x40) (Zillinsky, 1983 ; [1]).

#### 1.1.2. La tache septorienne des feuilles

Cette espèce attaque surtout le blé, mais peut être rencontrée sur le triticale, le seigle, et rarement sur certaines espèces d'avoine. La maladie débute par l'apparition sur le feuillage de petites taches irrégulières, de couleur brun rougeâtre, que les nervures contraignent à s'étendre longitudinalement (Fig.02a) à ce stade, apparaissent des pycnides noires sur les taches, bien distinctes et s'alignent en parallèles le long des nervures. Ces pycnides contiennent les conidies (Fig. 02b). L'agent causal est connu par son téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröeter, Anamorphe *Zymoseptoria tritici* Roberge in Desmaz. (Ayad, 2012).





**Figure 02 :** (a) Taches foliaires longitudinales avec lésions sporulantes typiques de *M. graminicola* sur le blé (Gigot, 2013), (b) Conidies de *S. tritici* (10x40) (Zillinsky, 1983).

## 1.2. Le pathosystème Blé-*Mycosphaerella graminicola*

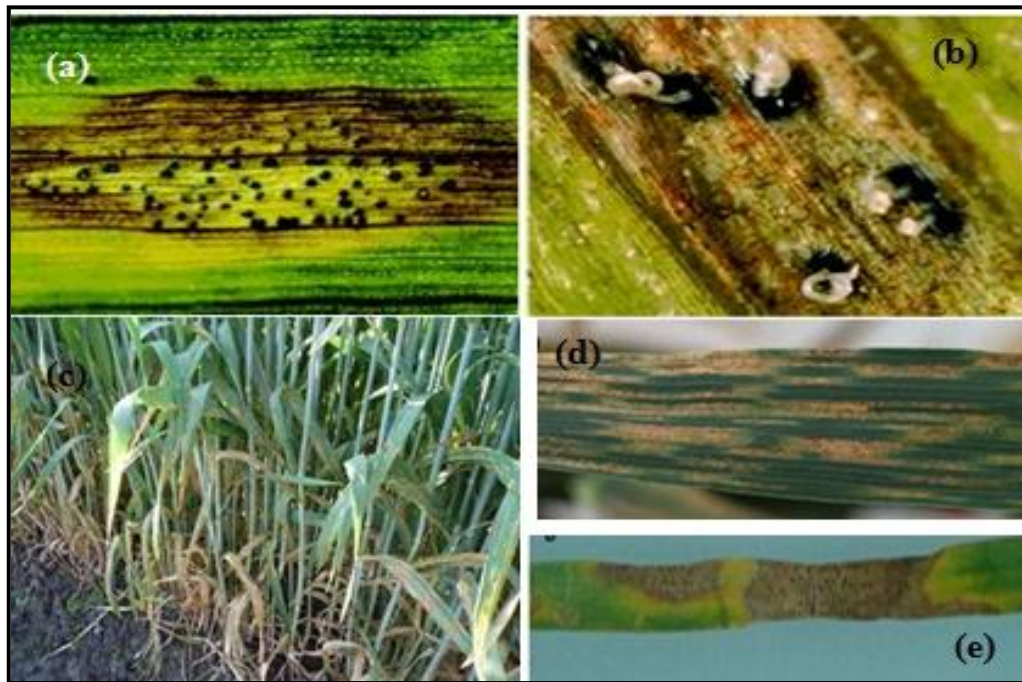
### 1.2.1. Importance de la maladie

La septoriose du blé, causée par *M. graminicola* est présente partout dans le monde, là où le blé est cultivé (Eyal *et al.*, 1987 ; Zillinsky, 1983), elle est considérée comme une maladie majeure du blé en raison de son impact sur la production mondiale de cette culture (Eyal, 1981).

En Algérie, d'après le bilan 2004/2005 « amélioration des céréales » de la station expérimentale d'Oued Smar (Alger), sur une échelle de notation de 0 à 9, le niveau d'attaque de *M. graminicola* a atteint 7. Toutes les variétés cultivées de blé dur et tendre ont présenté une sensibilité élevée vis-à-vis du pathogène. La culture du blé reste fortement attaquée en Algérie par la tache septorienne, causée par *Mycosphaerella graminicola* (anamorphe = *Zymoseptoria tritici*) et ce pathogène s'est montré très préjudiciable au cours des dernières décennies, pouvant réduire les rendements de plus de 60% [2].

### 1.2.2. Symptômes et nuisibilité

Au niveau des symptômes macroscopiques, la septoriose engendrée par *M. graminicola* se manifeste, après la période de latence, par l'apparition des taches (ou lésions) sur les feuilles. Chacune d'entre elles correspond à un ensemble de cellules nécrosées, de couleur brune, entourées d'un halo de cellules chlorosées de couleur jaunâtre (Figs.03c-03e). Lorsque les lésions sont arrivées à maturité, les fructifications du champignon (pycnides et/ou pseudothécés) deviennent visibles sous forme de petits points noirs à la surface des feuilles (Fig.03a). Le développement de la maladie se traduit par la coalescence des lésions et l'accélération de la sénescence des tissus infectés (Robert (2003) in Gigot, 2013).



**Figure 03 :** Symptômes de septoriose sur feuilles de blé à des stades différents :  
(a) pycnides noires très visibles de *M.graminicola*, (b) Gelée exsudée par les pycnides : le cirrhe (4x10) (Ayad, 2012), (c) Attaque sévère de septoriose sur une parcelle agricole illustrée par l'état partiellement nécrosé des feuilles dans la partie basse du couvert, (d) lésions partiellement coalescentes, (e) Symptômes sur feuille en cours de sénescence observés au champs pendant l'hiver (Gigot, 2013).

Au niveau physiologique, l'activité photosynthétique et la transpiration foliaire sont fortement diminuées (Cornish *et al.* (1990) ; Zuckerman *et al.* (1997) in Gigot, 2013), ainsi que la respiration (Robert *et al.*, 2006), l'absorption de l'eau et des éléments minéraux (Bancal *et al.*, 2008) et la translocation des photosynthétats chez les plantes malades ( Bancal *et al.*, 2007).

La baisse des rendements potentiels est d'autant plus importante que les dernières feuilles sous l'épi, notamment les trois dernières, impliquées dans le remplissage des grains sont sévèrement touchées par la maladie (Thomas *et al.*, 1989).

### 1.2.3. Présentation du pathogène

#### 1.2.3.1. Taxonomie

Le tableau 01 montre que *Zymoseptoria tritici* (téléomorphe *Mycosphaerella graminicola*), l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé, a connu plusieurs

changements dans sa position systématique (Allioui, 2015). Le tableau 02 montre la taxonomie des deux formes de ce pathogène.

**Tableau 01 :** Historique de la systématique de la septoriose des feuilles et des gaines (Allioui, 2015).

Nom commun	Forme asexuée (Anamorphe)	Forme sexuée (Téléomorphe)
<b>Tache septorienne/septoriose des feuilles et des gaines</b>	- <i>Septoria tritici</i> Roberge ex Desmazières (1842) - <i>Zymoseptoria tritici</i> (Desm.) Quaedylic & Crous, comb (2011)	- <i>Sphaeria graminicola</i> Fuckel (1865) - <i>Sphaerella graminicola</i> (Fuckel) (1870) - <i>Mycosphaerella graminicola</i> (Fuckel) Shroeter (1894) - <i>Mycosphaerella graminicola</i> (Fuckel) Sanderson (1972)

**Tableau 02 :** Taxonomie des deux formes de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé (Allioui, 2015)

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>

### 1.2.3.2. Biologie du pathogène

Le cycle de développement de ce pathogène comporte deux stades de reproduction :

#### - Stade de reproduction asexuée :

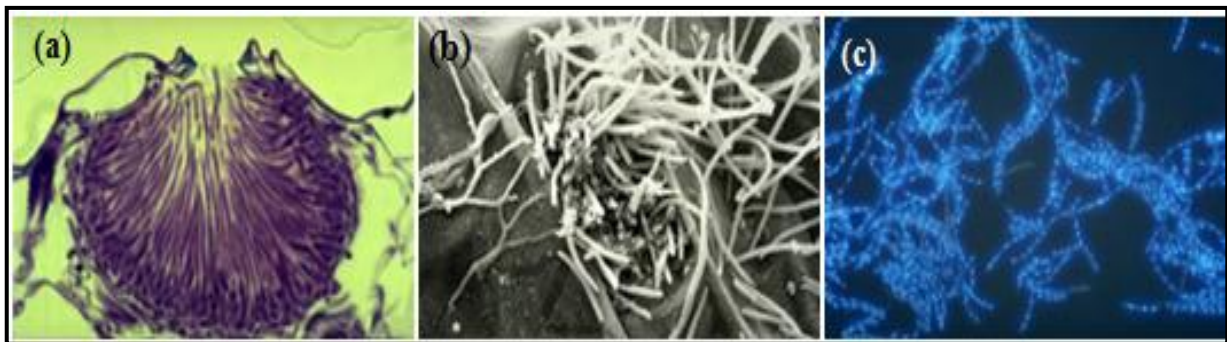
Il peut être subdivisé en quatre phases, qui sont détaillées ci-dessous (Ben Slimen, 2010) :

- **La germination des spores :** S'opère en présence d'eau libre sur les feuilles, de températures élevées (entre 10 et 25°C avec un optimum aux alentours de 20°C) et d'humidité

relative à saturation de 15 à 20 heures. Le tube germinatif pénètre dans l'épiderme de la feuille, le plus souvent, à travers les stomates.

- **La période de latence** : dans le cas de la septoriose des feuilles, cette période est longue, et elle correspond à peu près au temps entre l'émission de la dernière feuille et la floraison.

- **La sporulation** : La fin de la latence correspond à l'émission de pycnidiospores qui sont hyalines (transparentes) et filiformes et sont produites dans des pycnides (Fig.04a). Les spores sont exsudées de la pycnide (Fig. 04b) sous forme d'un amas mucilagineux nommé 'cirrhe' qui les protège des conditions climatiques défavorables. Chaque spore a typiquement 3-7 cloisons (Fig.04c) et mesure approximativement  $2.6 \times 62.5 \mu\text{m}$  (Eyal *et al.*, 1987).



**Figure 04** : fructifications de *Z. tritici* durant la phase asexuée : (a) pycnide remplie de milliers de conidies (pycnidiospores) ; (b) conidies (pycnidiospores) exsudées à travers le stomate ; (c) conidies formées de plusieurs cellules, chacune renferme un seul noyau. (Ponomarenko *et al.*, 2011).

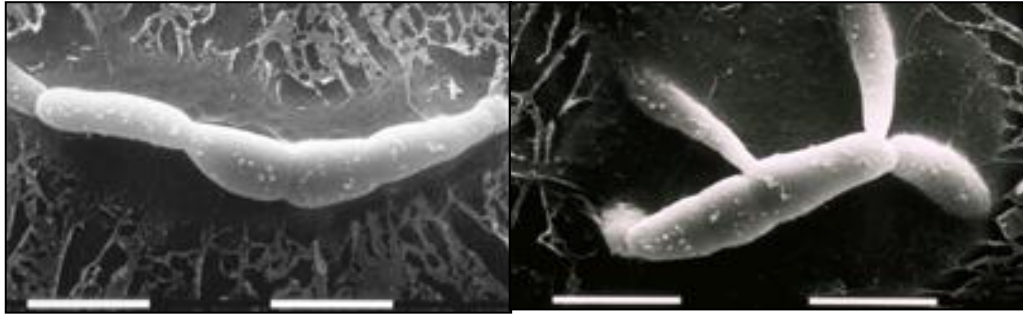
- **La dispersion** : Les pycnidiospores représentent la forme majoritairement responsable de la dispersion de la maladie pendant la saison de culture. Les cirrhes, quoique protégeant les pycnidiospores, les alourdissent et ne leur permettent pas d'être transportées en suspension dans l'air. Ce sont les éclaboussures de pluies qui les projettent vers les étages foliaires supérieurs du blé, assurant ainsi de nouveaux cycles de la maladie (Eyal *et al.*, 1987).

#### - Stade de reproduction sexuée :

Les organes de la fructification sexuelle, connus sous le nom de pseudothèces, sont également produits dans les lésions, sous l'épiderme de l'hôte. Ils sont globuleux, de couleur brun foncé et d'environ  $68$  à  $114 \mu\text{m}$  de diamètre. Les asques, mesurent environ  $11-14 \times 30-40$

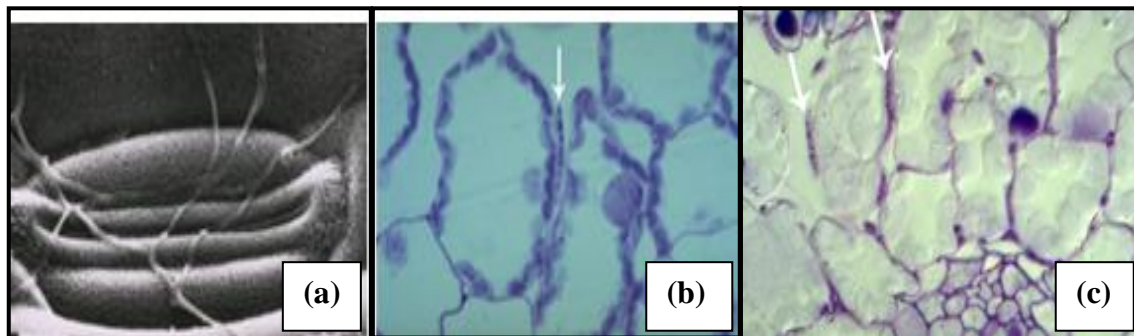


$\mu\text{m}$ , contenant chacun huit ascospores hyalines (transparentes), elliptiques et de  $2,5-4 \times 9-16 \mu\text{m}$  de taille, constituées de deux cellules de longueur inégale (Fig. 05). Les ascospores sont éjectées forcément des asques à maturité en raison des fluctuations de l'humidité relative après des périodes d'humidité.



**Figure 05** : cellules d'ascospores de *Zymoseptoria tritici*  
(Ponomarenko *et al.*, 2011)

Le mode de vie de *M. graminicola* est héli-biotrophique. Il est biotrophique au début du processus d'infection, dérivant sa nutrition de l'apoplasme autour des cellules vivantes (Fig. 06a et 06b), puis tue les cellules hôtes environnantes et devient nécrotrophique (utilisant des tissus morts) pendant les derniers stades de l'infection (Fig.06c).



**Figure 06** : Croissance biotrophique (0 à 24 heures après le contact) : (a) Pénétration de l'hôte par des ouvertures naturelles, les stomates 4 à 48 heures après le contact ; (b) Phase biotrophique intercellulaire 2-12 jours après contact ; (c) Croissance nécrotrophique associée à l'apparition de lésions sur la surface foliaire et à l'effondrement du tissu végétal.

(Ponomarenko *et al.*, 2011)

La figure 07 représente le cycle biologique de l'agent pathogène, montrant les différents stades de développement.

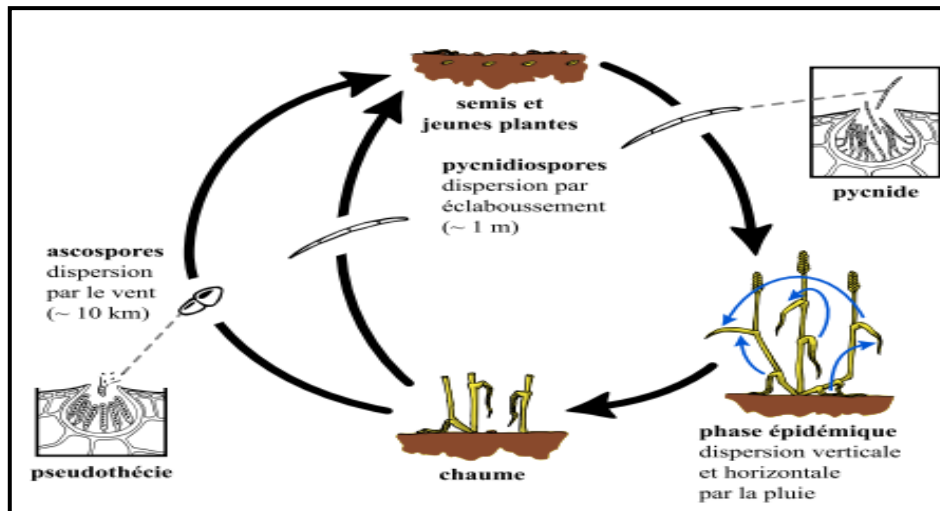


Figure 07 : Cycle biologique de *Mycosphaerella graminicola* (Gigot, 2013)

#### 1.2.4. Facteurs favorisant le développement de la maladie

##### - Les conditions climatiques :

L'humidité est un facteur limitant pour toutes les étapes de l'infection, Gough et Lee (1985) ont trouvé qu'à une humidité relative (HR) de 100%, les pycnides déchargent deux fois plus de spores qu'à une HR de 98% et 11 à 23 fois plus qu'à une HR de 86%. Benedict (1971) révèle que la croissance mycélienne et la production de pycnides est élevée à une luminosité de 2000 lux, et la pénétration est optimale à une intensité lumineuse de 8000 lux. Cependant, cet effet est variable selon la variété du blé infectée (Allioui, 2015).

La température affecte l'infection qui peut être retardée dans le champ si celle-ci est en dessous de 7°C durant 2 nuits consécutives. La germination des spores exige une température optimale de 15 à 25°C, mais peut avoir lieu entre 5 et 35°C. D'autre part, la pluie est le facteur moteur des contaminations. A la faveur des pluies, elles se font des feuilles inférieures vers les feuilles supérieures via les éclaboussures des gouttes d'eau. Cependant, Simon *et al.* (2012), rapportent que les ascospores semblent moins dépendantes des précipitations que les conidiospores, et des infections des feuilles supérieures peuvent avoir lieu en absence des précipitations (Allioui, 2015).

##### - Les pratiques culturales :

Les pratiques culturales peuvent avoir un effet remarquable sur le développement des épidémies des maladies foliaires, notamment les septorioses et les rouilles (Loyce *et al.*, 2008). Ainsi, selon Arvalis (2013), les semis plus clairs présentent moins de maladie

par rapport à des densités plus élevées, et un apport élevé d'azote favorise le développement de la septoriose (Simon *et al.*, 2002).

**- La structure et le stade végétatif de la plante :**

La hauteur de la paille et la tardivité de la culture sont considérées comme facteurs de résistance à ce champignon étant donné que les gouttelettes de pluie portant des pycnidiospores mettent plus de temps à atteindre les feuilles supérieures chez les variétés à paille haute. Par ailleurs, la proximité des feuilles chez les variétés naines facilite le contact entre les nouvelles feuilles émergentes et les feuilles infectées (Ben Mohamed *et al.* (2000) ; Lovell *et al.*(1997; 2004a) ; Rodriguez-contreras (2008) in Alloui, 2015).

### **1.3. Stratégies de lutte contre les septorioses du blé**

#### **1.3.1. La lutte agronomique :**

Pour atténuer la sévérité des maladies, les chercheurs recommandent l'application des pratiques culturales conformes, et les rotations avec des cultures nettoyantes. Il a été recommandé de brûler les résidus de culture, mais actuellement, 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).

#### **1.3.2. La lutte chimique :**

La principale méthode de lutte contre la septoriose du blé causée par *Z.tritici* consiste à traiter le feuillage à l'aide des fongicides. Les strobilurines introduites en 1997 sont des inhibiteurs respiratoires spécifiques, de la famille des QoI, qui présentent de bonnes potentialités sur cette maladie (Leroux, 2005), la famille des carboxamides (ou SDHI), est également utilisée pour lutter contre la septoriose du blé. Cependant, le risque de développement des résistances chez *Mycosphaerella graminicola* vis-à-vis de cette famille est estimé moyen à élevé. Des précautions d'utilisation sont donc nécessaires pour conserver le plus longtemps possible l'efficacité des carboxamides (Schurch et Cordette, 2013).

#### **1.3.3. La 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).

#### 1.3.4. La lutte biologique :

Plusieurs contrôles biologiques sont en cours d'évaluation pour la tache septorienne du blé (STB), et certains se sont montrés prometteurs, mais aucun n'est encore disponible pour la production commerciale. Les champignons appartenant à *Trichoderma* spp. ont été utilisés auparavant comme agents de lutte biologique pour protéger les plants de blé contre les maladies des taches foliaires en Argentine. Une collection de *Bacillus megaterium* provenant de la rhizosphère et des feuilles de blé, de l'orge, de la paille de l'avoine et du grain a été criblée pour sa capacité à inhiber la STB. Cette bactérie a régulièrement retardé le développement de STB jusqu'à 80% dans des essais sur le terrain à petite échelle. Les pseudomonades (*Pseudomonas* sp.) ont également été testées en tant qu'agents potentiels de lutte biologique. Les applications de cellules de deux isolats de pseudomonades fluorescentes du sol aux plantules de blé avant l'inoculation avec *M. graminicola* ont nettement réduit l'expression des symptômes. En outre, la croissance des pseudomonades antagonistes n'a pas été affectée par un certain nombre de fongicides commerciaux (Ponomarenko *et al.*, 2011).



## *Chapitre 02*

# *La Lutte Biologique Dans La Protection Des Cultures*

## Chapitre 02 : La lutte biologique dans la protection des cultures

### 2.1. Concepts de la lutte biologique

#### 2.1.1 Définition :

Le terme "*lutte biologique*" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures (Nordlund, 1996). En agronomie, on appelle lutte biologique l'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et ou la nocivité des divers ennemis des cultures (Resche-rigon, 2008). L'agent de lutte peut être un parasitoïde, un prédateur, un agent pathogène (*champignon, bactérie, virus, ou protozoaire*), ou un concurrent du bio-agresseur visé. Le développement d'une méthode de lutte biologique contre un ravageur nécessite quatre étapes (Brunel et Fournet, 2002) :

\*1<sup>ère</sup> étape : Etudier la biologie du ravageur.

\*2<sup>ème</sup> étape : Etudier la biologie des ennemis naturels du ravageur.

\*3<sup>ème</sup> étape : Mettre au point une production répondant aux besoins des expérimentations tant au laboratoire qu'en conditions naturelles.

\*4<sup>ème</sup> étape : Valider les expérimentations en laboratoire par des tests en plein champ.

#### 2.1.2. Objectifs :

L'utilisation d'une méthode de lutte biologique ne cherche pas à parvenir à une éradication totale de l'espèce envahissante (espèce cible) mais son objectif est d'en réduire suffisamment et durablement les effectifs pour l'amener en dessous d'un seuil de nuisibilité, écologiquement et/ou économiquement acceptable. L'objectif principal est donc de rétablir un équilibre durable entre l'agent de lutte et l'espèce cible. Le but de la lutte biologique est de proposer des méthodes utilisant l'introduction volontaire par l'homme de prédateurs, de parasites ou de microorganismes pour réduire ou supprimer des espèces considérées comme nuisibles (Lydie, 2010).

### 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 bien avant, c'est seulement autour de 1960 que la théorie et la pratique ont fait l'objet d'une première réunion. Au cours des dernières années le nombre de recherche dans ce domaine a augmenté, mais cela représente encore seulement une petite fraction du nombre et des ventes de produits chimiques destinés pour les champs, vergers et la culture des arbres. En 1993, la vente des biofongicides représentait moins de million de

dollars, tandis que les ventes totales de fongicides excédaient 505 billions de dollars (Caron et Laverdière, 2006).

## **2.3. Différents types de lutte biologique**

### **2.3.1 La lutte biologique par conservation ou par modifications environnementales :**

La lutte biologique par conservation se définit comme une pratique de modification de l'environnement ou des pratiques existantes pour protéger et favoriser les populations d'ennemis naturels (dits auxiliaires) d'autres organismes phytophages des plantes cultivées, afin d'en réduire l'impact sur les cultures. A ce titre, elle s'insère dans le contexte plus large de l'ingénierie écologique (Gurr *et al.*, 2004). L'ingénierie écologique (Ecological Engineering) est définie comme « Une activité humaine qui modifie l'environnement selon des principes écologiques» (Odum, 1962).

Ce type de stratégie ayant pour but de modifier un environnement ou des pratiques culturales pour les ennemis naturels des ravageurs (cible), implique que les ennemis des ravageurs doivent être présents sur le site et que l'on trouvera des moyens de diminuer leur mortalité, de favoriser leur reproduction, d'améliorer leur efficacité et d'augmenter l'attractivité, du site pour ces agents de lutte biologique. Par contre, les modifications apportées ne devront pas favoriser la cible (Lydie, 2010).

### **2.3.2. La lutte biologique par acclimatation :**

Les stratégies dites d'introduction-acclimatation, aussi appelées lutte biologique classique, consistent à lâcher des organismes vivants comme agents de lutte biologique dans le but qu'ils se multiplient et s'établissent durablement afin de réaliser un contrôle efficace de la cible. Pour cela, on choisit la plupart du temps un agent biologique qui provient du même écosystème que la cible. Quand l'auxiliaire (ou plus largement l'antagoniste) apporté par l'homme au contact de la cible, se développe et se maintient aux dépens de cette cible on considère que l'acclimatation est un succès.

La lutte biologique par lâchers périodiques est une des stratégies de lutte parmi les plus employées : elle permet, soit d'augmenter le nombre d'agents de lutte biologique déjà présents à de faibles densités de population, soit de procéder à une introduction quand il est totalement absent (Lydie, 2010).

### 2.3.3. La lutte biologique augmentative :

Selon Deguine *et al.* (2015), la lutte biologique augmentative, consiste à augmenter la taille des populations d'ennemis naturels, soit par des lâchers massifs (lutte inondative) ou par lâchers en petite quantité (lutte inoculative).

### 2.4. Avantages et inconvénients de la lutte biologique :

La lutte biologique comprend un certain nombre d'avantages et des inconvénients qui peuvent être présentés comme suit (Lefort, 2010) :

#### 2.4.1 Avantages :

- Efficace,
- Permet de restreindre ou d'éliminer l'utilisation de pesticides chimiques,
- Moins toxique que les pesticides chimiques,
- Elle est utilisable en serre,
- Permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques,
- Plus grande spécificité d'action,
- Faible coût de développement.
- Du point de vue environnemental: Innocuité pour la santé humaine, l'environnement ou les espèces non ciblées.

Par conséquent :

- Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricoles,
- Pas de délai de traitement avant la récolte,
- Non contamination des produits (pas de résidus chimiques),
- Maintien de la biodiversité des biotopes,
- Compatibilité avec les programmes de lutte intégrée,
- Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution.

#### 2.4.2. Inconvénients :

- Lutte souvent faite en prévention et moins efficace lorsque curative,
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'applications),
- Effet différé,
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre,
- Efficacité relative aux conditions climatiques,

- Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur,
- Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi-vie et température plus fraîche),
- Nécessite d'excellentes connaissances de l'écologie des pathogènes cibles et des agents de contrôles biologiques, et de la relation pathogène cible-agent de contrôle biologique.

#### **2.4.3. Précautions élémentaires :**

Pour l'obtention d'un meilleur résultat, dans un programme de lutte biologique, plusieurs points doivent être pris en considération [3] :

- **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
  - Des autres espèces de l'écosystème.

#### **2.5. Les acteurs de la lutte biologique :**

Les types d'organisme vivants utilisés en lutte biologique sont **les auxiliaires et les préparations biologiques**. Les auxiliaires (ou macro organisme) comprennent les prédateurs et les parasites. Les préparations biologiques (ou micro organisme) comprennent des bactéries, des virus et des champignons (Resche-Rigon, 2008).

### 2.5.1. Mécanismes d'action des microorganismes antagonistes :

Starnes *et al.* (1993) ont démontré que plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique contre les insectes ravageurs de cultures. Ces bactéries appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonaceae* (Greathead *et al.*, 1994). Selon Montesinos *et al.* (2009), les mécanismes d'actions des agents antagonistes sont :

- **Interaction directes cellule- cellule**

- Hyper parasitisme (l'antagoniste attaque le pathogène en perçant les hyphes et les envahissant)
- Interférence avec la croissance cellulaire/ mycélienne.

- **Interférence des signaux intercellulaires**

Extinction du Quorum sensing (La détection du quorum est la régulation de l'expression des gènes en réponse aux fluctuations de la densité de population cellulaire).

- **Compétition**

- Colonisation des sites d'entrée chez l'hôte.
- Compétition pour les nutriments (C, N, P, Fe).
- Barrières physiques (biofilms).

- **Actions sur la résistance de l'hôte**

- Résistance systémique induite.
  - Résistance systémique acquise.

- **Antibiose**

- Enzymes lytiques, peptides antimicrobiens et protéines.
  - Composés phénoliques.

### 2.5.2. Rôles des bactéries dans la protection des cultures :

Si parmi les nombreuses espèces de bactéries, environ une centaine d'espèces sont considérées comme pathogènes pour les cultures, d'autres espèces sont considérées comme bénéfiques soit pour leur activité fongicide, nématicide ou insecticide, ou encore pour leur

activité symbiotique stimulant la croissance des plantes, ou leur activité antagoniste, particulièrement dans les sols, et sont généralement considérées comme des biopesticides. Nous citerons comme exemples utilisés couramment en agriculture : *Bacillus thuringiensis* ou BT produisant des endotoxines utilisées contre les chenilles de lépidoptères ravageurs des cultures, *Bacillus subtilis* souche QST 713 utilisée comme fongicide contre le mildiou, *Botrytis cinerea* ou la tavelure, ou contre des maladies bactériennes comme le feu bactérien ; *Bacillus pumilus* souche QST 2808 est efficace contre la sclérotiniose du colza ; *Streptomyces* souche K61 (anc. *S. griseoviridis*) est un fongicide utilisé en usage préventif pour lutter contre les pathogènes du sol et du collet comme *Rhizoctonia*, les pythiacées, ou des *Fusarium* pathogènes comme *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* [4].

Ces micro-organismes introduits dans le substrat sont considérés comme bénéfiques car même s'ils n'agissent pas directement sur les plantes, ils leurs procurent une certaine «Assurance de protection » contre des organismes qui peuvent agir de façon négative sur la plante [5].

#### 2.5.2.1. Les actinomycètes :

- **Caractéristiques morphologiques des actinomycètes**

Les actinomycètes sont des bactéries aérobies, à Gram-positif, ayant la capacité de former des spores asexuées (conidiospores ou sporangiospores) et des hyphes ramifiés, habituellement non fragmentés.

Comme les autres bactéries à Gram-positif, leur paroi est constituée d'une épaisse couche de peptidoglycane qui joue un important rôle dans le maintien de la rigidité cellulaire ainsi que dans la protection physique de la membrane sous-jacente. Certains groupes, tels les nocardobactéries, ont une paroi cellulaire très riche en lipides et en cires de 60 à 90 carbones appelées acides mycoliques (Prescott *et al.*, 1995).

Dans le sol, de nombreuses actinomycètes sont saprophytes et participent à la dégradation de la matière organique et à la formation de l'humus, tout comme les champignons. Les actinomycètes du sol sont surtout présents en surface, entre 0 et 2 m de profondeur. Ils produisent des substances spécifiques telles que la géosmine et le 2-méthyl isobornéol qui sont responsables de l'odeur caractéristique des sols. Les actinomycètes sont généralement plus

nombreux que les champignons, mais moins abondants que les autres bactéries (Zaitlin *et al.*, 2003).

- **Modes d'actions**

Deux propriétés les plus significatives des actinomycètes sont leur capacité à se développer sur les substrats les plus divers et leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs parmi lesquels on compte les deux tiers des antibiotiques produits par des micro-organismes. Ces propriétés traduisent la richesse tout à fait remarquable du métabolisme cellulaire de ce groupe microbien (Theilleux, 1993 in Loucif, 2011).

Ces microorganismes produisent beaucoup de molécules ayant de nombreuses applications dans divers domaines et de ce fait, présentant un fort intérêt pour les industriels (antibactériens, antifongiques, insecticides, herbicides, antiparasites, acaricides, antivirales, anti tumoraux, antimitotiques, anti allergénique, protéases alcalines, glucose isomérase, vitamines ...). Par ailleurs, les actinomycètes ont un rôle écologique, ils possèdent la capacité de dégrader des molécules complexes non dégradées par les champignons ou les autres bactéries, contribuant ainsi à la fertilisation des sols (Béredy, 2005).

L'action antifongique des actinomycètes, ne se limite pas seulement aux champignons filamenteux mais s'étend aux levures et aux dermatophytes (Loucif, 2011).

#### **2.5.2.2. Les bactéries du genre *Pseudomonas***

- **Caractéristiques du genre *Pseudomonas***

Les pseudomonas sont parmi les bactéries les plus importantes dans la rhizosphère. Elles se caractérisent par un métabolisme aérobie strict, certaines souches ont une respiration anaérobie avec le nitrate comme accepteur terminal d'électrons et/ou l'arginine. Les pseudomonas sont mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires. Ils sont rarement immobiles et sont non sporulés (Boukerma , 2012).

Les pseudomonas constituent un groupe très hétérogène et comprend notamment *P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens* et *P. syringae* (Haas et Defago, 2005).

D'après Allaire (2005), les différentes espèces de *Pseudomonas* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement



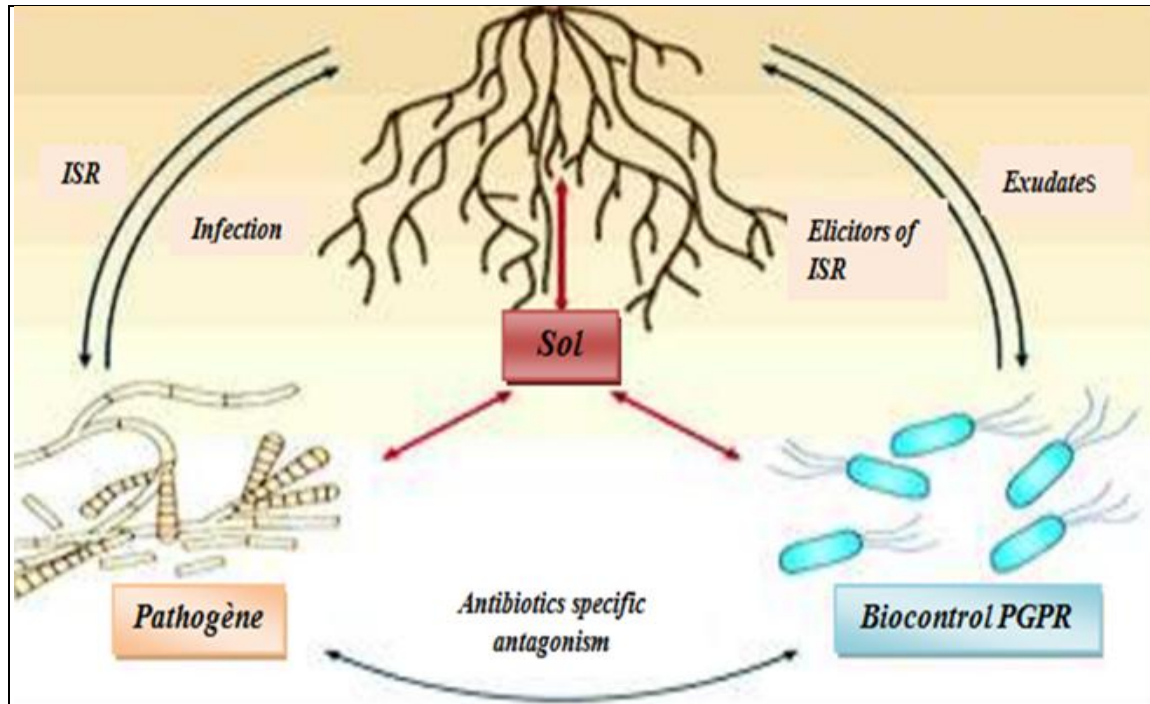
intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable. Cette grande rhizocompétence vient sans doute de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres rhizobactéries et de leur capacité à métaboliser efficacement plusieurs composés des exsudats racinaires. De plus, ces bactéries sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques.

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce *P. fluorescens*, sont connues depuis longtemps pour leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires dans certains champs, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes *in vitro*. Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites antagonistes et de Sidérophores, qui sont des chromopeptides reliés à un chromophore fluorescent, dans des conditions de carence en fer, il inhibe la croissance fongique en piégeant le fer dans les sols à pH élevé.

- **Modes d'action :**

La plupart des *Pseudomonas* produisent des antifongiques tels que des phénazines, la pyrrolutérine, la pyrrolnitrine et le DAPG (2,4-diacetylphloroglucinol) qui sont les antifongiques les plus fréquemment détectés (Fig.08). Ces bactéries sont également capables de produire un ou plusieurs antibiotiques autres que les sidérophores appelés pyoverdines ou pseudobactines. Le rôle attribué à ces antibiotiques dans le biocontrôle des pathogènes telluriques, vient de la corrélation de leur production et de l'inhibition des pathogènes *in vitro*, et de la suppression de la maladie *in vivo* (Haas et Défago, 2005).

Ces bactéries élicitent les réactions de défenses des plantes et de par leur forte affinité pour le fer, elles limitent la croissance saprophyte de certains microorganismes phytopathogènes (Lemanceau *et al.*, 2009).



**Figure 08** : Interaction entre les PGPR, la plante, le pathogène et le sol (Haas et Défago, 2005).

### 2.5.2.3. Les *Bacillus*

Les *Bacillus sp.* présentent plusieurs avantages tels que leur ubiquité, La thermo-résistance de leurs spores ainsi que leur capacité à sporuler et à produire des antibiotiques. De plus, le recours à des bactéries, par comparaison aux champignons, offre une plus grande facilité de multiplication, une aisance de mise en œuvre, une efficacité, apriori, supérieure et une tolérance aux produits de préservation (Géraldin *et al.*, 1996). Pour exemple on cite la *Bacillus subtilis* à usage autorisé en France sur vigne contre la pourriture grise, *Botrytis cinerea* (Ait baraka *et al.*, 2013).

La bactérie *Bacillus subtilis* QST 713 est une bactérie d'origine naturelle qui a été isolée pour la première fois en 1995 à partir d'un sol californien. Cette bactérie et les composés qu'elle produit naturellement présentent un large spectre d'activité sur des maladies fongiques et bactériennes. Notamment contre le feu bactérien, *B. subtilis* QST 713, utilisé en application foliaire comme un fongicide classique, agit selon différents modes d'action :

- **Une activité directe antibactérienne** par le blocage de la formation des parois cellulaires d'*E. amylovora*.

- **Une activité indirecte par :**

\* *Une compétition spatiale et trophique* : les spores de *B. subtilis* QST 713 sont capables de se développer dans certains milieux (fleurs, blessures et autres niches favorables) et ainsi d'entrer en concurrence avec les microorganismes pathogènes tels que les spores d'*E. amylovora*.

\* *La mise en place de mécanismes de défenses naturelles* : *B. subtilis* QST 713, lorsqu'elle entre en contact avec la plante sur laquelle elle est pulvérisée, active les défenses internes de la plante et stimule ses réponses physiologiques de défense. Cela se traduit au sein de la plante par une production accrue de peroxydases, enzymes jouant un rôle dans la synthèse des parois cellulaires des végétaux [6].

*Paenibacillus polymyxa* (syn. *Bacillus polymyxa*) représente un certain intérêt car elle appartient au groupe des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (**PGPR**) (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). La promotion de la croissance peut s'établir par l'intermédiaire de mécanismes directs ou indirects. Les effets directs s'observent dans le cas où les métabolites produits par la bactérie inoculée stimulent la croissance de la plante indépendamment de la microflore rhizosphérique native. Au contraire, un effet indirect s'exerce par un comportement compétitif voire antagoniste de la population introduite, vis-à-vis de populations délétères ou pathogènes. Cette souche bactérienne appartient au groupe ERIC-PCR 1 (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-Polymerase Chain Reaction), elle fait partie du groupe de souches les plus adaptées à la rhizosphère du blé dur et elle est caractérisée par son pouvoir de dégradation du xyloglucane et sa capacité à entraver le développement in vitro de plusieurs mycètes phytopathogènes (Lounaci et Athmani -Guemouri , 2014).

#### 2.5.2.4. Les bactéries du genre *Erwinia*

- **Caractéristiques générales**

Le genre *Erwinia*, a été nommé en 1920 en honneur du phytopathologiste *Erwin Fank Smith*. (Wlodarczyk, 2010). Ce genre regroupe les bactéries de la famille des Entérobacteriaceae, à Gram négatif, anaérobies facultatives, mobiles par des flagelles dont le nombre et la position varient selon les espèces (Maghnaoui, 2014).

- **Pouvoir pathogène des *Erwinia* sp.**

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).

Selon Kettani (2014), 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 participants 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.

## *Chapitre 03*

### *Matériel Et Méthodes*

## Chapitre 03 : Matériel et méthodes

### 3.1. Matériel fongique

#### 3.1.1. Origine des isolats de l'agent pathogène *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola*

Les isolats de l'agent causal de la tache septorienne des feuilles du blé *Mycosphaerella graminicola*, utilisés dans cette étude ont été collectés de champs de blé tendre infectés par la maladie, situés dans la région de Belkheir (W. Guelma), sur des repousses de blé tendre, de l'année précédente (2015/2016).

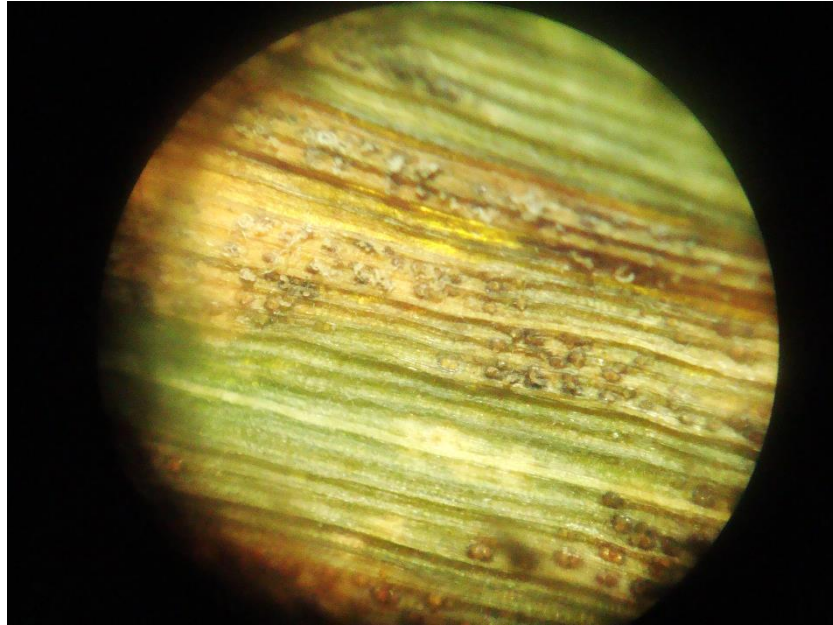
#### 3.1.2. Isolement du pathogène *Zymoseptoria tritici*

##### 3.1.2.1. Préparation des échantillons

Des échantillons de feuilles, montrant des symptômes typiques (nécrose foliaire, parsemées de pycnides) de la tache septorienne des feuilles 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 contenant les spores (Figs. 09 et 10).



**Figure 09** : Feuilles de blé infectées par *Z. tritici*, mises en chambre humide  
(Photo personnelle)



**Figure 10 :** Cirrhes de *M. graminicola* sur feuille de blé, émises après une nuit dans la chambre humide, observés sous loupe binoculaire (x 5).  
(Photo personnelle).

### 3.1.2.2. Isolement

Après une nuit d'incubation dans la chambre humide, les pycnides émettent un cirrhe blanchâtre chargé de spores. Des cultures monospores, ont été effectuées selon la technique décrite in Alliou (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 de spores, 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 : Annexe 01).
- Après une période d'incubation de 4 à 6 jours à l'obscurité, des micro-colonies de couleur blanchâtre à rosâtre, caractéristique de *Zymoseptoria tritici*, se sont développées (Fig. 11).
- A l'aide d'une Anse de platine, une seule colonie est prélevée puis repiquée sur milieu PDA neuf et utilisée ultérieurement pour les tests de confrontation.





**Figure 11** : Micro-colonies de *Zymoseptoria tritici* après 06 jours d'incubation, observées sous loupe binoculaire (x5)  
(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*).

#### **a- Caractérisation macroscopique :**

Deux paramètres ont été pris en considération :

- ✓ Forme de la culture sur le milieu PDA (type de croissance).
- ✓ Couleur de la colonie.

#### **b- Caractérisation microscopique :**

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



## 3.2. Isolement et culture des isolats bactériens testés

### 3.2.1. Origine des isolats bactériens

Les isolats bactériens utilisés dans cette étude se subdivisent en 02 groupes en fonction de leurs origines :

- Des bactéries isolées de sols cultivés pendant l'année 2015/2016, et conservées à + 4°C, fournies par monsieur Benada M. et madame Khenaka K., enseignants microbiologistes, à la faculté SNV et STU de l'université 08 mai 1945 de Guelma.

- Des bactéries isolées de sols et identifiées au cours de l'année pédagogique 2016/2017, pour lesquelles, les échantillons de sol ont été prélevés dans des zones rhizosphériques de cultures de blé et d'orge (sols non traités), dans les régions de Souk Ahras et Guelma (Boumahra Ahmed, ITGC, Boucheggouf et Belkheir) pendant le mois de février 2017, à une profondeur de 20 à 30 Cm, et mis dans des sacs en plastique propres.

### 3.2.2. Traitement des échantillons de sol et isolement des bactéries

- **Matériel :**

- Tubes à vis de 20 mL stérilisés (05 tubes).
- Eau distillée stérile (9 mL par tube)
- Vortex
- Bec bunsen
- Pipettes pasteur stériles
- Micro-pipette de 1 mL
- Boîtes de Pétri
- Balance de précision

- **Milieux de culture utilisés**

Les milieux King B (KB), gélose nutritive (GN) et le milieu LPGA (Annexe I) ont été utilisés pour la culture des bactéries isolées.

- **Méthode d'isolement**

L'isolement a été effectué selon la technique des dilutions décimales successives décrite par Hammoudi et Riad (2013) dont les différentes étapes sont citées ci-dessous (Fig. 12) :

a- Mettre 01 g de sol dans un tube à vice de 20 mL,

b- Ajouter 9 mL d'eau distillée stérile.

c- Agiter la préparation à l'aide d'un vortex pendant 10 minutes, pour avoir une solution homogène : cette solution correspond à la première concentration  $10^{-1}$  g/mL de la suspension microbienne.

d- 1 mL de cette solution est prélevé, à l'aide d'une micropipette, et versé dans un nouveau tube contenant 9 mL d'eau distillée stérile, la nouvelle concentration sera donc  $10^{-2}$  g/mL.

e- Agiter de nouveau la nouvelle solution ( $10^{-2}$  g/mL), puis répéter les étapes de a à d, jusqu'à l'obtention de la concentration  $10^{-5}$  g/mL.

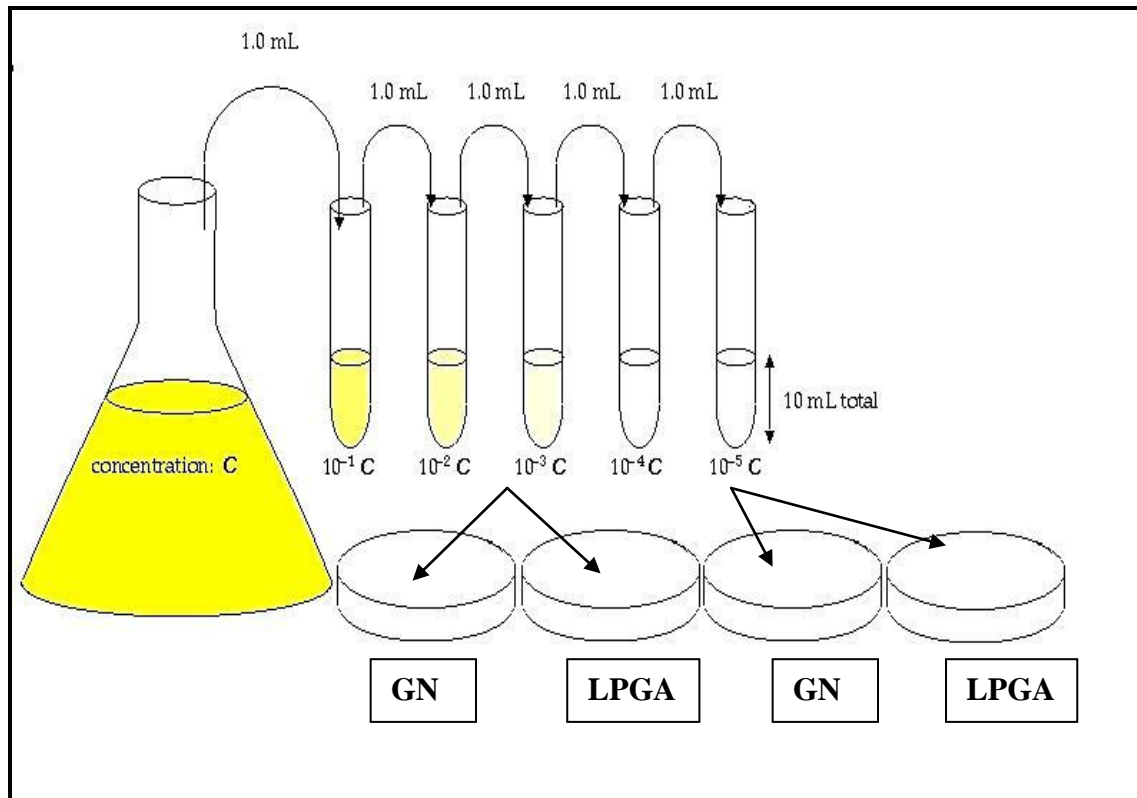
f- Des volumes adéquats des suspensions microbiennes de concentration  $10^{-3}$  g/mL et  $10^{-5}$  g/mL sont prélevés à l'aide de pipettes pasteur, et déposés goutte à goutte au centre des boîtes de Pétri contenant les milieux gélosés (GN, LPGA, KB). Les suspensions sont ensuite étalées sur toutes les boîtes.

g- L'incubation des boîtes se fait dans l'étuve à une température de 28 °C pendant 48 heures.

### 3.2.3. Purification et identification des souches bactériennes isolées

Les colonies présentant des caractéristiques macroscopiques différentes sont repiquées sur boîtes de Pétri (milieu LPGA ou GN selon le milieu de la souche repiquée) de façon successive jusqu'à l'obtention de cultures pures. Ces dernières sont soumises à la coloration de Gram, ensuite soumises aux tests biochimiques (Oxydase, Catalase «H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>», API20E, API20NE), ces tests nous ont permis de sélectionner les différents groupes de bactéries. Une fois purifiées, les souches sont conservées au réfrigérateur (+ 4°C).

L'identification et la distinction des différents genres de bactéries ont été effectuées sur la base des caractéristiques microscopiques des différentes souches, sous la direction de monsieur Benada M. et madame Khenaka K.



**Figure 12 :** La technique des dilutions décimales [7]

### 3.2.4. Coloration de Gram

Après isolement, ensemencement et purification des souches bactériennes, la coloration de Gram a permis de regrouper les bactéries isolées en 2 catégories : bactéries à Gram+ (coloration violette) et bactéries à Gram- (coloration rose) (Annexe II) .

La répartition des bactéries en Gram+ ou Gram- est un critère systématique important pour la classification des bactéries. En outre, Elle permet de visualiser facilement les bactéries et de donner des indications sur leurs formes et leurs tailles [8].

### 3.2.5. Tests Oxydase/Catalase

Les tests oxydase/catalase (Annexe II) ont permis également d'avoir des informations supplémentaires permettant l'identification des bactéries testées.

### 3.2.6. Identification des bactéries isolées

Après avoir regroupé une série de caractères d'identification, les souches isolées ont été identifiées : 03 souches de *Bacillus sp.* (01-03) et une souche d'actinomycète (01) :

➤ **Le genre *Bacillus***

Il se caractérise par les critères suivants [9] :

- Gros bacilles (3-9  $\mu\text{m}$  x 0,6-1  $\mu\text{m}$ )
- Gram (+), parfois faible
- Sporogènes, en culture, pas *in vivo*
- Aérobie strict ou Aérobie-Anaérobie facultatif
- Catalase + en général

➤ **Les actinomycètes**

Selon Aouar (2006), morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes :

- Le premier : se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forment seulement une masse de filaments ramifiés (mycélium).
- Le second : comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier.

- Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- Des colonies poudreuses habituellement couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu.
- Des colonies pâteuses rugueuses ou lisses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides.
- Des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

- Ces endospores sont semblables à celles des *Bacillus sp.*
- D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges qui peuvent contenir des spores mobiles à l'aide de flagelles (Actinoplanes) ou des spores immobiles tel que le genre *Streptosporangium*.

Les spores peuvent, selon les genres, être produites isolément, deux à deux longitudinalement, en courtes chaînes, ou en longues chaînettes. Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales (Aouar, 2006).

### 3.2.7. Bilan des traitements

Au total, le nombre de souches bactériennes testées est de 17 souches :

- 01 souche *Bacillus gilna*.
- 03 souches de *Bacillus sp.*
- 09 souches d'*Actinomycètes*
- 04 souches d'*Erwinia carotovora*

Le tableau 03 présente les différentes souches bactériennes utilisées dans cette étude et leur Origine.

### 3.3. Techniques de confrontation :

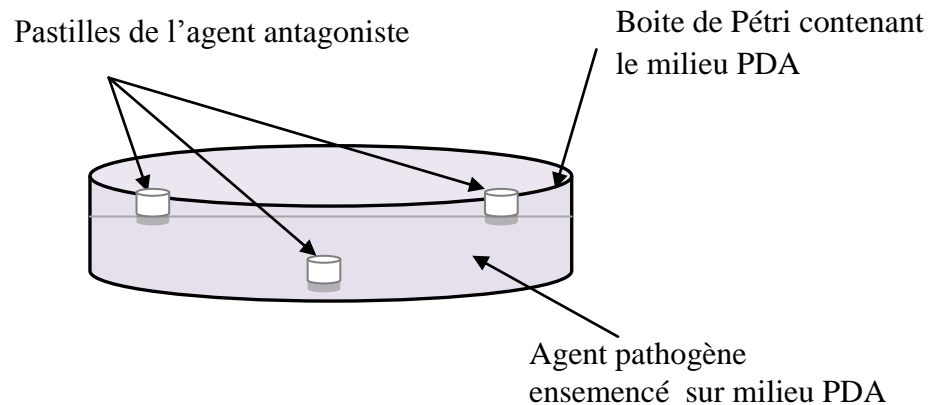
L'activité antagoniste *in vitro* des souches microbiennes contre les isolats de *Mycosphaerella graminicola* a été étudiée selon la méthode de contact direct (par le biais de cylindres ou « pastilles »).

Cette méthode (Fig. 13) 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 (Ghomari, 2009).

**Tableau 03 :** Origines des souches bactériennes testées pour leur activité antagoniste vis-à-vis de *Zymoseptoria tritici*

N°	Genre/espèce	Origine	Isolement
01	<i>Bacillus gilna</i>	Guelma (Boucheggouf)	Sol
02	<i>Bacillus sp.01</i>	Souk Ahras	Sol
03	<i>Bacillus sp.02</i>	Guelma (ITGC)	Sol
04	<i>Bacillus sp.03</i>	Guelma (Belkheir)	Sol
05	<i>Actinomycète 01</i>	Guelma (Boumahra Ahmed)	Sol
06	<i>Actinomycète 02</i>	Guelma (2015)	Sol
07	<i>Actinomycète 03</i>	Guelma (2015)	Sol
08	<i>Actinomycète 04</i>	Guelma (2015)	Sol
09	<i>Actinomycète 05</i>	Guelma (2015)	Sol
10	<i>Actinomycète 06</i>	Guelma (2016)	Sol

11	<i>Actinomycète</i> 07	Guelma (2016)	Sol
12	<i>Actinomycète</i> 08	Guelma (2016)	Sol
13	<i>Actinomycète</i> 09	Guelma (2016)	Sol
14	<i>Erwinia carotovora</i> 01	Mascara (2016)	Sol
15	<i>Erwinia carotovora</i> 02	Mascara (2016)	Sol
16	<i>Erwinia carotovora</i> 03	Mascara (2016)	Pomme de terre
17	<i>Erwinia carotovora</i> 04	Mascara (2016)	Pomme de terre



**Figure 13 :** Technique de confrontation de l'agent pathogène *Z. tritici* et l'agent antagoniste par contact direct sur milieu PDA

### 3.4. Lecture des boîtes et notation des résultats

La lecture des boîtes a été réalisée sur une période de 05 jours, et deux paramètres sont pris en considération :

- ✓ Présence ou absence d'une zone d'inhibition (l'halo)
- ✓ Diamètre de l'halo, ou la zone d'inhibition dans les zones d'interaction des deux microorganismes. Des courbes montrant l'évolution du diamètre de la zone d'inhibition (l'halo) ont été représentées pour une période de suivi de 05 jours.

## *Chapitre 04*

### *Résultats Et Discussion*

## Chapitre 04 : Résultats et discussion

### 4.1. Caractérisation du champignon agent causal de la septoriose des feuilles chez le blé (*Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola*)

Après isolement du pathogène, et la mise des boîtes en incubation quatre à six jours à 24 °C, des colonies de couleur blanchâtre à rosâtre, se développent sur le milieu PDA (Fig. 14).



**Figure 14** : Micro-colonies de *Zymoseptoria tritici*, après 06 jours d'incubation à 24° C, observées sous loupe binoculaire (x5)  
(Photo personnelle)

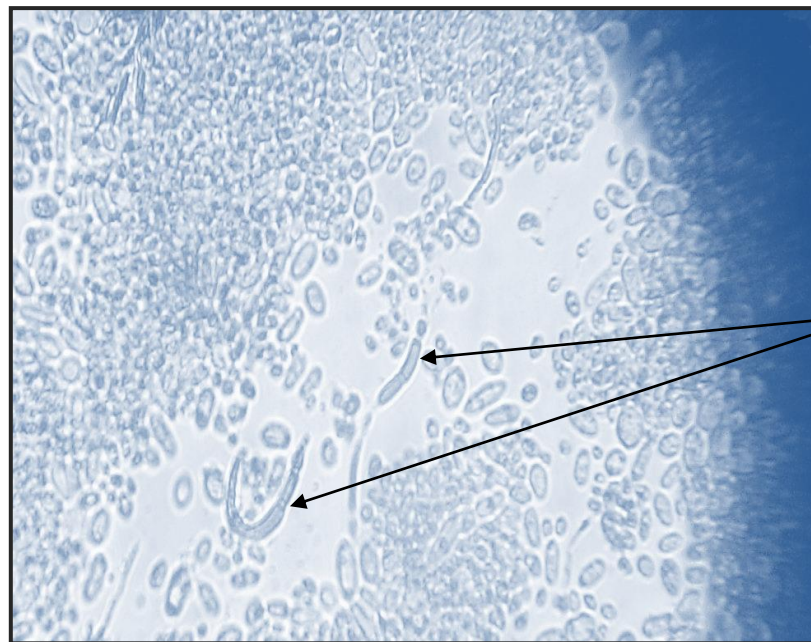
Après repiquage d'une seule colonie sur milieu PDA neuf et incubation pendant une période de 4 à 6 jours à 24° C, une masse fongique à croissance de type levurien (Yeast like growth), de couleur rosâtre ou blanchâtre, caractéristique de *Zymoseptoria tritici* se développe à la surface des boîtes de Pétri (Fig. 15).

Des préparations microscopiques réalisées à partir des isolats cultivés de *Z. tritici*, ont permis de confirmer les caractéristiques de l'espèce de cet agent pathogène (Fig. 16). Selon Zillinsky (1983), les conidies de *Zymoseptoria tritici* (Ex. *Septoria tritici*), agent de la tache septorienne des feuilles du blé, se présentent sous forme de filaments hyalins, filiformes, généralement courbés, aux extrémités arrondies, munis de trois à sept parois peu distinctes et mesurent 40-80  $\mu\text{m}$  x 1.7-3.0  $\mu\text{m}$ . Quelques fois des petites spores (microspores) sont produites.





**Figure 15 :** Aspect macroscopique de *Zymoseptoria tritici* cultivé sur milieu PDA, après 06 jours d'incubation à 24° C, observé sous la loupe binoculaire (x 5)  
(Photo personnelle)



Conidies de  
*Z. tritici*

**Figure 16 :** Conidies de *Zymoseptoria tritici* observées au microscope optique (x 40)  
(Photo personnelle).

## 4.2. Résultats de confrontation *Z. tritici* x Agents « antagonistes » testés

### 4.2.1. *Z. tritici* x *Bacillus*

Les résultats obtenus pour les tests de confrontation entre *Z. tritici* et les différentes souches du genre *Bacillus*, ont montré que l'effet de la souche testée sur la croissance du pathogène diffère, en fonction de la souche testée. Seules les souches *Bacillus gilna* et *Bacillus sp. 01*, ont montré un effet inhibiteur à l'égard de *Zymoseptoria tritici*, un halo se forme au alentour de la pastille gélosée portant la souche à tester, indiquant une inhibition de la croissance du pathogène au voisinage de la souche antagoniste (Tab. 04).

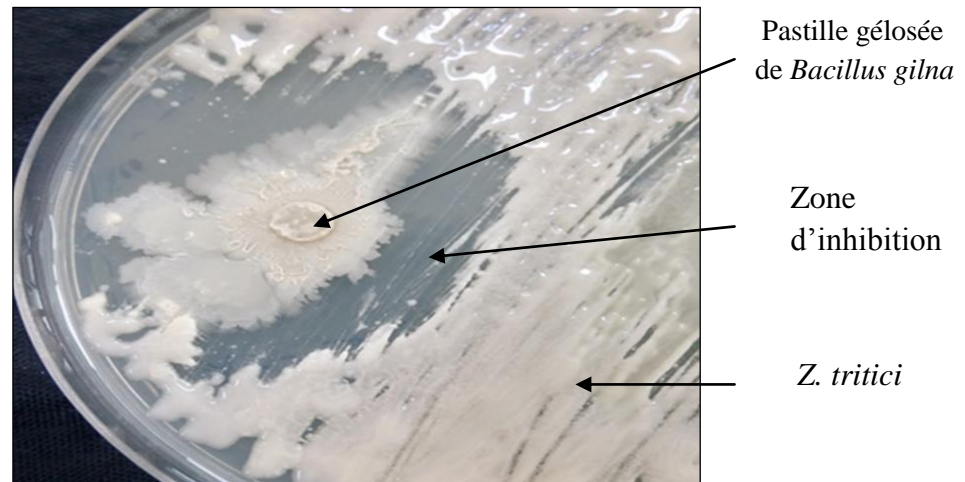
**Tableau 04** : Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches du genre *Bacillus sp.* testées dans cette étude

N°	Souche antagoniste testée	Diamètre de la zone d'inhibition (Cm)				
		01j	02j	03j	04j	05j
01	<i>Bacillus gilna</i>	4.1	5.0	5.0	5.0	5.0
02	<i>Bacillus sp. 01</i>	2.4	2.4	3.35	4.7	4.7
03	<i>Bacillus sp. 02</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
04	<i>Bacillus sp. 03</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

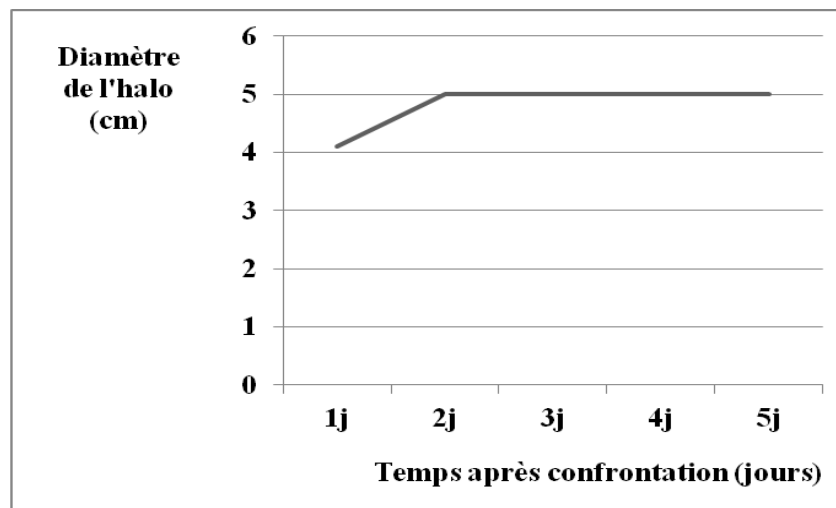
#### ➤ *Z. tritici* x *Bacillus gilna*

Les résultats obtenus pour cette souche, montrent qu'elle possède un effet inhibiteur à l'égard de *Z. tritici*. La zone d'inhibition est très franche, et son diamètre a atteint une grandeur de 05 Cm après 48 h (02 jours) de confrontation (Fig. 17).

La notation quotidienne du diamètre de la zone d'inhibition, pendant 05 jours, a révélé que la grandeur de ce dernier se stabilise après les 48 h de confrontation (5 Cm pour le 3<sup>ème</sup> jour, le 4<sup>ème</sup> et le 5<sup>ème</sup> jour de confrontation). Ceci est bien illustré dans la figure 18.



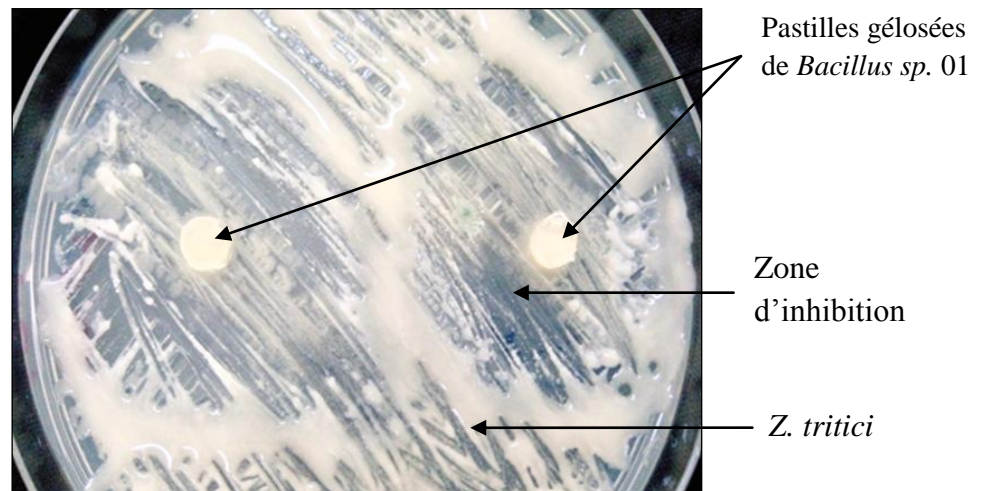
**Figure 17 :** Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Bacillus gilna* après 06 jours d'incubation à 24 °C (Photo personnelle)



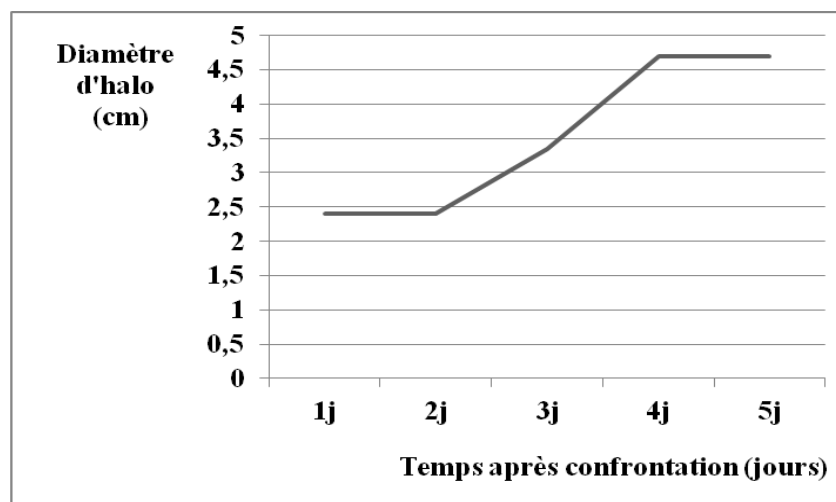
**Figure 18 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Bacillus gilna*

➤ *Z. tritici* x *Bacillus sp. 01*

La souche *Bacillus sp. 01*, a également enregistré un effet antagoniste important à l'égard de *Z. tritici*, un halo net est observé après 24 h (Fig. 19), ayant un diamètre moyen de 2,4 Cm. L'évolution de la grandeur du diamètre de la zone d'inhibition (exprimée par la formation de l'halo), suit une allure exponentielle, et atteint une valeur de 4.7 Cm après 05 jours de confrontation (Fig. 20).



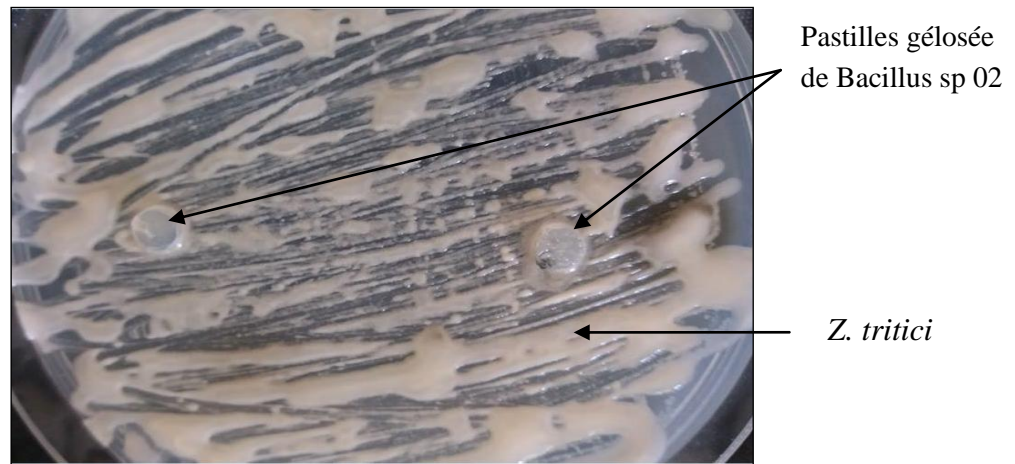
**Figure 19** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Bacillus sp. 01* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)



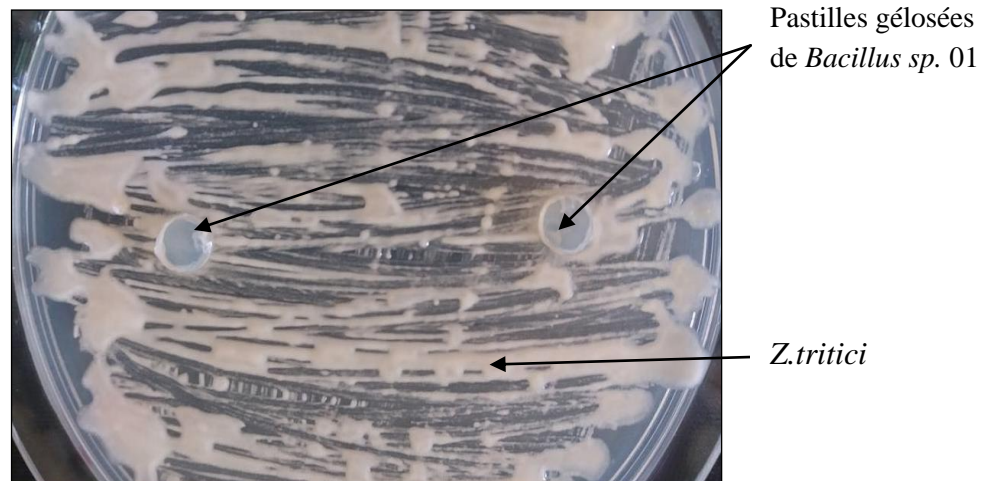
**Figure 20** : Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Bacillus sp. 01*.

➤ ***Z. tritici* x *Bacillus sp. 02* et *Bacillus sp. 03***

Les résultats relatifs aux tests de confrontation de *Z. tritici* avec ces deux souches de *Bacillus* ont montré que la croissance du pathogène n'a pas été affectée par la présence de ces souches bactériennes (Figs. 21 et 22).



**Figure 21** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Bacillus sp. 02* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)



**Figure 22** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Bacillus sp. 03* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)

Bezert *et al.* (1996) rapporte que les bactéries secrètent des métabolites qui peuvent agir sur les champignons phytopathogènes, et la production de ces métabolites secondaires s'effectue durant la phase stationnaire de la bactérie. Plusieurs souches de *Bacillus* peuvent produire des métabolites antifongiques tels que la subtiline, la bacitracine, la bacilline et la bacillomycine qui appartiennent à la famille des iturines. Les bactéries du genre *Bacillus* ont une grande capacité à sporuler et à produire des antibiotiques. L'inhibition de la croissance du pathogène par les souches antagonistes, ne peut être due à une substance constitutive ; et l'absence de l'effet



inhibiteur chez certaines souches peut être attribué à un manque de synthèse ou à une rémanence trop faible de la substance, pour être mise en évidence dans ces essais.

Certaines bactéries du genre *Bacillus*, se sont montrées très efficaces pour la lutte contre les agents phytopathogènes, parmi lesquelles, l'espèce *Bacillus thuringiensis* et l'espèce *Bacillus subtilis* possèdent un pouvoir inhibiteur très important à l'égard de beaucoup de champignons phytopathogènes. Cet effet peut se produire de façon directe, par production de métabolites toxiques pour les pathogènes ou encore de façon indirecte, en exerçant une compétition spatiale et trophique contre les agents pathogènes existants dans le milieu [6].

#### 4.2.2. *Z. tritici* x Actinomycètes

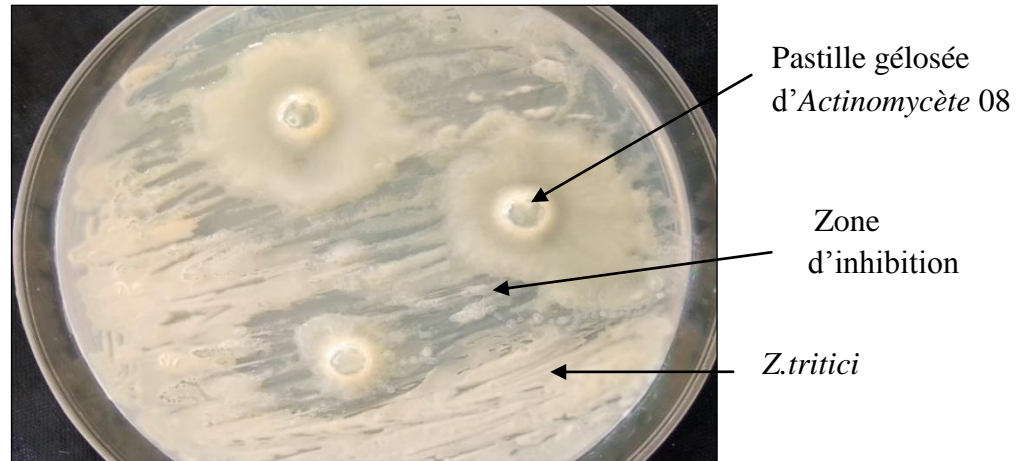
Le tableau 05 affiche les résultats relatifs aux tests de confrontation directe de 09 souches d'Actinomycètes au pathogène *Z. tritici* sur milieu de culture PDA.

**Tableau 05** : Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches d'Actinomycètes testées dans cette étude

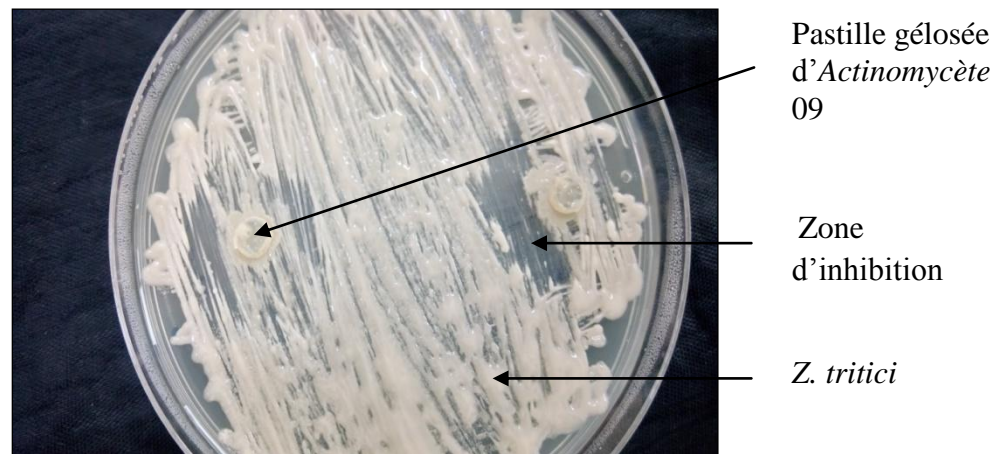
N°	Souche antagoniste testée	Diamètre de la zone d'inhibition (Cm)				
		01j	02j	03j	04j	05j
05	<i>Actinomycète 01</i>	3.5	3.5	3.5	2.2	2.2
06	<i>Actinomycète 02</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
07	<i>Actinomycète 03</i>	2.65	2.7	2.7	2.8	2.66
08	<i>Actinomycète 04</i>	2.0	2.7	2.7	2.6	2.6
09	<i>Actinomycète 05</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	<i>Actinomycète 06</i>	2.4	1.1	0.9	0.9	0.9
11	<i>Actinomycète 07</i>	0.0	1.5	1.5	2.3	2.3
12	<i>Actinomycète 08</i>	1.4	2.1	2.8	3.6	3.66
13	<i>Actinomycète 09</i>	1.9	2.0	2.0	3.6	3.6

L'examen des résultats portés par le tableau 05, a permis de classer les souches d'Actinomycètes testées, en fonction de leur effet inhibiteur de la croissance du pathogène en quatre groupes distincts :

➤ **Groupe 01 : Souches ayant un pouvoir inhibiteur important :** pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 03 Cm après le cinquième jour de confrontation, et il comporte les souches : *Act.* 08 et *Act.* 09. (Figs. 23 et 24).

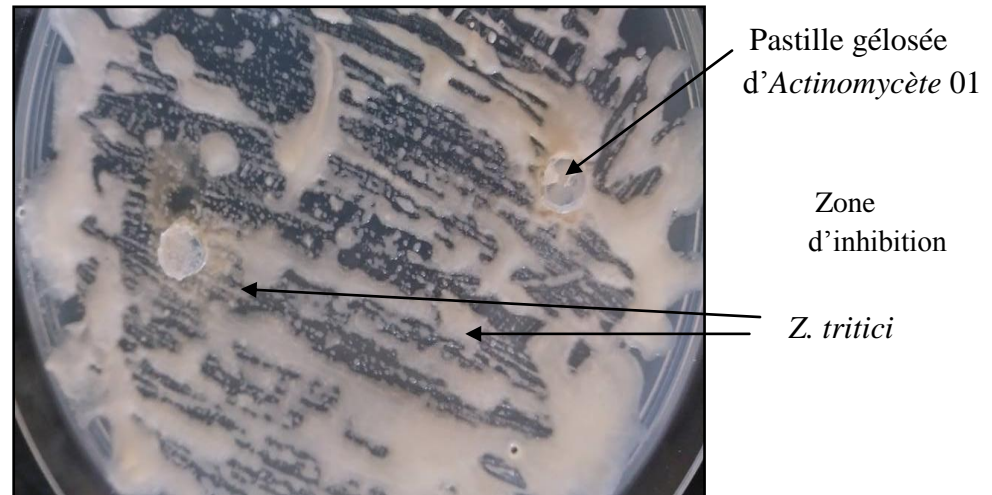


**Figure 23 :** Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète* 08 après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).

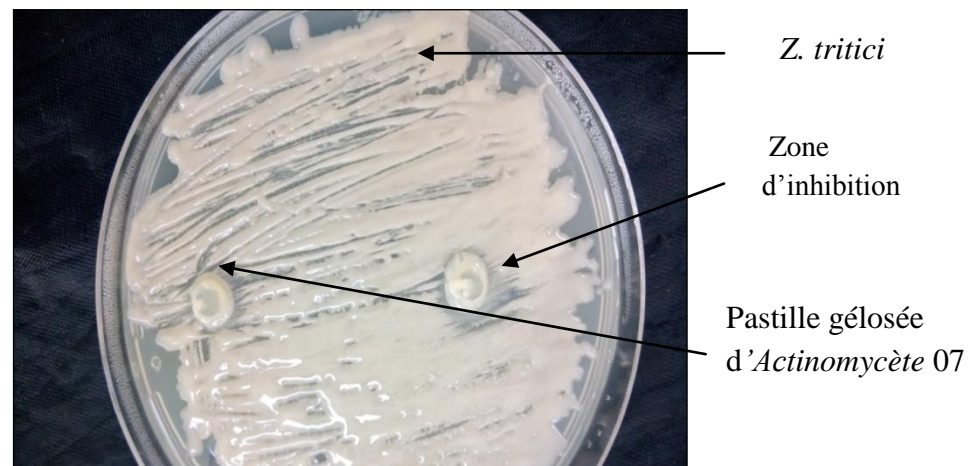


**Figure 24 :** Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète* 09 après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).

➤ **Groupe 02 : Souches ayant un pouvoir inhibiteur modéré :** pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 01 et 03 Cm après le cinquième jour de confrontation, et il comporte les souches : *Act.* 01, *Act.* 03, *Act.* 04 et *Act.* 07 (Figs. 25 et 26).



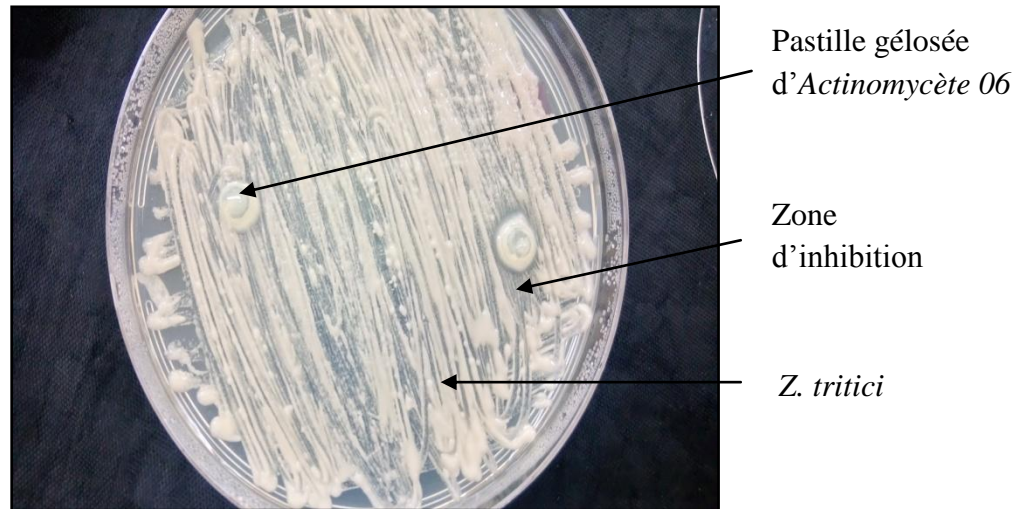
**Figure 25** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète 01* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).



**Figure 26** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète 07* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).

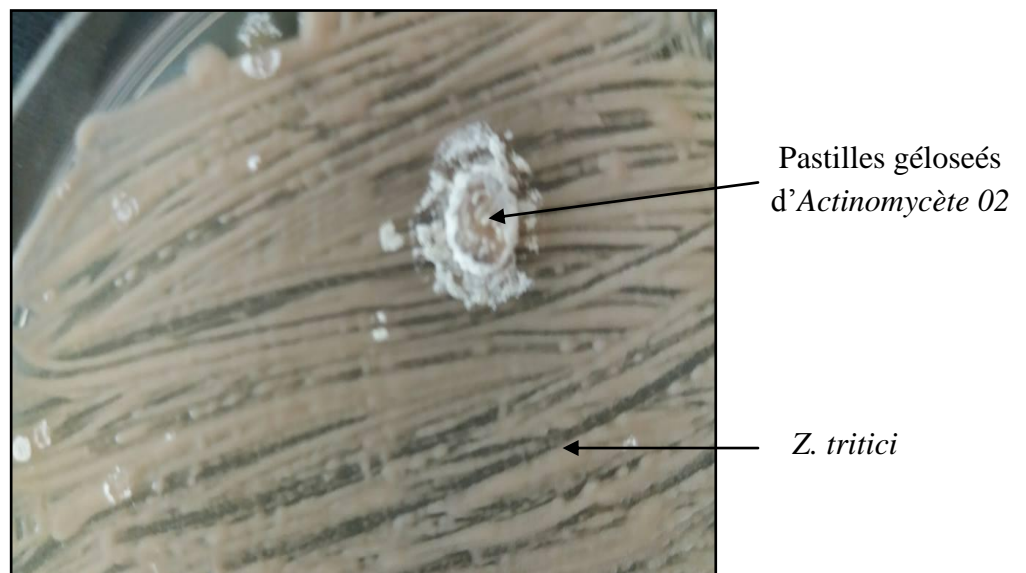
➤ **Groupe 03 : Souches ayant un pouvoir inhibiteur faible**, pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 01 Cm après le cinquième jour de confrontation, il comprend la souche *Act. 06* qui a enregistré un diamètre moyen de 0.9 Cm au cinquième jour (Fig. 27).



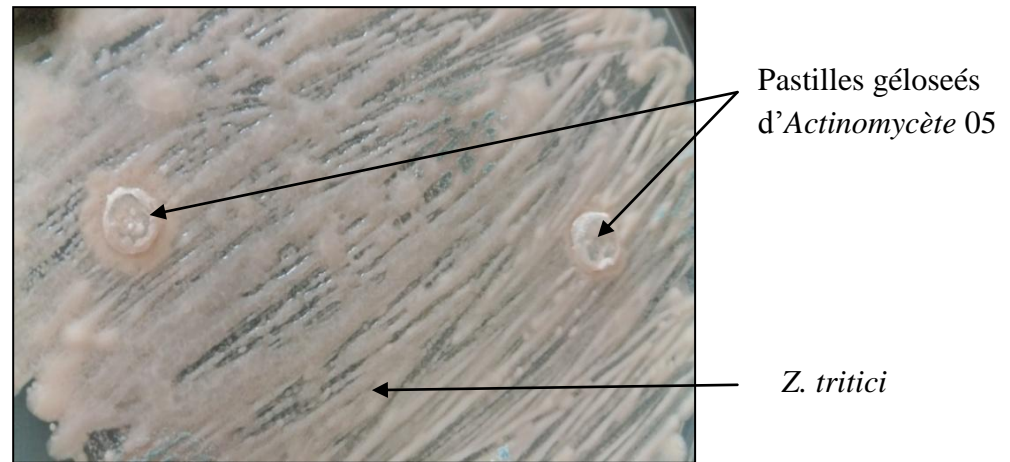


**Figure 27** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète 06* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).

➤ **Groupe 04 : Souches dépourvues du pouvoir inhibiteur**, pour lesquelles la croissance du pathogène n'a pas été affectée par la présence des souches testées, il comporte les souches *Act. 02* et *Act. 05* (Fig. 28 et 29).



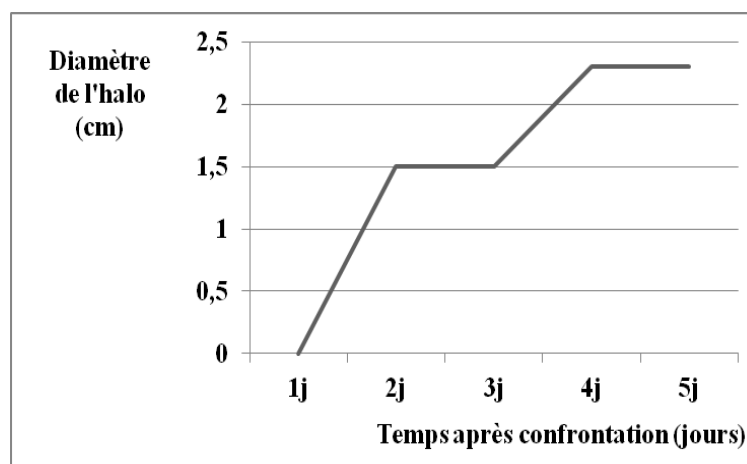
**Figure 28** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète 02* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).



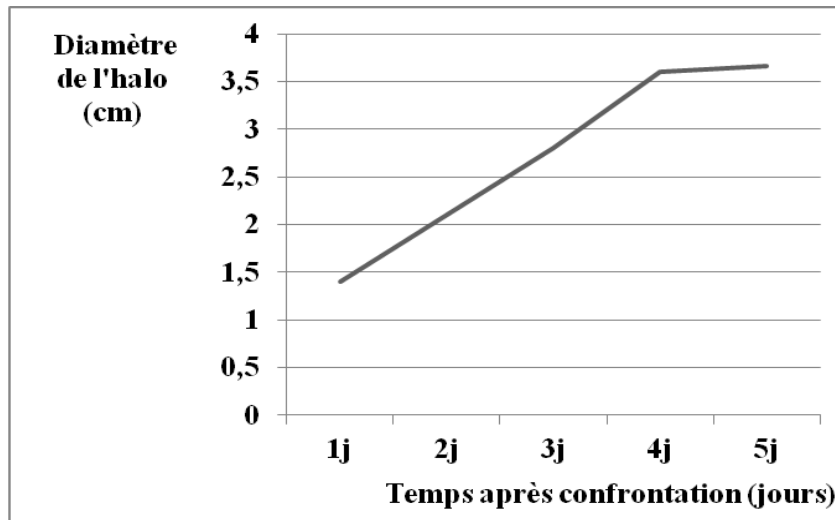
**Figure 29 :** Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Actinomycète 05* après 06 jours d'incubation (Photo personnelle).

Les données relatives à l'évolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches d'actinomycètes testées, révèlent que la zone d'inhibition a augmenté avec le temps de confrontation chez certaines souches, tandis qu'elle a diminué chez d'autres :

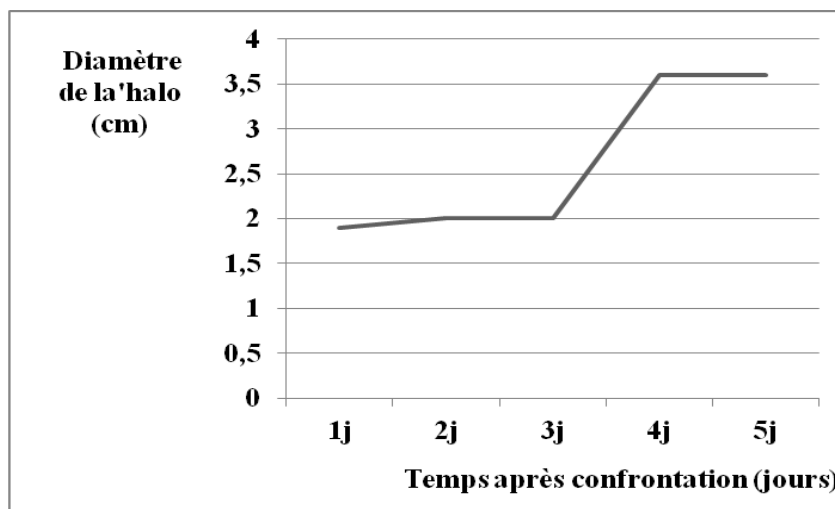
- Pour les souches *Act 07*, *Act 08* et *Act. 09*, le diamètre de la zone d'inhibition a augmenté avec le temps de confrontation, puis il s'est stabilisé. La vitesse d'évolution était plus ou moins importante pour la souche *Act. 07*, pour laquelle le diamètre de l'halo a passé de 0.0 Cm, après 24 h de confrontation, à 2.3 Cm après 04 jours de confrontation, puis il s'est stabilisé (Figs. 30 -32).



**Figure 30 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomycète 07*

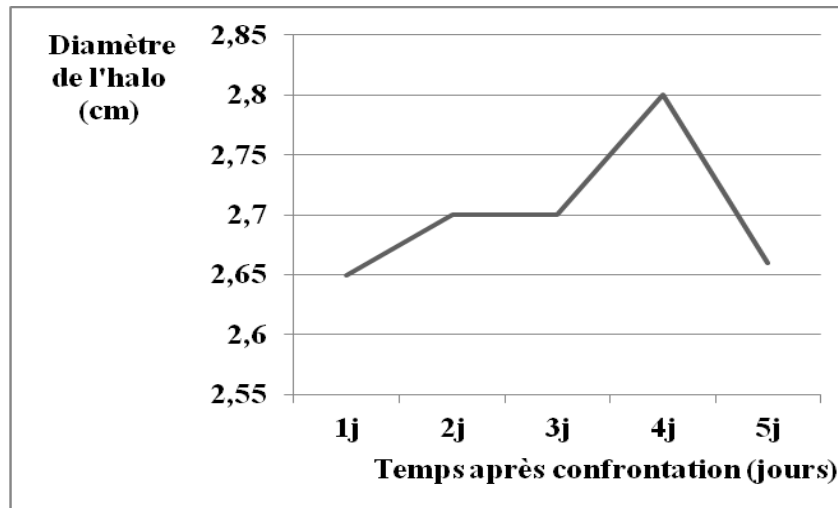


**Figure 31 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomyète 08*

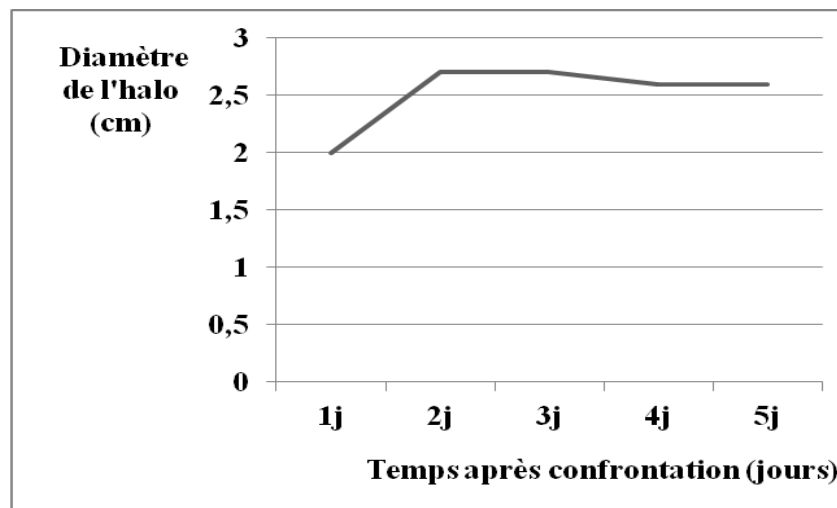


**Figure 32 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomyète 09*.

- Pour les souches *Act. 03* et *Act. 04*, des fluctuations ont été notées dans les grandeurs des diamètres des zones d'inhibition, d'une manière globale, une augmentation a été enregistrée pendant les 03 premiers jours de confrontation, suivie d'une diminution après 05 jours de confrontation (Figs. 33 et 34).

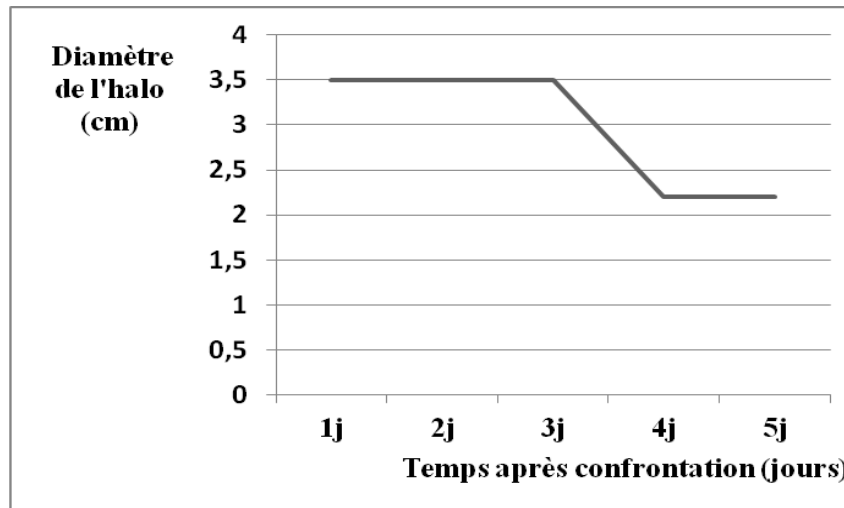


**Figure 33 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomycète* 03.



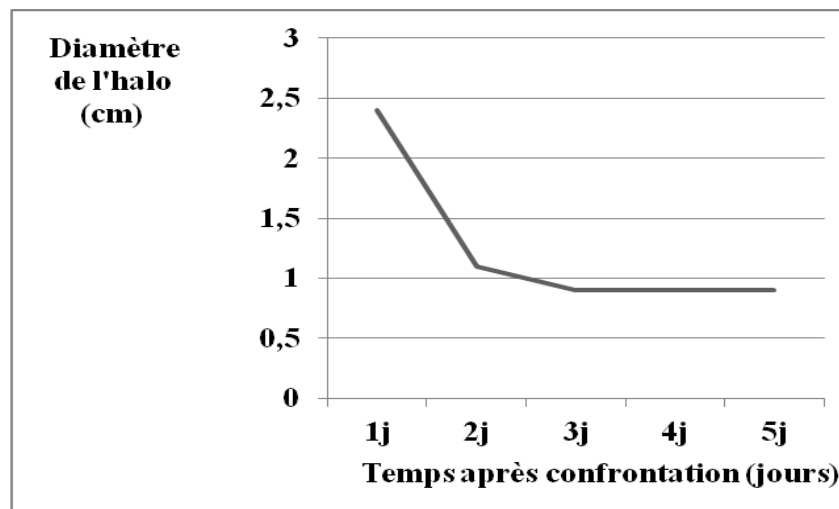
**Figure 34 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomycète* 04.

- Pour la souche *Act.* 01, une zone d'inhibition franche est observée après 24 h de confrontation, avec un diamètre important (3.5 Cm), pendant les 03 premiers jours de confrontation, puis la grandeur du diamètre a diminué après, pour atteindre une moyenne de 2.2 Cm après le quatrième jour de confrontation (Fig. 35).



**Figure 35 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomycète* 01.

- Pour la souche *Act.* 06, la diminution du diamètre de la zone d'inhibition était très rapide et très importante, à partir du deuxième jour de confrontation (Fig. 36), et une grandeur très faible du diamètre a été notée après 03 jours de confrontation (0.9 Cm).



**Figure 36 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Actinomycète* 06.

Ces variations enregistrées dans les grandeurs de la zone d'inhibition est probablement liée à la variabilité des mécanismes qui s'opèrent lors de l'interaction des deux microorganismes (pathogène et antagoniste), ce qui laisse supposer que l'efficacité de certains, des métabolites

secrétés par certains agents de lutte biologiques, et impliqués dans l'inhibition de la croissance des pathogènes, varie en fonction du temps écoulé après la confrontation.

Anatoun *et al.* (1978), rapportent que, les réactions d'antagonisme qu'exercent les actinomycètes sur les champignons peuvent provenir de la production directe d'antibiotiques ou d'enzymes de dégradation, ou encore, de la production de substances volatiles inhibant la croissance des champignons. Ces réactions ne peuvent pas être attribuées à la compétition nutritive, car les actinomycètes ont généralement un très faible pouvoir compétitif.

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 de blé *Z. tritici* (Seddiki et Messaoudia, 2016).

#### 4.2.3. *Z. tritici* x *Erwinia carotovora*

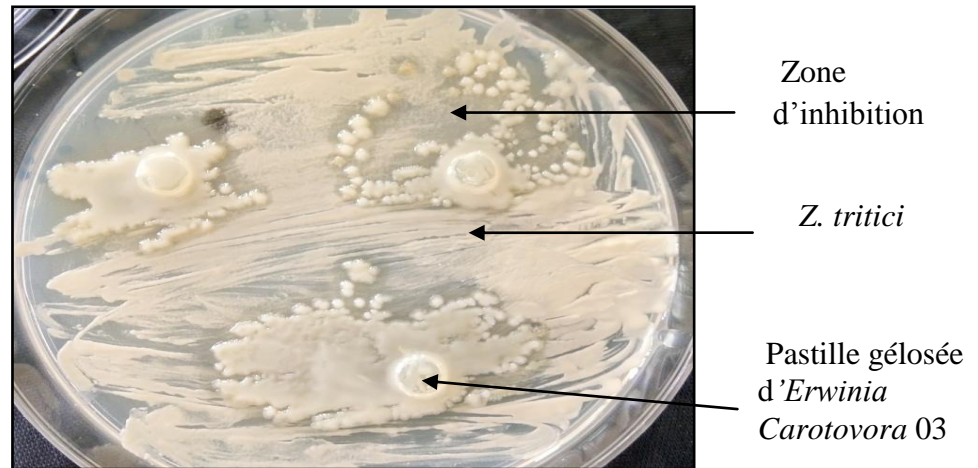
L'analyse des résultats obtenus pour les tests de confrontation *Z. tritici* et les souches testées d'*Erwinia carotovora* (*E. c.* 01- *E.c.* 04), a conduit à classer les souches testées en trois groupes (Tab. 6) :

**Tableau 06** : Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps de confrontation pour les souches d'*Erwinia carotovora* testées dans cette étude

N°	Souche antagoniste testée	Diamètre de la zone d'inhibition (Cm)				
		01j	02j	03j	04j	05j
14	<i>Erwinia carotovora</i> 01	2.15	1.6	1.6	1.03	1.03
15	<i>Erwinia carotovora</i> 02	3.0	2.45	1.5	1.5	1.45
16	<i>Erwinia carotovora</i> 03	0.0	1.25	1.25	3.7	3.7
17	<i>Erwinia carotovora</i> 04	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

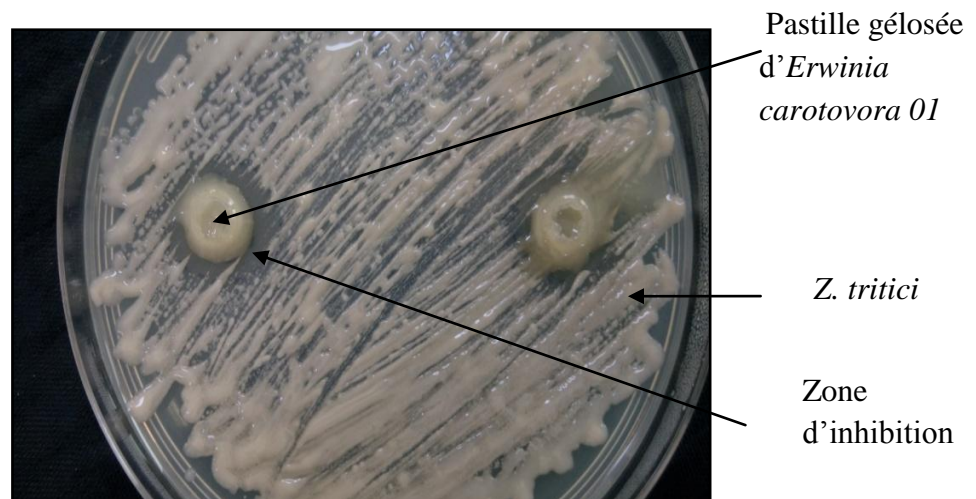
- **Groupe 01 : Souches ayant un pouvoir inhibiteur important**, c'est le cas de la souche *Erwinia carotovora* 03, pour laquelle le diamètre de la zone d'inhibition était plus ou moins important, et a enregistré une grandeur de 3.7 Cm après 05 jours de confrontation (Fig. 37).



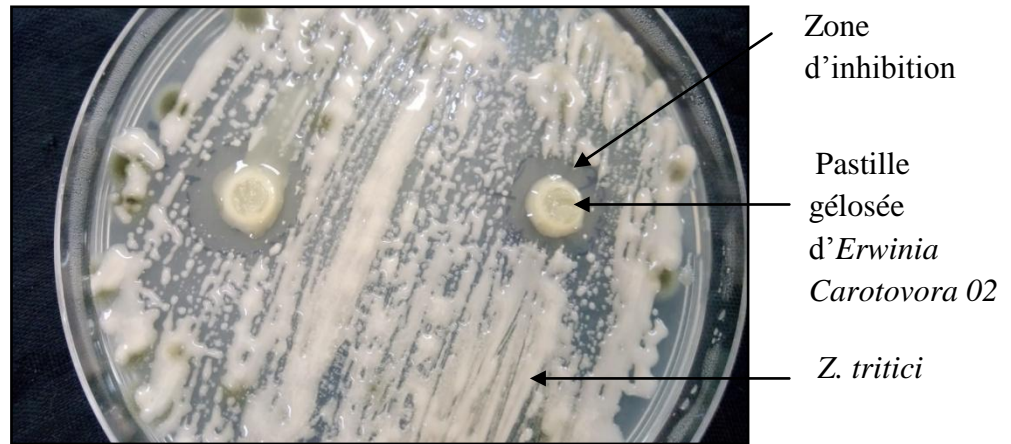


**Figure 37 :** Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Erwinia carotovora* 03 après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)

- **Groupe 02 : Souches ayant un pouvoir inhibiteur faible**, c'est le cas des souches *Erwinia carotovora* 01 et *Erwinia carotovora* 02, pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est faible (Figs. 38 et 39).

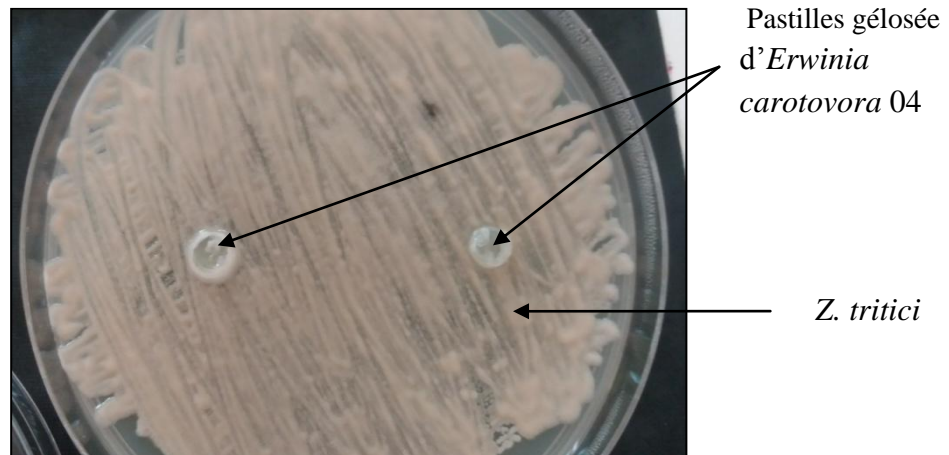


**Figure 38 :** Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Erwinia carotovora* 01 après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)



**Figure 39** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Erwinia carotovora* 02 après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)

- **Groupe 03 : Souches n'ayant montré aucun pouvoir inhibiteur**, c'est le cas de la souche *Erwinia carotovora* 04, pour laquelle, aucune inhibition de la croissance du pathogène, ne s'est produite après confrontation (Fig. 40).

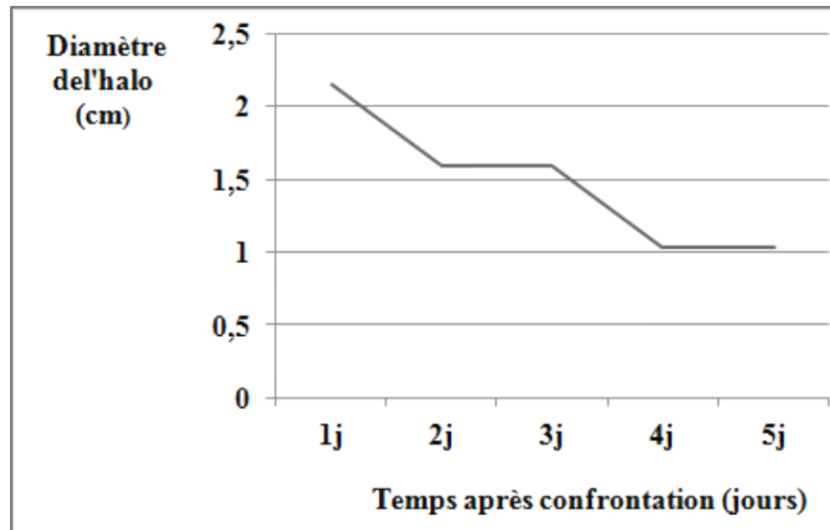


**Figure 40** : Résultat du test de confrontation directe de *Z. tritici* x *Erwinia carotovora* 04 après 06 jours d'incubation (Photo personnelle)

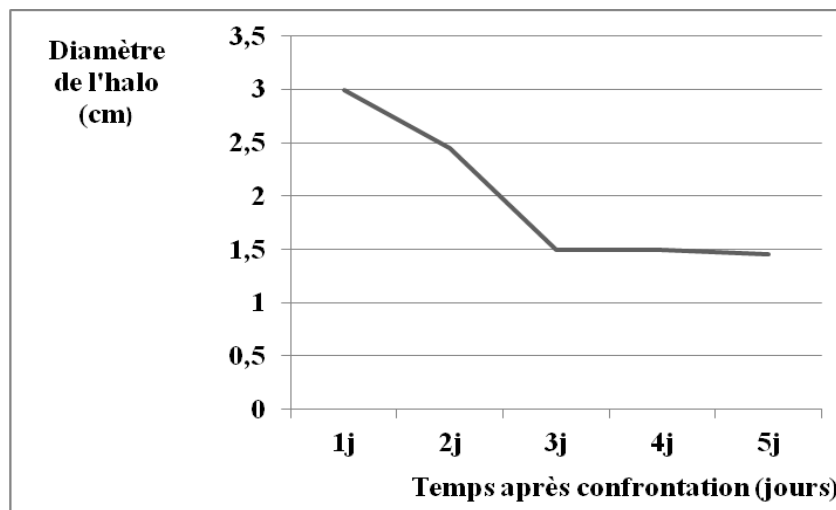
L'examen des grandeurs enregistrées pour le diamètre de la zone d'inhibition pour les souches ayant montré un effet positif (*E.c.* 01, *E.c.* 02 et *E.c.* 03), révèle que pour les deux premières souches *E. c.* 01 et *E.c.* 02, la zone d'inhibition a diminué en fonction du temps de confrontation, et ce à partir du 2<sup>ème</sup> jour, alors que pour la souche *E.c.* 03, une croissance exponentielle de la zone d'inhibition a été notée (Figs. 41- 43). Ce qui laisse supposer que les



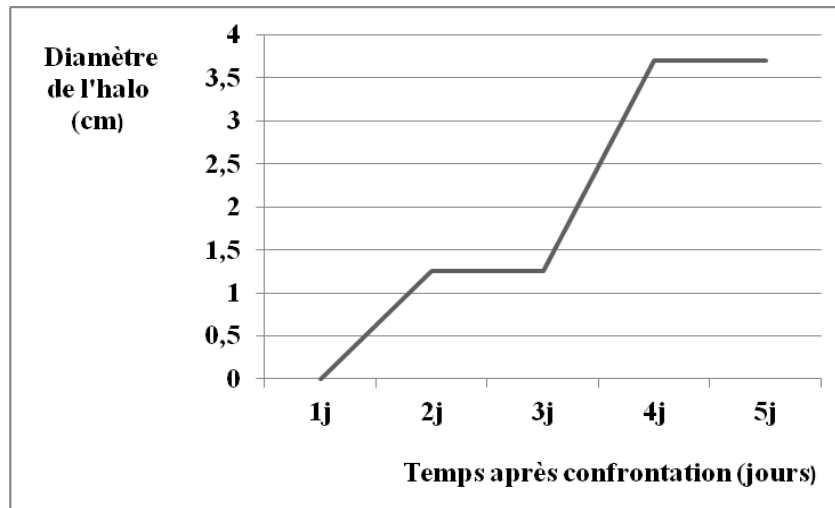
mécanismes impliqués dans l'interaction entre le pathogène et l'antagoniste ne sont pas les mêmes pour toutes les souches.



**Figure 41 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Erwinia carotovora* 01



**Figure 42 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Erwinia carotovora* 02



**Figure 43 :** Evolution du diamètre de la zone d'inhibition en fonction du temps écoulé après confrontation entre *Zymoseptoria tritici* et la souche *Erwinia carotovora* 03.

L'activité antifongique de la souche *Erwinia carotovora* 03 sur la croissance *Z. tritici* est très remarquable, il est intéressant de noter que ces résultats sont à révéfier, en vue d'une confirmation de l'effet antagoniste de cette souche à l'égard de ce pathogène.

Des résultats similaires ont été obtenus par Seddiki et Mesaoudia en 2016 en testant des souches d'*Erwinia carotovora* sur ce même pathogène.

# *Conclusion*

---

## Conclusion

La tache septorienne des feuilles du blé causée par le champignon ascomycète *Zymoseptoria tritici*/*Mycosphaerella graminicola* est une maladie qui peut engendrer des pertes considérables dépassant 60%, lorsque les conditions sont favorables. Les modalités de lutte utilisées contre cette maladie sont plus particulièrement de type chimique, 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. De ce fait, le développement d'une conscience collective doit être envisagé. L'utilisation des auxiliaires est beaucoup plus écologique, plus sécuritaire et plus spécifique.

Cette étude vient contribuer à la recherche de méthodes de lutte performantes et sans aucun risque écologique, contre la tache septorienne du blé, et ce par le biais d'un essai de lutte biologique, en effectuant des tests de confrontation 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 17 souches : 04 souches du genre *Bacillus*, 09 souches d'*Actinomycètes* et 04 souches d'*Erwinia carotovora*.

Les résultats obtenus montrent 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 et du temps écoulé. Cependant, de très bons résultats ont été obtenus pour certaines souches.

✓ Pour les *Bacillus*, deux souches *Bacillus gilna* et *Bacillus sp 01* ont donné des résultats très satisfaisants, pour les quelles nous avons noté une inhibition de la croissance du pathogène *Z. tritici* au voisinage de l'antagoniste. Cependant, la notation quotidienne du diamètre de la zone d'inhibition exercée par la souche *Bacillus gilna* pendant 05 jours, a révélé que la grandeur de ce dernier se stabilise après les 48 h de confrontation, alors que pour la souche *Bacillus sp 01* l'évolution de la grandeur du diamètre de l'halo (la zone d'inhibition), suit une allure exponentielle, et atteint une valeur de 4.7 Cm après 05 jours de confrontation. cependant, les résultats obtenus pour les autres souches *Bacillus sp.* ont montré que la croissance du pathogène n'a pas été affectée par la présence de ces souches bactériennes

✓ Les résultats enregistrés pour la confrontation entre *Z. tritici* et les 09 souches d'*Actinomycètes* testées ont montré que 7 /9 souches testées ont enregistré un effet positif, mais qui varie en intensité d'action selon la souche, ce qui a permis de les classer en 04 groupes :

- Souches ayant un pouvoir inhibiteur important : *Act.* 08 et *Act.* 09.
- Souches ayant un pouvoir inhibiteur modéré : *Act.* 01 *Act.* 03 *Act.* 04 et *Act.* 07.
- Souches ayant un pouvoir inhibiteur faible : *Act.* 06.
- Souches dépourvues du pouvoir inhibiteur : *Act.*02 et *Act.* 05

✓ Parmi les 04 souches d'*Erwinia carotovora* testées un pouvoir inhibiteur important a été noté pour la souche *E.c.* 03, faible pour l'*E.c.* 01 et *E.c.* 02, tandis qu'aucun effet d'antagonisme n'a été observé pour la souche *E.c.*04.

Nous pouvons conclure de ces résultats que certaines des souches testées peuvent avoir probablement un rôle important dans le contrôle biologique de *Z. tritici*, plus particulièrement la souche *Bacillus gilna* et *Bacillus sp* 01 pour le genre *Bacillus*, les souches *Act* 08 et *Act* 09 des *Actinomycètes* et la souche *E.c.* 03 des *Erwinia carotovora*.

Cependant, il convient de signaler que ce travail consiste en un essai préliminaire qui vise à identifier l'effet d'antagonisme pouvant avoir lieu entre *Z. tritici* et des bactéries phytopathogènes ou non phytopathogènes, dans un but, à long terme visant à identifier et extraire les métabolites secondaires bactériens, impliquées dans l'inhibition de la croissance du pathogène, pour une éventuelle synthèse et incorporation dans la préparation de biopesticides.

Au terme de cette étude, on peut dire que malgré tous leurs inconvénients, les pesticides sont bien ancrés dans notre culture agricole et seront difficiles à déraciner. Il est donc nécessaire de développer la lutte biologique et d'encourager son utilisation. Des essais complémentaires doivent être envisagés par d'autres microorganismes, pour *Z. tritici* ou autres agents phytopathogènes, en vue de préserver nos cultures, la santé publique et l'environnement.

# *Résumés*

**Résumé :**

La tache septorienne des feuilles du blé, causée par le champignon *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola* est une maladie largement répandue en Algérie et dans le monde entier ; en cas d'absence de lutte efficace et lorsque les conditions sont favorables, elle est capable de causer de graves pertes de rendement. La lutte contre cette maladie est basée sur l'utilisation des fongicides, cependant, en plus des effets non intentionnels des pesticides sur l'homme et l'environnement, peu de molécules sont efficaces contre ce pathogène très polymorphe, capable de détourner les contraintes du milieu et de développer des résistances à l'hôte et aux fongicides.

Cette étude est une contribution à la recherche d'agents de lutte biologiques pouvant avoir un rôle efficace contre *Z. tritici*. Elle a porté sur 17 souches bactériennes, dont la plupart étaient isolées de sols rhizosphériques de cultures de blé et d'orge : 04 souches du genre *Bacillus sp.*, 09 souches d'*Actinomycètes* et 04 souches du genre *Erwinia*.

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence un effet d'antagonisme plus ou moins modéré, à l'égard du pathogène pour 02 souches de *Bacillus sp.*, 07 souches d'*Actinomycètes* et 03 souches d'*Erwinia carotovora*.

**Mots clés :** blé, *Zymoseptoria tritici*, lutte biologique, bactéries.

**Summary:**

Septoria leaf blight of wheat, caused by the fungus *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola* is a disease that is widespread in Algeria and around the world. In the absence of effective control and when conditions are favorable, it is capable of causing severe yield loss. Control against this disease is based on the use of fungicides, however, along with the unintentional effects of pesticides on humans and environment, few molecules are effective against the pathogen very polymorphic, able to divert the environmental constraints and develop resistance to the resistant host and fungicides.

This study is a contribution looking for biological control agents that may have an effective role against *Z. tritici*. She focused on 17 bacterial strains, which most of them were isolated of near roots in soils cultivated by wheat and barley: 04 strains of the genus *Bacillus* sp., 09 strains of *Actinomyces* and 04 strains of the genus *Erwinia*.

The results obtained allowed to highlight a moderate antagonism effect against the pathogen for 02 strains of *Bacillus* sp., 07 strains of *Actinomyces* and 03 strains of *Erwinia*.

**Key words:** wheat, *Zymoseptoria tritici*, biological control, bacteria.



## الملخص

تبع أوراق القمح الناتج عن الفطر *Zymoseptoria tritici* / *Mycosphaerella graminicola* هو مرض واسع الانتشار في الجزائر وفي جميع أنحاء العالم، في غياب الوقاية الفعالة وتوفر الظروف الملائمة، بإمكانه أن يتسبب في خسائر فادحة. تعتمد مكافحة هذا المرض بالخصوص على استخدام مبيدات الفطريات، إلا أنه بالإضافة إلى آثارها الجانبية على الإنسان والبيئة، فإن القليل من هذه المركبات سجل فعالية مرضية لمكافحة هذا العامل الممرض الذي يتميز بتنوع جيني معتبر يمكنه من التكيف مع الوسط وتطوير مقاومة ضد العائل والمبيدات.

تعد هذه الدراسة مساهمة في البحث عن عوامل المكافحة البيولوجية التي يمكن أن يكون لها دور فعال ضد *Z. tritici* وشملت 17 سلالة بكتيرية، وتم عزل معظمها من التربة من مزارع القمح والشعير : 04 سلالات *Bacillus sp.*، 09 سلالات *Actinomycètes* و 04 سلالات *Erwinia*.

بينت النتائج المتحصل عليها وجود تأثير عدائي معتبر نوعا ما، باتجاه العامل الممرض وذلك بالنسبة لسلالتين *Bacillus sp.*، 07 سلالات *Actinomycète* و 03 سلالات *Erwinia carotovora*.

الكلمات المفتاحية : القمح، *Zymoseptoria tritici*، المكافحة البيولوجية، البكتيريا.

*Références*  
*Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- **Ait Barka E., Compant S., Jacquard C., Sanchez L., Bordiec S., Dorey S., Baillieul F. et Clément Ch., 2013.** Une bactérie contre *Botrytis* chez la vigne, *Burkholderia phytofirmans* souche *PsJN* donne des résultats prometteurs et devient ainsi un espoir sérieux contre la pourriture grise, *Phytoma*. N° 662 : 18-22.
- **Allaire M., 2005.** Diversité fonctionnelle des pseudomonas producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. Mémoire pour l'obtention du grade de Maitre ès Science, Université Laval, Québec : 80p.
- **Allioui 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.
- **Antoun H., Bordeleau L. M., Gagnon C., et Lachance R. A., 1978.** Actinomycètes antagonistes de champignons et n'affectant pas le *Rhizobium meliloti*. *Microbiol.* 24 : 558-562.
- **Ayad D., 2012.** Etude de la diversité phénotypique et pathologique de *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. et obtention du téléomorphe en Algérie. Thèse de Magister en sciences agronomiques, Option : biodiversité et biotechnologie végétales. Ecole nationale supérieure agronomique d'El Harrach, Alger : 91p.
- **Bancal M.O., Robert C. & Ney B. 2007.** Accounting for wheat crop growth and yield losses by accelerated green leaf layer losses due to late leaf rust and blotch epidemics. *Annals of Botany*. 100 : 777-789.
- **Bancal M.O, Roche R. & Bancal P. 2008.** Late foliar diseases in wheat crops decrease nitrogen yield through N uptake rather than through variations in N remobilization. *Annals of Botany*. 102(4) : 579-590.
- **Ben Slimane R., 2010.** Effets de la septoriose foliaire sur la sénescence et les flux d'azote pendant le remplissage des grains chez le blé tendre. Thèse de Doctorat, option :

agronomie, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech), Paris : 187p.

- **Béredy J., 2005.** Bioactive microbial métabolites. *Antibiot.* 58 : 1-26.
- **Bezert G., Chappe P., Mourey A., et Loubinoux B., 1996.** Action de *bacillus* et d'actinomycètes sur les champignons du bleuissement du bois. Equipe Chimie Organique-Microbiologie, Université Henri Poincaré Nancy, France : 177-190.
- **Boukerma L., 2012.** Effet des PGPR (*Pseudomonas spp.* fluorescents) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (irs) chez la tomate Vis-à-vis de la fusariose vasculaire. Mémoire de Magister en Biotechnologie Végétales, Option : Biotechnologie Végétale. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger : 140p.
- **Brunel E. et Fournet S., 2002.** Protection biologique et intégrée contre la mouche du chou (*Delia radicum L.*): de la recherche fondamentale à l'expérimentation de plein champ. 2ème conférence internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aux végétaux. Lille : 276-282.
- **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., 2010.** Interaction entre des mutants hrp d'*Erwinia amylovora*, agent du feu bactérien, le parent pathogène de la plante hôte : recherche de mécanisme modulant la compatibilité. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et moléculaire végétale. Université d'Angers : 193p.
- **Chehat F., 2007.** Analyse macroéconomique des filières, la filière blé en Algérie. Projet PAMLIM « Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libération et Mondialisation » Alger : 7-9.
- **Deguine J.P., Gloanec C., Laurent P., Ratnadass A. & Aubertot J. N., 2015.** Protection agroécologique des cultures. Editions Quae (2016). Versailles CEDEX. France. 284p.

- **Djelti H., 2014.** Etude de la qualité du blé tendre utilise en meunier Algérienne. Mémoire de fin d'études pour obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Agronomie, Option : Technologie des industries Agro-alimentaire. Département des Sciences de L'Agronomie et des Forets, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen : 51p.
- **Djemoun A., 2009.** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Revue Nature et Technologie (01) : 45-53.
- **Eyal Z., 1981.** Control of *septoria* diseases of wheat. *Plant dis.* 65: 763-768.
- **Geraldin B., Pascal Ch., André M., et Bernard L., 1996.** Action de *Bacillus* et *d'Actinomycètes* sur les champignons du bleuissement du bois. Bulletin des Académies et Société Lorraines des Sciences, 35, N°3 : 178-190.
- **Greathead D. J., Kooyman C., Launois-Luong M. H. et Popov G. B., 1994.** Les ennemis naturels des criquets du Sahel. Collection Acridologie Opérationnelle. 8 : 84p.
- **Gurr G. M., Wratten S. D., & Altieri M. A., 2004.** Ecological engineering for pest management : Habitat manipulation for arthropods. CSIRO Publishing. Collingwood *Australia* (10) : 244 p.
- **Gigot C., 2013.** Potentialités des associations de variétés pour limiter la progression épidémique de la septoriose du blé : rôle des mécanismes de dispersion des spores par la pluie dans un couvert végétal hétérogène. Thèse de doctorat en sciences agronomiques et écologiques, L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech), Paris : 131p.
- **Haas D. & Defago G., 2005.** Biological control of soil- borne pathogens by fluorescent Pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology.* 3: 307- 319.
- **Kettani M.H., 2014.** Etude de la diversité de *Pectobacterium spp* et des effets induits par les lipopolysaccharides chez les plantes. Thèse de doctorat en Sciences agricoles. Université Hassan II Mohammedia – Casablanca, Maroc : 218p.

- **Lahmar A. et Zerbita O.D.E., 2015.** Identification des différentes maladies cryptogamiques rencontrées chez les céréales durant la campagne agricole 2014/2015 dans la région de Constantine. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Option : Biologie et Génomique végétale. Département Biologie et Ecologie Végétale, Université des Frères Mentouri- Constantine : 78p.
- **Lefort F., 2010.** Lutte biologique et lutte microbiologique des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes ?, Groupe Plantes et Pathogènes, Institut Terre Nature Paysage et Filière Agronomie, Genève : 57.
- **Lemanceau P., Expert D., Gaymard F., Bakker P. A. H. M., et Briat J. F., 2009.** Role of iron in plant–microbe interactions. *Adv. Bot. Res.* 51: 491-549.
- **Leroux P., Gredit M., Walker A. S., Couleaud G., Moinard J. et Le Henaff G., 2005.** La septoriose du blé en France en 2004. *phytoma*. N°579 : 7-12.
- **Loucif K., 2011.** Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Mémoire En vue de l'obtention du diplôme de Magister en Microbiologie, Option : Microbiologie appliquée et Biotechnologie microbienne, Université Mentouri- Constantine, Algérie : 115p.
- **Lounaci L. et Athmani-Guemouri S., 2014.** Action de *Paenibacillus polymyxa* SGK2 sur quelques champignons de la fusariose du blé dur (*Triticum durum*) en Algérie. *Algerian Journal of Natural Products*. 2 : 35-42.
- **Loyce C., Meynard J.M., Bouchard C., Rolland B., Lonnet P., Bataillon P., Bernicot M.H., Bonnefoy M., Charrier X., Debote B., Demarquet T., Duperrier B., Félix I., Heddadj D., Leblanc O., Leleu M., Mangin P., Méausoone M. and Doussinault G., 2008.** Interaction between cultivar and crop management effects on winter wheat diseases, lodging, and yield. *Crop Prot.* 27, 1131–1142.
- **Lydie S., 2010.** La lutte biologique" vers de nouveaux équilibre écologique", *Educagri Quae*. Paris : 321p.

- **Maghnaoui A., 2014.** Lutte microbiologique contre *Erwinia chrysanthemi* et isolement des *Erwinia* pectinolytiques et cellulolytiques. Mémoire de fin d'études en Master Sciences et Techniques, Option : Biotechnologie microbienne, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fes Maroc. : 66p.
- **Misko A.L., Germida J., 2002.** Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology*, 42 : 399-407.
- **Montesinos E., Bonaterra A. et Moselio S., 2009.** Pesticides, Microbial. *Encyclopedia of Microbiology*. Moselio S. Academic Press, Oxford, UK : 110-120.
- **Morais D., 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 en sciences agronomiques, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech), Paris : 202 p.
- **Ndiaye M. D., 2008.** L'impact du maraichage dans la dégradation des ressources naturelles dans les niayes de la bordure du lac Tanma. Mémoire du Magister, Université Cheikh Anta Diop : 99 p.
- **Nordlund D.A., 1996:** Biological control, integrated pest management and conceptual models. *Biocontrol News and Information*, 17(2): 35-44.
- **Odum, H.T., 1962.** Ecological tools and their use : man and the ecosystem. *The Connecticut Agricultural Experiment*, 652 : 57–75.
- **Ponomarenko A., Goodwin S.B. and Kema G.H.J., 2011.** *Septoria tritici* blotch (STB) of wheat, *Plant Health Instructor*, 107 : 256 - 263.
- **Prescott L., Harley J. P. & Klein D. A., 1995.** Microbiologie. De Boeck-Wesmael S.A Bruxelles. : 589.
- **Rapilly F., 1991.** L'épidémiologie en pathologie végétale des mycoses aériennes. INRA, Paris : 337p.

- **Rastoin J. L. et Benabderrazik E. H., 2014.** Céréales et oléoprotéagineux au Maghreb. Institut de perspective économique du monde méditerranéen, Maroc : 133p.
- **Resche-Regno P., 2008.** Appréciation de l'exposition au production phytosanitaire des salarés en production de tomates sous serres dans le Finistère. Mémoire pour l'obtention du diplôme de médecine agricole, Institut national de médecine agricole, faculté de médecine de Trous : 49 p.
- **Robert T., Dervins D., Fabre F. and Gangloff S. 2006.** Mrc1b and Srs2 are major actors in the regulation of spontaneous crossover. *The EMBO Journal*, 25 : 2837-2846.
- **Schurch S. & Cordette T., 2013.** Sensibilité initiale de la septoriose du blé aux fongicides SDHI (carboxamides). *Recherche Agronomique Suisse* 4 (2) : 82–87.
- **Seddiki M. J. et Messaoudia N., 2016.** Thème contribution à l'étude du contrôle biologique de la septoriose du blé (*Zymoseptoria tritici*) par des bactéries antagonistes. Mémoire de Master en Science agronomique, Option : Phytopathologie et Phytopharmacie, Département d'Ecologie et génie de l'environnement, Université du 08 Mai 1945, Guelma : 52 p.
- **Simon P., Houston P. and Broach J., 2002.** Directional bias during mating type switching in *Saccharomyces* is independent of chromosomal architecture. *The EMBO Journal*, 21: 2282-2291.
- **Starnes R.L., Liu C. L. & Marone P.G., 1993.** History, use and future of microbial insecticides. *Amer. Entomol*, 39 : 83-91.
- **Thomas D., Cherest H. and Surdin-Kerjan Y. 1989.** Elements involved in S-adenosylmethionine-mediated regulation of the *Saccharomyces cerevisiae* MET25 gene. *Mol Cell Biol*, 9(8) : 3292-3298.
- **Wlodarczyk A., 2010.** Recherche de signaux moléculaires végétaux impliqués dans l'induction de gènes chez la bactérie phytopathogène *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya dadantii*), Microbiologie environnementale. Institut National des Sciences Appliquées. Lyon : 122 p.



- **Zaitlin B., Watson S.b., Jamieson D., Steel D., 2003.** Actinomycètes in the Elbow River Basin, Alberta, Canada. *CAWQ*, Vol. 38, N°1: 115-125.
- **Zillinsky F.J., 1983.** Maladies communes des céréales à paille, guide d'identification. CIMMYT, Mexico : 141p.

- **Sites et pages web.**

[1] : <http://www.webreview.dz/spip.php?article2245>. (Consulté le 15/03/2017)

[2] : <https://www.google.com/search?q=septoriose+des+glumes&client=firefox-b&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKEwi3xoiHsPHSAhUCtRQKHTLBCp0QsAQIIQ&biw=1366&bih=635#q=septoriose+des+glumes&tbm=isch&tbs=ring>

(Consulté le 13/03/2017)

[3]: <http://www.terre-net.fr/observatoire-technique-culturelle/strategie-technique-culturelle/article/rappeler-l-interet-de-la-prevention-par-l-agronomie-217-123455.html>.

(Consulté le 21/02/2017).

[4] : [https://www.doc-developpement-durable.org/file/Agriculture-Lutte-Biologique/lutte-Biologique/lutteBio\\_principes\\_applications\\_limites.pdf](https://www.doc-developpement-durable.org/file/Agriculture-Lutte-Biologique/lutte-Biologique/lutteBio_principes_applications_limites.pdf) (consulté le 28/03/2017).

[5] : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/19901/hypp-Les-bacteries-antagonistes-ou-symbiotiques>

(Consulté le 02/04/2017)

[6] : [http://www.boitagri.com/toolbox/production/\\_pomme/\\_maladies/B\\_Biocontrôle\\_-\\_Bacillus\\_subtilis/fiche:0036-Biocontr%C3%B4le+%3A+Bacillus+subtilis](http://www.boitagri.com/toolbox/production/_pomme/_maladies/B_Biocontrôle_-_Bacillus_subtilis/fiche:0036-Biocontr%C3%B4le+%3A+Bacillus+subtilis)

(Consulté le 02/04/2017).

[7] : <https://www.google.com/search?q=la+technique+des+dilutions+par+s%C3%A9rie&client=firefox-b&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKEwi8l8vDjpbUAhWJDxoKHSyqAaQQsAQIIQ&biw=1366&bih=635>

(Consulté le 29/05/2017)

[8] : [http://bioutils.unige.ch/experiences/images\\_exp\\_gram/expe5.pdf](http://bioutils.unige.ch/experiences/images_exp_gram/expe5.pdf) (Consulté le 14.04.2017).

[9] : <http://fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/microbiologie/TP/Gram+GenreBacillus.pdf>  
(Consulté le 25/05/2017).

# *Annexe*

## ***Annexe I***

- **Milieu PDA : (Potato Dextrose Agar)**

**P** : pomme de terre ..... 200g.

**D**: D- Glucose ..... 18 g.

**A**: Agar- Agar..... 18 g.

- Eau distillée..... 1000 mL.

- stérilisation à l'autoclave.

- **Milieu LPGA : (milieu sélectif à base de Peptone – Extrait de levure-peptone- agar).**

**L** : Extrait de levure ..... 5 g.

**P**: Peptone ..... 5 g.

**G**: Glucose..... 10 g.

**A**: Agar- Agar..... 20 g.

- Eau distillée..... 1000 mL.

- stérilisation à l'autoclave.

- **Milieu GN : (Gélose nutritive- milieu non sélectif).**

- Extrait de levure ..... 2.5 g.

- Extrait de viande..... 1 g.

- Peptone..... 5 g.

- Agar- Agar..... 15 g.

- chlorure de sodium.....5 g.

- pH.....7.

- Eau distillée..... 1000 mL.

- stérilisation à l'autoclave.

• **King B** :

- Peptone dite "B" .....20 g.

- Glycérol.....10 g.

- Hydrogénophosphate de potassium .....1,5 g.

- Sulfate de magnésium heptahydraté..... 1,5 g

- Agar purifié.....12g.

- pH .....7,2.

- Eau distillée..... 1000 mL.

- Ajouter 10 mL de glycérol après autoclavage.