



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTRE 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

التخصص : تفاعل النباتات-ممرضات النباتات وحماية النبات

et Protection des plantes

Mémoire De Fin D'études

Pour L'obtention Du Diplôme De Master

THEME

Evaluation et monitoring de la microflore bactérienne associée à

la semence de blé et son impact sur la culture dans les régions de

Douira et de Tipaza

Présenté Par : Mlle BEKKOUCHE Sabine

Soutenu Publiquement le : 14/11/2024

Devant le jury composé de :

Président :

M. BOUZNAD Z.

Professeur, ENSA

Promotrice :

Mme KHENFOUS-DJEBARI B.

Maitre de conférences B, ENSA

Examinatrice :

Mme BOUREGHDA H.

Professeur, ENSA

Invitée :

Mme TOUAMI F.

OAIC

Promotion : 2019 / 2024

TABLE DES MATIERES

LISTES DES FIGURES.....	i
LISTES DES TABLEAUX.....	iii
LISTES DES ABREVIATIONS.....	iv
INTRODUCTION.....	1
1. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
1.1 Généralités sur les céréales et le blé.....	3
1.1.1 Généralités sur les céréales et leur importance.....	3
1.1.2 Généralités sur le blé et son importance.....	3
1.1.3 Origine et histoire du blé.....	3
1.1.4 Classification botanique du blé dur.....	4
1.2 Production mondiale et nationale du blé.....	4
1.2.1 Production mondiale du blé.....	4
1.2.2 Production nationale du blé.....	5
1.3 Aspect botanique du blé.....	5
1.3.1 Morphologie de la plante.....	5
1.3.2 Grain du blé dur.....	6
1.4 Cycle végétatif du blé.....	7
1.5 Exigences écologiques du blé dur.....	8
1.6 Variétés du blé dur cultivées en Algérie.....	9
1.7 Maladies abiotiques.....	9
1.8 Les ravageurs du blé.....	10
1.9 Les maladies biotiques.....	11
1.9.1 Maladies dues aux nématodes.....	11
1.9.2 Maladies virales du blé.....	11
1.9.3 Maladies fongiques du blé.....	12
1.9.4 Maladies bactériennes du blé.....	14
1.10 Interactions plante-bactérie.....	20
1.10.1 Mécanismes de pénétration et de colonisation des bactéries dans la plante.....	20
1.10.2 Localisation des bactéries au niveau de la semence.....	20
1.10.3 Importance des bactéries non pathogènes au niveau de la graine.....	21

1.11 Gestion des maladies bactériennes du blé transmises par semences	21
2. Matériel et méthodes	24
2.1 Présentation des régions prospectées.....	24
2.2 Prospection et prélèvement des échantillons symptomatiques dans les champs de blé .	24
2.3 Isolement à partir des échantillons symptomatiques	26
2.4 Analyse des semences.....	26
2.4.1 Origine des semences.....	26
2.4.2 Division des semences	27
2.4.3 Test de germination	27
2.4.4 Analyse de la microflore bactérienne totale associée à la semence par spectrophotométrie.....	28
2.5 Isolement des bactéries sur milieux de culture à partir des semences.....	28
2.6 Conservation des isolats	29
2.7 Caractérisation phénotypique des isolats.....	30
2.7.1 Observation macroscopique.....	30
2.8 Caractères biochimiques et physiologiques.....	30
2.8.1 Réaction d'hypersensibilité sur tabac	30
2.8.2 Détermination du gram au KOH à 3%.....	31
2.8.3 Recherche du pigment fluorescent.....	31
2.8.4 Recherche de la catalase	31
2.8.5 Recherche du cytochrome oxydase.....	31
2.8.6 Recherche de la levane sucrase.....	32
2.8.7 Etude du mode d'utilisation du glucose sur milieu HUGH et LEIFSON.....	32
2.8.8 Test de l'arginine dihydrolase	32
2.8.9 Recherche de l'activité pectinolytique.....	33
2.8.10 Culture en boîtes sur milieu GYCA.....	33
2.8.11 Tests biochimiques effectués sur les Galeries API 20 E	33
2.9 Vérification du pouvoir pathogène sur plantes hôtes	34
2.10 Mise en évidence de l'activité antagoniste des bactéries non pathogènes isolées à partir des semences de blé dur.....	37
2.11 Extraction de l'ADN.....	39
3. RESULTATS ET DISCUSSION	41
3.1 Isolement à partir des échantillons symptomatiques	41
3.2 Résultats de l'analyse des semences	42

3.2.1 Résultats du test de germination	42
3.2.2 Analyse de la microflore bactérienne totale associée à la semence par spectrophotométrie.....	43
3.3 Isolement des bactéries sur milieux de culture à partir des semences.....	44
3.4 Purification des isolats.....	46
3.5 Caractérisation des isolats	47
3.5.1 Test d'hypersensibilité sur Tabac	47
3.5.2 Détermination du gram au KOH à 3%.....	47
3.5.3 Recherche du pigment fluorescent.....	48
3.5.4 Recherche de la catalase	49
3.5.5 Recherche du cytochrome oxydase.....	49
3.5.6 Recherche de la levane sucrase.....	50
3.5.7 Etude du mode d'utilisation du glucose sur milieu HUGH et LEIFSON.....	50
3.5.8 Test de l'arginine dihydrolase	51
3.5.9 Recherche de l'activité pectinolytique.....	52
3.5.10 Culture en boîtes sur milieu GYCA.....	52
3.5.11 Tests biochimiques effectués sur les Galeries API 20 E	53
3.6 Identifications des isolats.....	55
3.6.1 Identification des bactéries pathogènes.....	55
3.6.2 Identification des bactéries non pathogènes.....	57
3.7 Vérification du pouvoir pathogène sur plantes hôtes	57
3.8 Ré-isolement.....	64
3.9 Mise en évidence de l'activité antagoniste des bactéries non pathogènes isolées à partir des semences du blé dur	64
3.10 Résultats de l'extraction de l'ADN	69
CONCLUSION	70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72

Résumé

Ce travail a pour objectifs d'étudier le microbiote bactérien de la semence de trois variétés de blé dur traitées (Simeto, Vitron et Amar 6), ainsi que son impact sur la culture au champ. Les bactéries sont identifiées sur la base de leurs caractères phénotypiques, ainsi que leur pouvoir pathogène sur les plantules hôtes. Parmi les bactéries pathogènes, nous avons pu identifier quelques espèces dont *P. syringae*, *P. fuscovaginae*, *P. viridiflava*, *P. cichorii*, *X. translucens*, *C. tritici* et *C. tessellarius* ainsi que *E. rhapontici* et *Pontoea stewartii*. Concernant les bactéries non pathogènes, la détermination basée sur le même schéma d'identification, nous a permis d'identifier les espèces *P. fluorescens*, *B. megaterium* et *Azotobacter*. La microflore bactérienne associée étant très diverse, une étude par confrontation de quelques bactéries *in-vitro* nous a permis de mettre en évidence des interactions inhibitrices pour certains germes. De plus, certaines bactéries non pathogènes dont *P. fluorescens* et *B. megaterium* ont montré dans cette étude qu'elles peuvent exercer une activité antagoniste sur certaines bactéries pathogènes et probablement capables de réduire l'inoculum pathogène sur semence et de réduire l'expression des maladies au champ, en effet, cette étude a permis de révéler une microflore pathogène très diverse dont les symptômes sont peu ou pas exprimés au champ. Les interactions au niveau de la microflore associée à la semence pouvant aboutir à des changements dans la diversité et de la richesse de l'inoculum initial. Ce changement pourrait être en faveur de la flore bactérienne bénéfique à la croissance de la plante.

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

Abstract

The aim of this work is to study the seed's bacterial microbiota of three treated durum wheat varieties (Simeto, Vitron and Amar 6), as well as its impact on the crop in the field. The bacteria were identified on the basis of their phenotypic characteristics, as well as their pathogenic power on host seedlings. Among the pathogenic bacteria, we were able to identify several species including *P. syringae*, *P. fuscovaginae*, *P. viridiflava*, *P. cichorii*, *X. translucens*, *C. tritici* and *C. tessellarius* as well as *Pontoea stewartii* and *E. rhapontici*. With regard to non-pathogenic bacteria, determination based on the same identification scheme enabled us to identify the species *P. fluorescens*, *B. megaterium* and *Azotobacter*. As the associated bacterial microflora is very diverse, a study involving the confrontation of a number of bacteria *in vitro* enabled us to identify inhibitory interactions for certain germs. In addition, certain non-pathogenic bacteria such as *P. fluorescens* and *B. megaterium* showed in this study that they can exert an antagonistic activity on certain pathogenic bacteria and probably reduce the pathogenic inoculum on seed and reduce the expression of diseases in the field. In fact, this study revealed a very diverse pathogenic microflora whose symptoms are little or not expressed in the field. Interactions at the level of the microflora associated with the seed could lead to changes in the diversity and richness of the initial inoculum. This change could favour the bacterial flora that is beneficial to plant growth.

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

المخلص

الهدف من هذا العمل هو دراسة الميكروبيوتا البكتيرية في بذور ثلاثة أصناف من القمح الصلب المعالج (Vitron, Simeto)، وتأثيرها على الزراعة في الحقل. تم تحديد البكتيريا على أساس خصائصها المظهرية، وكذلك قدرتها الممرضة على الشتلات المضيئة. من بين البكتيريا المسببة للأمراض، تمكنا من تحديد العديد من الأنواع بما في ذلك *P. syringae* و *P. fuscovaginae* و *P. viridiflava* و *P. cichorii* و *X. translucens* و *C. tritici* و *C. tessellarius* وكذلك *E. rhapontici* و *Pontoea stewartii*. أما بالنسبة للبكتيريا غير المسببة للأمراض، فقد مكنا التحديد بناءً على نفس مخطط التحديد من تحديد *P. fluorescens* و *B. megaterium* و *Azotobacter*. ونظرًا لأن البيئة المجهرية البكتيرية المصاحبة متنوعة للغاية، فقد مكنتنا الدراسة بمقارنة عدد من البكتيريا في المختبر من تحديد التفاعلات المثبطة لبعض الجراثيم. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت بعض البكتيريا غير المسببة للأمراض، بما في ذلك *P. fluorescens* و *B. megaterium*، في هذه الدراسة أنها يمكن أن تمارس نشاطًا مضادًا على بعض البكتيريا المسببة للأمراض، وربما تكون قادرة على تقليل اللقاح الممرض على البذور والحد من ظهور الأمراض في الحقل. في الواقع، كشفت هذه الدراسة عن وجود بكتيريا ممرضة متنوعة للغاية لا تظهر أعراضها في الحقل إلا قليلاً أو لا تظهر أساسًا. ممكن أن تؤدي التفاعلات على مستوى البيئة المجهرية البكتيرية المرتبطة بالبذرة إلى تغيرات في تنوع و ثراء اللقاح الجرثومي الأصلي. مما قد يكون لصالح البيئة المفيدة للنمو النباتي.

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