



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-pathogènes et Protection des plantes

التخصص: تفاعل النباتات – ممرضات النباتات و حماية النبات

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THÈME

Analyse du développement de la microflore bactérienne associée à la semence de blé, suivie d'une étude de l'effet antagoniste *in-vitro*.

Présenté par : BELAADA Dounia

Soutenu publiquement le : 09/11/2023

Devant le jury composé de :

Président : M. BOUZNAD Z.

Professeur à l'ENSA.

Promotrice : Mme. KHENFOUS-DJEBARI B.

Maitre de conférences B à l'ENSA.

Examinatrice : Mme. BOUREGHDA H.

Professeur à l'ENSA.

Invité : Mme. TOUAMI F.

OAIC.

Promotion : 2018 / 2023

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS.....	
DEDICACES.....	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES TABLEAUX.....	
LISTE DES FIGURES.....	
Introduction	1
1 Synthèse bibliographique	4
1.1 Importance Agronomique et économique des céréales	4
1.1.1 Importance agronomique	4
1.1.2 Importance économique.....	4
1.1.2.1 La situation céréalière Dans le monde	4
1.1.2.2 La situation céréalière en Algérie	5
1.2 L'évolution de la gamme variétale de blé dur en Algérie	5
1.2.1 Maintenance et homologation variétale	5
1.2.2 Les principales variétés de blé dur cultivé en Algérie.....	6
1.3 La gestion du marché de blé en Algérie :.....	7
1.3.1 Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC) :	8
1.3.1.1 L'organisation de l'OAIC	8
1.3.1.2 Rôles et activités de l'OAIC	9
1.3.2 Coopératives des céréales et légumes secs (CCLS)	10
1.3.2.1 Objectifs et Activités de CCLS	10

1.4	Circuit des semences.....	10
1.5	Stockage des semences.....	11
1.6	Généralité sur le blé.....	11
1.6.1	Histoire et origine du blé	11
1.6.2	Position taxonomique du blé	12
1.6.3	Aspect botanique du blé	12
1.6.3.1	Morphologie de la plante	12
1.6.3.2	La structure histologique de la graine du blé dur.....	13
1.6.4	Cycle de développement	13
1.7	Exigences écologiques du blé dur	14
1.8	Ravageurs et maladies de blé	14
1.8.1	Insectes :	14
1.8.2	Les maladies virales.....	15
1.8.3	Les maladies fongiques	15
1.8.4	Maladies abiotiques	16
1.8.4.1	Verse physiologique et/ou mécanique.....	16
1.8.4.2	Mitadinage.....	17
1.8.4.3	Echaudage.....	17
1.8.4.4	Germination sur l'épi	17
1.8.5	Les maladies bactériennes	17
1.9	Les bactéries pathogènes de blé.....	18
1.9.1	<i>Xanthomonas translucens</i> pv. <i>translucens</i> agent causal de la glume noir de blé	18
1.9.2	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Atrofaciens</i> agent causal de pourriture basale des glumes du blé ou «basalglume rot of wheat»	19

1.9.3	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> l'agent causal de la maladie de la brûlure bactérienne ou « Bacterial Leaf Blight»	20
1.9.4	La bactériose des épis de blé ou pourriture jaune des épis « Agent of yellow slime disease of wheat » causée par <i>Rathayibacter tritici</i> . Synonymes: <i>Clavibacter tritici</i>	21
1.9.5	<i>Erwinia rhapontici</i> l'agent causal de la maladie du grain rose du blé ou « Pink seed of wheat »	22
1.9.6	Autres Bactéries phytopathogènes signalées sur le blé	23
1.10	Les méthodes de lutte contre les bactérioses du blé	24
1.10.1	La lutte biologique	24
1.10.1.1	L'utilisation des antagonistes	24
1.10.1.2	Phénomènes de l'antagonisme	24
1.10.1.3	L'utilisation des bactéries bénéfiques en lutte biologique.....	25
2	Matériel et méthode.....	26
2.1	Présentation de régions prospectées	26
2.2	Analyse de la semence	27
2.2.1	Origine des semences	27
2.2.2	Analyse de la microflore bactérienne totale associée à la semence par spectrophotométrie.....	27
2.2.3	Analyses de pouvoir germinatif des semences de blé dur.....	27
2.3	Méthodes d'analyse phytosanitaire et identification des bactéries par méthode d'isolement des bactéries sur milieux de culture	29
2.3.1	Macération des semences	29
2.3.2	Dilution et ensemencement des macérats de semences	29
2.3.3	Purification et multiplication des isolats.....	30
2.3.4	Lecture des boîtes	30
2.3.5	Conservation des isolats	30

2.4	Caractérisation phénotypique des isolats.....	31
2.4.1	Caractères morpho-cultureux.....	31
2.4.2	Vérification de la réaction d’hypersensibilité sur tabac (Schaad et <i>al.</i> , 2001)	31
2.4.3	Caractères biochimiques et physiologique	31
2.5	Vérification du pouvoir pathogène sur plante hôtes.....	35
2.5.1	Matériel végétal	35
2.5.2	Préparation de l’inoculum	35
2.5.3	Technique d’inoculation	35
2.5.4	Notation des symptômes.....	36
2.6	Mise en évidence de l’activité d’antagoniste <i>in-vitro</i> des <i>Pseudomonas</i> saprophytes isolés à partir les semences de blé dur.....	36
2.6.1	Technique des cultures en spots par La confrontation simultanée.....	37
2.6.2	Technique des stries croisée (Cross streak) par confrontation déphasée.....	37
2.7	Prospection et prélèvement des échantillons symptomatiques aux champs.....	38
2.7.1	Isolement à partir des échantillons atteints.....	40
3	Résultats et discussion	41
3.1	Analyse des échantillons : isolement et lecture des boites	41
3.2	Analyse de la microflore totale associée à la semence par spectrophotométrie.....	41
3.3	Analyses du pouvoir germinatif des semences.....	44
3.4	Comparaison du taux de germination et de la densité optique pour l’évaluation de l’incidence de la microflore bactérienne sur la germination des semences.....	46
3.5	Isolement à partir des semences	47
3.6	Purification et lecture des boites.....	49
3.7	Traitement des échantillons malade.....	50
3.7.1	Isolement à partir des échantillons atteints	50

3.8	Sélection et Caractérisation des isolats obtenus	50
3.8.1	Réaction d'hypersensibilité sur tabac	51
3.8.2	Détermination du Gram au KOH à 3%	52
3.8.3	Test de fluorescence sur le milieu King B.....	53
3.8.4	Mode d'utilisation du glucose sur milieu Hugh et Leifson.....	53
3.8.5	Identification biochimique des isolats	54
3.9	Identifications des isolats.....	57
3.10	Vérification du pouvoir pathogène sur plante.....	59
3.11	Mise en évidence de l'activité d'antagoniste des <i>Pseudomonas</i> saprophytes isolés à partir les semences de blé dur.....	65
	Conclusion générale	67
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	1

Résumé

Cette étude vise à analyser la microflore totale de quelques lots de semences de blé dur et de caractériser d'une part les bactéries associées aux grains pouvant générer des maladies et entraîner des pertes de rendements et aussi les bactéries accompagnatrices qui ne présentent pas de pouvoir pathogènes et pouvant éventuellement exprimer des effets antagonistes par rapport aux premières. L'étude se penche également sur l'évolution de cette microflore totale, depuis la récolte jusqu'à après l'usinage et son comportement en plein champs sur le blé en végétation. 3 variétés de blé dur sont étudiées (Amar 6, Simeto et Vitron), originaires des régions de Bouira, Blida et Tipaza. L'étude des caractères biochimiques, physiologiques et de pathogénie nous a permis d'identifier 4 genres bactériens : *Clavibacter*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, et *Erwinia/Pantoea* sur la base de l'aspect morphocultural et en se basant sur leur profil biochimique, physiologique et leur pouvoir pathogène sur les variétés hôtes. Cette étude aussi révéla la présence de bactéries saprophytes en particulier des *Pseudomonas*, et des essais de confrontations de celles-ci avec des bactéries déterminées phytopathogènes sont effectués. Cette approche à plusieurs objectifs nous permis d'étudier l'évolution de la microflore bactérienne totale des semences par spectrophotométrie et par la détermination des concentrations par comptage des colonies, d'autre part les confrontations des bactéries associés ont mis la lumière sur les interactions bactériennes pouvant être générées tout au long de son acheminement de la récolte au stockage jusqu'à la prochaine culture. D'autre part cette étude nous a permis de sélectionner des souches à effet antagoniste pouvant faire l'objet d'un moyen de lutte biologique efficace contre ces bactériose du blé et des céréales en général, Les résultats de l'antibiose nous ont permis d'évaluer et de comparer deux techniques de confrontations des bactéries pathogènes et non pathogènes.

Mots-clés : Semences, bactéries phytopathogènes, bactéries saprophytes, *Clavibacter*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, et *Erwinia/Pantoea*, lutte biologique, effet antagoniste.

Abstract:

The aim of this study is to analyze the total microflora of a few durum wheat seed lots, and to characterize both the bacteria associated with the kernels that can generate diseases and lead to yield losses, and to characterize the accompanying bacteria that are not pathogenic on wheat and can possibly express antagonistic effects on phytopathogenic bacteria. The study also looks at the evolution of this total microflora, from harvest to post-milling, and its behavior in the field on growing wheat. 3 durum wheat varieties were studied (Amar 6, Simeto and Vitron), from the regions of Bouira, Blida and Tipaza. The study of strain characteristics based on bibliographic enabled us to identify 4 bacterial genera: *Clavibacter*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* and *Erwinia/Pantoea* identified on the basis of their morphocultural aspect, their biochemical and physiological profile and their pathogenicity on their plant host. This study also revealed the presence of saprophytic bacteria, in particular *Pseudomonas*, which were compared with the determined phytopathogenic bacteria. This multi-faceted approach enabled us to study the evolution of the total bacterial microflora of the seeds using spectrophotometry and by determining concentrations by colony counting, formed by living cells. In addition, comparisons of the associated bacteria shed light on the bacterial interactions that can be generated throughout the seed's journey from harvest to storage to the next crop. In addition, this study enabled us to select and characterize strains with an antagonistic effect that could be used as an effective biological control agent against this bacteriosis of wheat and cereals in general. The antibiosis results also enabled us to evaluate and compare two confrontation techniques for pathogenic and non-pathogenic bacteria. In conclusion, this study provides an insight into the interactions between the bacteria of the bacterial microflora, which may govern its evolution and impact on crops.

Keywords: Seeds, phytopathogenic bacteria, saprophytic bacteria, *Clavibacter*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, and *Erwinia/Pantoea*, biological control, antagonistic effect.

ملخص

هذه الدراسة تهدف إلى تحليل البيئة البكتيرية الكاملة لبعض أصناف حبوب القمح الصلب وتوصيف البكتيريا المرتبطة بالحبوب التي قد تسبب أمراضًا وتؤدي إلى خسائر في الإنتاج، وأيضًا البكتيريا المرافقة التي ليس لديها قدرة ممرضة والتي قد تظهر تأثيرات مضادة للبكتيريا الأولى. تتناول الدراسة أيضًا تطور البيئة البكتيرية الكاملة هذه، منذ الحصاد حتى بعد المعالجة، وسلوكها في الحقل على القمح خلال مرحلة النمو. تمت دراسة 3 أصناف من القمح الصلب (عمار 6، سيميتو، وفيترون)، والتي تأتي من مناطق بويرة والبليدة وتيبازة. أسمحنا لنا دراسة السمات البيوكيميائية والفيزيولوجية والمرضية على التعرف على 4 أجناس بكتيرية استنادًا إلى السمات المورفوكلتورية واستنادًا إلى ملفهم البيوكيميائي والفيزيولوجي *Erwinia/Pantoea*، و *Xanthomonas*، *Pseudomonas*، و *Clavibacter*، وتم إجراء اختبارات *Pseudomonas* وقدرتهم الممرضة على الأصناف المستضيفة. أظهرت هذه الدراسة أيضًا وجود بكتيريا غير ممرضة بشكل خاص من بينها لمواجهتها مع البكتيريا الممرضة المحددة نباتيًا. تمكنت هذه النهج متعددة الأهداف منا من دراسة تطور البيئة البكتيرية الكاملة للبذور بواسطة التحليل الطيفي وتحديد التراكيز بعد العد الكولوني. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت مواجهات البكتيريا المرتبطة بتفاعلات بكتيرية يمكن أن تظهر على مراحل عند نقلها من الحصاد إلى التخزين وحتى الزراعة القادمة. وأخيرًا، أتاحت لنا هذه الدراسة اختيار سلالات تظهر تأثيرًا مضادًا يمكن استخدامه كوسيلة فعالة لمكافحة البكتيريا المسببة لأمراض القمح والحبوب بشكل عام. نتائج دراستنا للأمراض المضادة سمحت لنا بتقييم ومقارنة اثنين من تقنيات مواجهة البكتيريا الممرضة وغير الممرضة.

الكلمات المفتاحية

بذور، بكتيريا ممرضة، بكتيريا غير ممرضة، مكافحة، التأثير المضاد.