

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية للعلوم الفلاحية – الجزائر-

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH-ALGER

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de master

Département : Botanique

Spécialité : Interaction plantes-pathogène et protection des plantes

THEME

Evaluation *in vitro* de l'effet bactéricide de quelques extraits de plantes sur la croissance des bactéries phytopathogènes du blé.

Présenté par : M^{elle} Merouani Amira

Soutenue le : 8 /11 /2018

Membres du jury :

Président : M. KEDDAD A.

Promoteur : Mme KHENFOUS-DJEBARI B.

Examineurs : Mme Laala S.

Mme Boughrarou F.

Promotion : 2013 / 2018

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	1
2. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	
2.1. Généralités sur la culture du blé.....	3
2.1.1. Origine et histoire.....	3
2.1.2. Les principaux pays producteurs du blé.....	3
2.1.3. Importance du blé en Algérie:.....	3
2.1.3.1. Zones de production.....	3
2.1.4. Les principales variétés du blé cultivées en Algérie.....	4
2.1.5. Les principaux problèmes phytosanitaires du blé.....	5
a- Les bio-agresseurs animaux.....	5
b- Les Micro-bio-agresseurs.....	5
Les champignons phytopathogènes.....	5
Les virus phytopathogènes.....	5
Les bactéries phytopathogènes.....	5
2.2. Généralités sur les principales maladies bactériennes du blé.....	7
2.2.1. La strie bactérienne des céréales «Bacterial Leaf Streak».....	7
2.2.1.1. Aperçu sur la maladie.....	7
2.2.1.2. Caractères généraux de la bactérie.....	8
2.2.2. La bactériose des glumes des céréales.....	10
2.2.2.1. Aperçu sur les maladies causées par l'espèce <i>P.syringae</i>	10
2.2.2.2. Caractères généraux de la bactérie.....	10
2.2.2.3. Gamme d'hôtes.....	11
2.2.3. La maladie du flétrissement bactérien (Maladie de <i>stewartii</i>).....	12
2.2.3.1. Caractères du pathogène.....	13
2.2.4. Mosaïque bactérienne causée par <i>Clavibacter michiganensis</i>	14
2.2.4.1. Caractères généraux de la bactérie.....	15
2.3. Stratégies de lutte contre les bactéries phytopathogènes du blé.....	16
2.3.1. La résistance induite.....	16
2.3.2. Lutte culturale et résistance variétale.....	16
2.3.3. Lutte chimique.....	17
2.3.4. Lutte physique.....	18
2.3.5. Lutte biologique.....	19
2.3.5.1. Les biopesticides.....	19
2.3.5.1.1. Les biopesticides microbiens.....	19
2.3.5.1.2. Les biopesticides animaux.....	20
2.3.5.1.3. Les biopesticides végétaux.....	20
2.3.5.1.3.1. Les huiles essentielles.....	20
- Les activités antibactériennes des huiles essentielle.....	20
2.3.5.1.3.2. Les extraits aqueux.....	21
- <i>Punica granatum</i>	21
- <i>Salvia officinalis</i>	21
- Oignon (<i>Allium cepa</i>) et Ail (<i>Allium sativum</i>).....	21
- Olivier (<i>Olea europea</i>).....	22
- Thym (<i>Thymus algeriensis</i>).....	22
- Citron (<i>Citrus limon</i>).....	22
3. MATERIELS ET METHODES	
PARTIE 1 : RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES BACTERIES PHYTOPATHOGENES	
3.1. Prospection et échantillonnage.....	23

3.2. Analyse des échantillons.....	23
3.2.1. Isolement à partir de semences.....	23
3.2.2. Isolement à partir des échantillons symptomatiques des feuilles....	23
3.3. Lecture des boîtes, purification des colonies et conservation de l'isolat.....	24
3.4. Tests de présélection des isolats.....	24
3.4.1. Etude du pouvoir pathogène avec la recherche de la réaction d'hypersensibilité sur tabac.....	24
3.4.2. Détermination du Gram au KOH à 3%.....	25
3.4.3. Etude du mode d'utilisation du glucose.....	25
3.5. Tests d'identification.....	25
3.5.1. Recherche d'enzymes pectinolytiques (Pectinolyse).....	25
3.5.2. Recherche de l'enzyme nitrate réductase (EPN).....	25
3.5.3. Recherche de la fluorescence sur milieu KB.....	26
3.5.4. Recherche de la levane sucrase.....	26
3.6 Vérification du pouvoir pathogène.....	26
3.6.1. Matériel végétal utilisé.....	26
3.6.2. Préparation de l'inoculum.....	26
3.6.3. Technique d'inoculation.....	26
PARTIE 2 : ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE EN UTILISANT QUELQUES EXTRAITS VEGETAUX AQUEUX.....	28
3.7. MATERIEL.....	28
3.7.1. Espèces végétales étudiées.....	28
3.7.2. Isolats bactérien.....	28
3.7.2.1. Préparation de l'inoculum.....	28
3.7.3. Préparation des extraits aqueux.....	29
3.8 Etude de l'efficacité des extraits aqueux par la technique de diffusion en puits	29
3.8.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux.....	31
3.8.1.1. Matériel végétal.....	31
3.8.1.2. Préparation de la gamme de concentration des extraits aqueux végétaux.....	31
3.8.1.3. Etude des paramètres antibactériens des extraits aqueux (CMI CMB et CL50).....	31
3.8.1.3.1. Détermination de pourcentage d'inhibition.....	31
4. RESULTATS ET DISCUSSION	
PARTIE 1 : RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES BACTERIES PHYTOPATHOGENES DE BLE.....	33
4.1- Analyse des échantillons: Isolement, purification et lecture des boîtes.....	33
4.2. Sélection des isolats.....	34
4.2.1. Vérification de la réaction d'hypersensibilité.....	34
4.2.2. Détermination du Gram au KOH à 3%.....	35
4.2.3. Etude du mode d'utilisation du glucose.....	35
4.2.4. Recherche de la fluorescence sur milieu KB.....	35
4.2.5. Recherche des enzymes pectinolytiques.....	36
4.2.6. Recherche de la levane sucrase.....	37
4.2.7. Recherche de nitrate réductase.....	37
4.3- Résultats de vérification du pouvoir pathogène.....	39
PARTIE 2 : ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE EN UTILISANT QUELQUES EXTRAITS VEGETAUX AQUEUX.....	44
4.4. Evaluation de l'efficacité de quelques extraits aqueux.....	44
4.4.1. Résultats de la diffusion en puits.....	44
4.4.2. Résultats obtenus par la deuxième méthode (calcul de la densité optique).....	47
4.4.2.1. Efficacité in vitro des différentes concentrations de l'extrait aqueux d' <i>Allium sativum</i> à l'égard des deux isolats HD.1, HD.2.....	47

4.4.2.2. Efficacité <i>in vitro</i> des différentes concentrations de l'extrait aqueux d' <i>Allium cepa</i> à l'égard des deux isolats HD.1, HD.2.....	48
4.4.2.3. Efficacité <i>in vitro</i> des différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Salvia officinalis</i> à l'égard des deux isolats HD.1, HD.2:.....	49
4.4.2.4. Etude de l'efficacité <i>in vitro</i> des différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Punica granatum</i> à l'égard des deux isolats HD.1, HD.2.....	49
4.3.3. Détermination des paramètres de l'activité antibactérienne des extraits aqueux.....	58
4.3.3.1. Détermination de pourcentage des différentes concentrations des extraits aqueux à l'égard des deux isolats.....	59
4.3.3.2. Détermination de la CL50 des différentes concentrations des extraits aqueux à l'égard des deux isolats.....	60
5. C O N C L U S I O N	64
ANNEXES	66
6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	68
RESUME	

Résumé :

Le monde végétal est une excellente source de principes actifs, ce qui lui confère une activité antimicrobienne et antioxydante importante souvent recherché dans la médecine alternative et le domaine agroalimentaire pour la conservation des aliments. Dans le but de connaître les activités biologiques des plantes médicinales utilisées traditionnellement par la population, notre travail a porté sur l'étude des extraits aqueux des feuilles de sauge (*Salvia officinalis*), de grenadier (*Punica granatum*) de pistachier (*Pistacia atlantica*) d'Oliver (*Olea europea*) des citruses (*Citrus limon*) (*Citrus sinensis*) du laurier rose (*Nerium oleander*) de santoline (*Santolina chamaecyparissus*) de l'ail (*Allium sativum*) et de l'oignon (*Allium cepa*) sur 13 isolats phytopathogènes du blé isolés à partir des semences et des échantillons de feuilles atteintes. Les résultats de notre étude nous ont montré que les extraits aqueux (*Allium sativum*) (*Allium cepa*) (*Punica granatum*) (*Salvia officinalis*) ont révélé une activité antibactérienne très prononcée sur nos deux isolats HD.1, HD.2 attribués respectivement aux genres *Pseudomonas* et *Xanthomonas* et le genre *Pseudomonas* a présenté une résistance considérable vis-à-vis des extraits aqueux par rapport au genre *Xanthomonas* qui s'est révélé sensible aux extraits.

Mots clés : Activité antibactérienne, extraits aqueux, bactéries phytopathogènes, blé.

Abstract:

The plant world is an excellent source of active ingredients, which gives it an important antimicrobial and antioxidant activity; often sought in alternative medicine and agro-food for food preservation. In order to know the biological activities of medicinal plants traditionally used by the population, our work focused on the study of aqueous extracts of sage leaves (*Salvia officinalis*), Pomegranate (*Punica granatum*) pistachio (*Pistacia atlantica*) d'Oliver (*Olea europea*) citrus (*Citrus limon*) (*Citrus sinensis*) oleander (*Nerium oleander*) santoline (*Santolina chamaecyparissus*) garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*) on 13 phytopathogenic isolates Wheat isolated from seeds and affected leaf samples. The results of our study showed us that the aqueous extracts (*Allium sativum*) (*Allium cepa*) (*Punica granatum*) (*Salvia officinalis*) revealed a very pronounced antibacterial activity on our two isolates HD.1, HD.2 attributed respectively to the genera *Pseudomonas* and *Xanthomonas* and the genus *Pseudomonas* exhibited considerable resistance to aqueous extracts with respect to the genus *Xanthomonas* which was found to be sensitive to extracts.

Key words: Antibacterial activity, aqueous extracts, phytopathogenic bacteria, wheat.

ملخص:

عالم النبات، هي مصدر كبير من المكونات النشطة، مما يعطيها مضادات الميكروبات كبير ونشاط مضادات الأكسدة في كثير من الأحيان سعى في الطب البديل والصناعات الغذائية لحفظ الأغذية. من أجل معرفة الأنشطة البيولوجية للنباتات الطبية المستخدمة تقليدياً من قبل السكان، وقد ركزت عملنا على دراسة للمستخلص المائي لأوراق المريمية (*Salvia officinalis*) والرمان (*Punica granatum*) (*Pistacia atlantica*) (*Olea europea*) الحمضيات (*Citrus limon*) (*Citrus sinensis*) الدفلى (*Nerium oleander*) (*Santolina chamaecyparissus*) من الثوم (*Allium sativum*) والبصل (*Allium cepa*) من السلالات الممرضة 13 محطة القمح المعزول من البذور وعينات الأوراق المصابة. وقد أظهرت نتائج هذه الدراسة أن مستخلص المائي (*Allium sativum*) (*Allium cepa*) (*Punica granatum*) (*Salvia officinalis*) أظهرت النشاط المضاد للبكتيريا واضح جدا على بلدينا HD.1 العزلات على التوالي HD.2 نسبت إلى الجنسين *Pseudomonas* مقاومة كبيرة وجها لتجاه مستخلص المائي النسبية إلى جنس *Xanthomonas* التي أثبتت حساسة لمقتطفات.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا ، المستخلصات المائية ، البكتيريا النباتية ، القمح.