

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Ecole Nationale Supérieure Agronomique

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة

Département : Botanique

القسم : علم النبات

Spécialité: Interaction plantes-phytopathogène
et Protection des plantes

التخصص : تفاعل النباتات-ممرضات النباتات وحماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour l'obtention Du Diplôme De Master

THEME

Évaluation et caractérisation de la charge bactérienne associée à quelques lots de semence et plants malades de variétés de blé dur dans les régions de Berrouaghia, El Menéa et Saida et impact des interactions bactériennes *in vitro*.

Présenté Par : Mlle MERABET Meriem

Soutenu Publiquement le : 16/07/2025

Devant le jury composé de :

Président :	M. BOUZNAD Z.	Professeur, ENSA
Promotrice :	Mme KHENFOUS-DJEBARI B.	Maitre de conférences B, ENSA
Examinatrice :	Mme LAALA S.	Maitre de conférences A, ENSA
Invitée :	Mme TOUAMI F.	OAIC

Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux	iii
Liste des abréviations	iv
INTRODUCTION	1
1. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
1.1 Généralités sur les céréales.....	3
1.2 Généralités sur le blé.....	4
1.2.1 Historique et Origine de blé.....	4
1.2.2 Classification botanique du blé.....	4
1.2.3 Morphologie de la plante de blé.....	5
1.2.4 Structure et composition du grain.....	6
1.2.5 Stades phénologiques du blé	8
1.2.6 Importance de blé à l'échelle mondiale et en Algérie	9
1.2.7 La production mondiale et nationale de blé	9
1.3 Les principales contraintes de blé dur	11
1.4 Microbiote associée au blé	22
1.4.1 Mécanismes de pénétration et de colonisation bactérienne chez le blé	22
1.4.2 Localisation des bactéries au sein des graines de blé.....	23
1.4.3 Les sources de contamination microbienne des céréales	23
1.4.4 Rôle des bactéries non phytopathogène associées aux semences	23
1.4.5 Interactions entre les agents du microbiote des semences.....	23
1.4.6 Interactions entre le microbiote des semences et le microbiote rhizosphérique.....	24
1.5 Gestion phytosanitaire des maladies bactériennes affectant le blé dur	24
2. MATERIEL ET METHODES.....	27
2.1 Matériel végétales:	Error! Bookmark not defined.
2.1.1 Semences de blé dur :	27
2.1.2 Les échantillons de blé symptomatiques :	27
2.2 Méthodes :	29
2.2.1 Isolement à partir des échantillons symptomatiques.....	29
2.2.2 Préparation des lots de semence pour analyse	30
2.2.3 Test de germination.....	31
2.2.4 Analyse de la microflore bactérienne totale par spectrophotométrie	32
2.2.5 Isolement des bactéries à partir des semences sur milieux de culture	32

2.2.6	Purification des isolats.....	33
2.2.7	Conservation des isolats	33
2.2.8	Caractères morpho-culturels des isolats	33
2.2.9	Caractères biochimiques	33
2.2.10	Vérification du pouvoir phytopathogène sur plantes hôtes	37
2.2.11	Extraction de l'ADN.....	39
2.2.12	Confrontation des isolats étude des interactions des isolats	43
3.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	45
3.1	L'isolement à partir des échantillons symptomatiques	45
3.2	Test de germination des semences.....	47
Figure 27 : Résultats de test de germination des variétés dans les deux régions étudiées.....		48
3.3	L'analyse de la microflore bactérienne totale associée à la semence par spectrophotométrie ..	49
3.4	L'isolement des bactéries à partir des semences.....	51
3.5	Purification des isolats :.....	56
3.5.1	L'isolement à partir des échantillons symptomatiques.....	56
3.5.2	Purification des isolats de l'isolement à partir des semences.....	58
3.6	Caractères biochimiques.....	60
3.6.2	Détermination du gram au KOH à 3 %	60
3.6.3	Recherche de la catalase.....	61
3.6.4	Recherche des enzymes cytochromes oxydases	61
3.6.5	Recherche du pigment fluorescent	62
3.6.6	Recherche de levane sucrase	62
3.6.7	Etude du mode d'utilisation du glucose sur milieu HUGH et LEIFSON	63
3.6.8	Test de l'arginine dihydrolase.....	63
3.6.9	Culture en boîtes sur milieu GYCA	64
3.6.10	Recherche de l'activité pectinolytique	64
3.6.11	Tests biochimiques effectués sur les Galeries API 20 E.....	65
3.7	Identification des isolats	66
3.7.1	Identification des isolats phytopathogène.....	66
3.7.2	Identification des isolats non phytopathogène	69
3.8	Vérification du pouvoir phytopathogène sur plantes hôtes.....	70
3.9	Résultats de PCR.....	74
3.10	Confrontation des isolats et étude des interactions des isolats	74
3.2.1	Interaction naturelles des agents du microbiote de la semence	74
3.2.2	Interactions provoquées entre des agents bactériens du microbiote de la semence.....	75
3.2.2.1	La technique des stries croisés "Cross steak" par la confrontation simultanée	75
3.2.2.2	La technique des cultures en spots "Spot-On-Lawn" par la confrontation simultanée ..	76

CONCLUSION ET PERSPECTIVES..... 80
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 83

ABSTRACT

For several years, bacterial diseases have posed a significant threat to durum wheat cultivation in Algeria. This study aims to investigate the bacterial microflora associated with the seeds of three durum wheat varieties (Simeto, Vitron, and Amar 6), cultivated in the regions of Berroughia and Meniaa, from harvest through processing and treatment to storage. The analyses aim to characterize this microflora and assess its potential impact on crop health in the field. Bacterial identification is based on morphological and biochemical criteria, including hypersensitivity reactions on tobacco plants and pathogenicity tests on wheat seedlings. Several phytopathogenic bacteria were isolated, particularly those belonging to the genera *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Clavibacter*, and the species *Erwinia rhapontici* and *Pantoea stewartii*. Germination rates and microbial load vary depending on the variety, region, and post-harvest treatments. At the same time, non-pathogenic bacteria were also identified and tested for their antagonistic activity against pathogens to understand the interactions within the seed-associated microflora at various stages. In vitro confrontations revealed inhibitory interactions between certain species, suggesting a potential role of beneficial microflora in regulating pathogenic flora. Thus, the study shows that seeds may carry a weakly expressed pathogenic bacterial inoculum in the field and confirms the hypothesis that microbial interactions can modulate this expression. This work highlights the complexity of seed-associated microflora and opens up prospects for developing biocontrol strategies in durum wheat cropping systems.

Keywords: Durum wheat, seeds, pathogenic bacteria, non-pathogenic bacteria, interactions, antagonistic effect.

Résumé

Depuis plusieurs années, les maladies bactériennes représentent une menace importante pour la culture du blé dur en Algérie. Le présent travail vise à étudier la microflore bactérienne associée aux semences de trois variétés de blé dur (Simeto, Vitron et Amar 6), cultivées dans les régions de Berroughia et Meniaa, de la récolte jusqu'au stockage, en passant par l'usinage et le traitement. Les analyses ont pour objectif de caractériser cette microflore et d'évaluer son impact potentiel sur la santé des cultures au champ. L'identification des bactéries repose sur des critères morphologiques et biochimiques, incluant la réaction d'hypersensibilité sur plant de tabac ainsi que des tests de pathogénicité sur plantules de blé. Plusieurs bactéries phytopathogènes ont été isolées, notamment celles appartenant aux genres *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Clavibacter* et aux espèces *Erwinia rhapontici* et *Pantoea stewartii*. La germination et la charge microbienne varient selon la variété, la région et les traitements post-récolte. Parallèlement, des bactéries non pathogènes ont également été identifiées et testées pour leur activité antagoniste vis-à-vis des agents pathogènes, afin de mieux comprendre les interactions au sein de la microflore associée à la semence aux différents stades. Les confrontations in vitro ont révélé des interactions inhibitrices entre certaines espèces, suggérant un rôle potentiel de la microflore bénéfique dans la régulation de la flore pathogène. Ainsi, l'étude montre que les semences peuvent être porteuses d'un inoculum bactérien pathogène faiblement exprimé au champ, et confirme l'hypothèse selon laquelle les interactions microbiennes peuvent moduler cette expression. Ce travail met en lumière la complexité de la microflore associée aux semences et ouvre des perspectives pour le développement de stratégies de biocontrôle dans les systèmes de culture du blé dur.

Mots-clés : Blé dur, semences, bactéries pathogènes, bactéries non pathogènes, interactions, effet antagoniste.

المخلص

منذ عدة سنوات، تشكل الأمراض البكتيرية تهديداً كبيراً لزراعة القمح الصلب في الجزائر. يهدف هذا العمل إلى دراسة الميكروفلورا البكتيرية المرتبطة ببذور ثلاث أصناف من القمح الصلب (سيميتو، فيترون، وأمار 6)، المزروعة في منطقتي بَرُوغِيَّة والمَنِيَعَة، وذلك من الحصاد مروراً بعمليات الطحن والمعالجة وحتى التخزين. تهدف التحاليل إلى توصيف هذه الميكروفلورا وتقييم تأثيرها المحتمل على صحة المحاصيل في الحقل. تستند عملية تحديد البكتيريا إلى معايير مورفولوجية وكيميائية حيوية، بما في ذلك اختبار فرط الحساسية على نبات التبغ، بالإضافة إلى اختبارات الإراضية على أصناف القمح وقد تبين أن معدلات الإنبات والجمال البكتيري تختلف باختلاف الصنف والمنطقة والمعالجات بعد الحصاد. تم عزل عدة أنواع من البكتيريا الممرضة للنبات، خصوصاً التابعة لأجناس

.....*Clavibacter*, *Erwinia rhapontici*, *Pantoea stewartii*

وقد تبين أن معدلات الإنبات والجمال البكتيري تختلف باختلاف الصنف والمنطقة والمعالجات بعد الحصاد. وفي الوقت نفسه، تم التعرف على بكتيريا غير ممرضة واختبار نشاطها التثبيطي ضد العوامل الممرضة. لفهم أفضل للتفاعلات داخل الميكروفلورا المرتبطة بالبذور في المراحل المختلفة، وقد كشفت المواجهات المخبرية عن تفاعلات مثبطة بين بعض الأنواع، مما يشير إلى دور محتمل للميكروفلورا النافعة في تنظيم الفلورا الممرضة.

تظهر هذه الدراسة أن البذور قد تحمل ملوثاً بكتيرياً ممرضاً يتم التعبير عنه بشكل ضعيف في الحقل، وتؤكد الفرضية القائلة بأن التفاعلات الميكروبية يمكن أن تعدل هذا التعبير. يُسلط هذا العمل الضوء على تعقيد الميكروفلورا المرتبطة بالبذور، ويفتح آفاقاً لتطوير

استراتيجيات مكافحة الحبوبية في أنظمة زراعة القمح الصلب

الكلمات المفتاحية: القمح الصلب، البذور، البكتيريا المسببة للأمراض، البكتيريا غير المسببة للأمراض، التفاعلات، التأثير المضاد.