



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

قسم : المكر وبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie

Option : Mycologie et Biotechnologie Fongique

INTITULE

**Contribution à la lutte chimique et biologique contre l'agent
causal de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* »
*in vitro***

Présenté et soutenu par :

BETTOU Mabrouk & RIGHI Marwa

Le : 26/06/2018

Jury d'évaluation

Président du jury : Dr. ALMI Hiba (MCB - UFM Constantine).

Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (CHERCHEUR- INRAA, Constantine).

Examineur : Dr. OUFROUKH Amar (MRA- INRAA, Constantine).

Année universitaire 2017 - 2018

REMERCIEMENTS

D'abord, louange à DIEU le tout puissant, que je remercie beaucoup de nous avoir donné la force et le courage de terminer ce mémoire. Sans lui, rien n'aurait pu être réalisé.

Je tiens aussi à remercier Melle Almi H., Maitre de conférences à UFM Constantine, de nous avoir fait honneur d'accepter de présider le jury de soutenance et à Dr. OUFROUKH A. pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à remercier en particulier et exprimer toute ma reconnaissance auprès de notre encadreur Dr. HARRAT W. (Chercheur – laboratoire INRA, Constantine). Qui nous a initiées à la recherche, un domaine qui nous a toujours motivés.

Nos vifs remerciements vont également à toute l'équipe technique de l'UR Constantine, notamment Mme Bencedira S. et Mme Imami S.

BETTOU Mabrouk

RIGHI Marwa

DEDICACES

Je remercie tout particulièrement mes parents pour leur encouragement
et leur soutien.

A mes sœurs et mon frère

A ma petite famille

A tous mes amis (es)

Avec toute mon affection

BETTOU Mabrouk

DEDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, Le respect, la reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que :

Je dédie ce modeste travail à :

A la personne qui est toujours avec moi, mon très cher Papa KAMEL qui a sacrifié ses jours et ses nuits pour mon éducation et mon bien être, et pour tout ce qu'il a fait pour moi. Merci cher papa, que dieu te garde et te protège.

A ma très chère et douce Maman MALIKA qui est toujours près de moi, m'encourage, me conseille, me soutien et qui n'a jamais cessé de prier pour moi. Aucun mot ne peut exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu as fait depuis ma naissance a ce jour. Merci maman, que dieu te garde et te protège.

A ma chère sœur AICHA et mes frères HAMZA et BILEL, je les remercie pour leur aide et leur soutien.

Un grand merci à mon Mari HICHEM pour son soutien morale.

RIGHI Marwa

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION	1
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	3
CHAPITRE 1. LE BLE	3
1.1. Description du blé	3
1.2. Intérêt socio-économique du blé	3
1.3. Origine du blé.....	5
1.3.3. Origine génétique	5
1.3.2. Origine géographique.....	5
1.4. Classification botanique	5
1.5. Cycle de développement.....	6
1.5.1. Période végétative	6
1.5.2. Période de reproduction.....	6
1.5.3. Période de Maturation	7
1.6. Principales maladies du blé.....	7
1.6.1. Les virus	8
1.6.2. Les bactéries.....	8
1.6.3. Les champignons pathogènes du blé	8
CHAPITRE 2. LA TACHE SEPTORIENNE DU BLE	9
2.1. Description de la maladie	9
2.2. Taxonomie et biologie	9
2.3. Symptomatologie de la maladie	10
2.4. Epidémiologie de la maladie.....	12
2.5. Processus d'infection.....	12
2.6. Moyens de lutte.....	14
2.6.1. Utilisation de variétés résistantes	14

2.6.2.	Pratiques culturales	14
2.6.3.	Lutte chimique	14
2.6.4.	Lutte biologique	15
MATERIEL ET METHODES.....		20
1.	Matériel fongique	20
1.1.	Matériel fongique pathogène	20
1.2.	Matériel Fongique antagoniste.....	20
2.	Isolement du pathogène <i>Z. tritici</i>	20
2.1.	Désinfection des échantillons	20
2.2.	Séchage de l'échantillon	21
2.3.	Méthode de chambre humide	21
2.4.	Prélèvement des cirrhes	21
2.5.	Observation microscopique	22
3.	Essai de lutte <i>in vitro</i>	22
3.1.	Lutte chimique	23
3.1.1.	Préparation des formulations	24
3.2.	Lutte biologique	24
3.2.1.	Préparation des métabolites secondaires	24
4.	Méthode de dénombrement cellulaire	25
4.1.	Cellule de Malassez.....	25
4.2.	Turbidimétrie	26
4.2.1.	Principe de la méthode	27
4.2.2.	Dénombrement sur milieu gélosé.....	28
RESULTATS ET DISCUSSION		30
1.	Résultats.....	30
1.1.	Caractérisation du pathogène <i>Zymoseptoria tritici</i>	30
1.2.	Caractérisation des isolats antagonistes « <i>Trichoderma</i> ».....	32
1.3.	Résultats du dénombrement cellulaire.....	32
1.3.1.	Cellule Malassez	32
1.3.2.	Mesure de turbidimétrie.....	35

CONCLUSION.....	42
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	45
ANNEXE.....	51
RESUME	

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Part de production de blé par région du monde, moyenne 1994-2016.....	4
Figure 2. Production et superficie récoltées de blé en Algérie, moyenne 1994-2016.....	4
Figure 3. Les principaux stades de développement des céréales selon l'échelle de Zadoks.	7
Figure 4. Structures fructifères de <i>Mycosphaerella graminicola</i> (anamorph : <i>Zymoseptoria tritici</i>).	11
Figure 5. Symptômes de la maladie. Feuille de blé montrant les symptômes typiques de la septoriose	11
Figure 6. Cycle de développement de <i>Z. tritici</i> présentant les deux phases : sexuée et asexuée	13
Figure 7. Les principales actions dans la lutte chimique	15
Figure 8. Préparation de la méthode chambre humide. (A) désinfection ; (B) séchage ; (C) Méthode de chambre humide.	21
Figure 9. Isolement des cirrhes de <i>Z. tritici</i> sur milieu YMA. (A) Prélèvement des exsudats ; (B) ensemencement sur milieu solide.....	22
Figure 10. Incubation des flacons en agitation.....	23
Figure 11. Méthode de filtration des métabolites secondaires. (A) filtration par papier filtre du mycélium de <i>Trichoderma</i> ; (B) filtration par microfiltre.	24
Figure 12. Préparation du dispositif. (A) Préparation des mélanges pour les deux types de lutte ; (B) Inoculation des flacons par des disques de <i>Z. tritici</i>	25
Figure 13. Cellule de Malassez.	26
Figure 14. (A) Spectrophotomètre ; (B) Pose des échantillons de suspension de <i>Z. tritici</i>	27
Figure 15. Symptômes de <i>Z. tritici</i> avec pycnides et cirrhe. (A) cirrhes en fil fin enroulé ; (B) cirrhes de forme globuleuse.	30
Figure 16. Aspect cultural des colonies de <i>Z. tritici</i> sur YMA. (A) obtenues des isollements ; (B) Stroma de <i>Z. tritici</i> après ensemencement.	31
Figure 17. Pycnidiospores de <i>Z. tritici</i> . (A) macropycnidiospore ; (B) micropycnidiospore. .	31
Figure 18. Aspect microscopique des pycnidiospores de (A) Zt1 et (B) Zt2.	31
Figure 19. Caractérisation morphologique (1) et microscopique (2) des isolats de <i>Trichoderma</i> . (A) Tr1 ; (B) Trb.	32
Figure 20. Exemple de vue microscopique du comptage à l'aide d'une cellule de Malassez. 33	

Figure 21. Nombre de spores par mm ³ de <i>Z. tritici</i> en fonction des traitements chimiques (T : témoin ; F : Falcon ; A : Artea).....	34
Figure 22. Nombre de spores par mm ³ de <i>Z. tritici</i> en fonction des métabolites secondaires de <i>Trichoderma</i> testés (T : témoin).....	35
Figure 23. Valeurs de l'absorption en fonction des traitements antifongiques testés contre l'isolat Zt1.....	36
Figure 24. Valeurs de l'absorption en fonction des traitements antifongiques testés contre l'isolat Zt2.....	36
Figure 25. Exemples de colonies sur milieu solide. (A)Témoin ; (B) dilution 10 ⁻² ; (C) dilution 10 ⁻³	37
Figure 26. Nombre de colonies de l'isolat Zt1 en fonction de l'absorption.....	38
Figure 27. Nombre de colonies de l'isolat Zt2 en fonction de l'absorption.....	38
Figure 28. Nombre de colonies des isolats Zt1 et Zt2 en fonction des traitements antifongiques testés.....	39

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Classification botanique du genre <i>Triticum</i>	5
Tableau 2. Classification de <i>Z. tritici</i> selon Quaedvlieg <i>et al.</i> (2011) et Joint Genome Institute (2015).....	10
Tableau 3. Classification du genre <i>Trichoderma</i>	17
Tableau 4. Caractéristiques des produits chimiques testés.....	23
Tableau 5. Nombre de spores de <i>Z. tritici</i> par ml et taux d'inhibition en lutte chimique.....	33
Tableau 6. Nombre de spores de <i>Z. tritici</i> par ml et taux d'inhibition en lutte biologique.....	34
Tableau 7. Nombre de colonies en fonction des dilutions en culture sur milieu solide.....	37

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La production des céréales, notamment les blés, en Algérie présente une caractéristique fondamentale depuis l'indépendance à travers l'extrême variabilité du volume des récoltes. Cette particularité témoigne d'une maîtrise insuffisante de cette culture et de l'indice des aléas climatiques (**Bencharif et Rastoin, 2007**).

Cette production conduite en extensif est à caractère essentiellement pluvial. Il est donc, facile de prédire qu'elle ne pourrait satisfaire les demandes d'une population, qui dépassant actuellement les 36 millions d'habitants, est potentiellement et traditionnellement consommatrice de blé (**Rastoin et Benabderrazik, 2014**). Ce qui fait qu'une grande partie des besoins nationaux est couverte par les importations, dont le coût est de plus en plus élevé.

Le blé dur reste la céréale prépondérante en Algérie. Généralement bien adapté aux conditions locales, sa production progresse au même rythme que celle du blé tendre. Le rendement moyen en blé du pays est estimé à 14 q/ha en 2016 situé loin derrière la productivité des pays méditerranéens d'Europe du sud (**FAOSTAT, 2018**). Ces différences s'expliquent à la fois par des conditions pédoclimatiques (stress abiotique), techniques et sanitaires (ravageurs, maladies et adventices).

La culture du blé est susceptible d'être attaqués par des maladies fongiques au niveau des racines « piétin-échaudage », des tiges « piétin-verse », des feuilles « rouilles, septoriose, oïdium » et des épis « septoriose, fusariose ». Ces maladies peuvent occasionner des pertes de rendement considérables en conditions favorables à leurs développement (**Eyal et al., 1987**).

Le développement de ces maladies est favorisé par les méthodes culturales pratiquées telles que, la monoculture intensive, les débris et les restes des cultures, ainsi que l'utilisation de variétés sensibles (**Eyal et al., 1987, Viaux, 1999**).

Au Maghreb, la septoriose causée par « *Zymoseptoria tritici* » est considérée comme la maladie du blé la plus importante (**Zahri et al., 2013 ; Berraies, 2014**) ; en Algérie elle est largement présente dans toutes les régions Nord du pays (**Sayoud et al., 1999**).

Les pertes de rendements peuvent atteindre 30% durant les années pluvieuses en particulier lorsque les pluies de printemps persistent après l'émergence de la feuille drapeau (**Danon et al., 1982**).

L'utilisation de fongicides est le moyen le plus couramment utilisé dans les systèmes de production intensive et de meilleurs rendements sont plus facilement atteints par la combinaison de pratiques culturales adéquates et l'utilisation de variétés résistantes à cette maladie (Eyal, 1999).

Ce travail consiste à une approche à la lutte chimique et biologique contre l'agent causal de la tache septorienne *in vitro*. Pour cela différentes étapes sont réalisées :

- Isolement et caractérisation des isolats de *Z. tritici* à tester ;
- Réalisation d'un protocole renfermant le test de deux formulations pour la lutte chimique et les métabolites secondaires de deux isolats du genre *Trichoderma* pour la lutte biologique ;
- Valorisation des résultats.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE 1. LE BLE

1.1. Description du blé

Le blé est parmi les céréales les plus cultivées dans le monde, il compte actuellement plusieurs variétés cultivées. La production mondiale, en progression constante, et les échanges qui se multiplient entre les régions du monde font de cette céréale l'une des principaux acteurs de l'économie mondiale et justifie les nombreux travaux qui lui sont consacrés (**Lesage, 2011**).

Morphologiquement, le blé dur se différencie du blé tendre par un feuillage plus clair, totalement glabre. L'appareil végétatif est à tallage faible, à chaume long et souple (**Olmedo, 1995 ; Soltner, 2005**). Le blé dur comme le blé tendre, sont autogame (**Prats et Grandcount, 1971 ; Soltner, 2005**).

Les fruits de blé sont secs et indéhiscents appelés caryopses. La graine est grosse, de section triangulaire très riche en albumen et de texture vitreuse ou farineuse (**Hadria, 2006**).

Le blé dur est très riche en gluten, vue l'importance nutritionnelle élevée. Les semoules de graines de blé dur, sont la matière première utilisée en alimentation. La semoule issue du blé dur est également à l'origine de produits alimentaires très divers notamment les aliments traditionnels comme le couscous, le pain, la galette, les différentes pâtisseries et le frik (**Selmi, 2000 ; Feillet, 2000**).

1.2. Intérêt socio-économique du blé

Les plus gros producteurs de blé dans le monde (**Fig.1**) sont les Etats-Unis, la Chine, le Canada, la France et l'Australie (**Elabed, 1984**). En Algérie, le blé a acquis au cours des siècles une véritable valeur symbolique, du fait de son importance dans l'agriculture et l'alimentation humaine, la figure 2 représente l'évolution des productions et des superficies récoltées en Algérie durant la période 1994 – 2016 d'après les statistiques de la FAO (2018).

Son grain constitue un produit de base dans l'alimentation des algériens (couscous, pain...), il est considéré aussi comme une très grande ressource de protéines et d'hydrate de carbone. Il renferme également des acides aminés, des lipides et des vitamines. En outre, la paille sert d'aliments de bétail (**Godon, 1985**).

Les pays africains sont les plus grands importateurs mondiaux de blé, avec plus de 45 millions de tonnes en 2013, ce qui représente environ 15 milliards USD. Les importations de blé représentent 60% de la consommation africaine de blé (**FAOSTAT, 2016**).

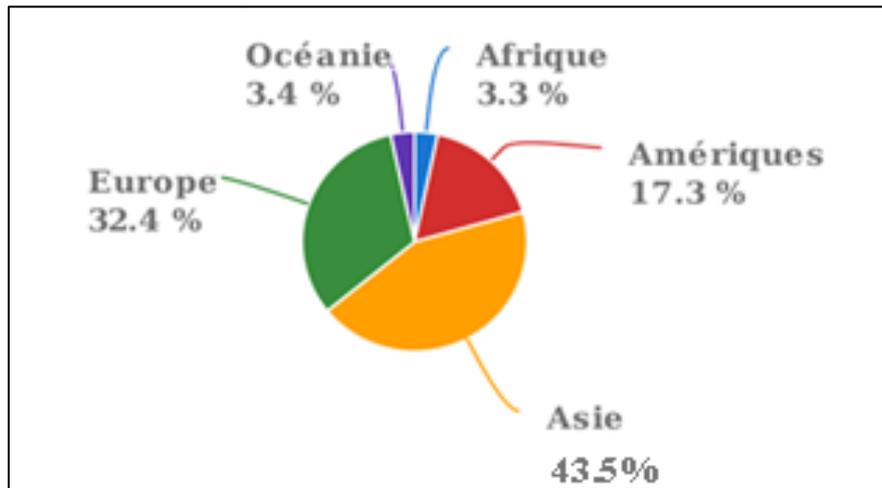


Figure 1. Part de production de blé par région du monde, moyenne 1994-2016 (FAOSTAT, 2018).

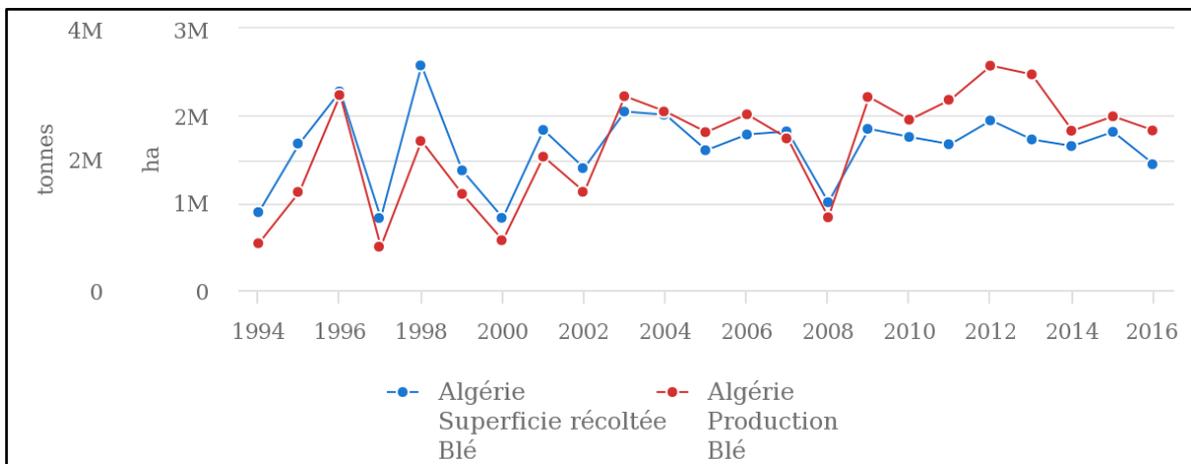


Figure 2. Production et superficie récoltées de blé en Algérie, moyenne 1994-2016 (FAOSTAT, 2018).

1.3. Origine du blé

1.3.3. Origine génétique

Le blé dur comme le blé tendre appartiennent au genre *Triticum*. Ce genre comporte de nombreuses espèces autres que le blé, qui se répartissent en trois groupes distincts selon leur nombre de chromosomes :

Le groupe diploïde ($2n = 14$ chromosomes) ou groupe de *Triticum monococcum* (engrain, en langage courant) ;

Le groupe tétraploïde ($2n = 28$ chromosomes) ou groupe de *Triticum dicoccum* (amidonnier), dans lequel on trouve *T. durum* (blé dur) ;

Le groupe hexaploïde ($2n = 42$ chromosomes) ou groupe de *Triticum sativum* (blé tendre), ou encore appelé *T. vulgare* (Anonyme, 1981).

1.3.2. Origine géographique

Selon Prats et Grandcount (1971), le blé a deux origines : l'Abyssinie et l'Afrique du Nord. Alors que pour Grignac (1978), le Moyen Orient est le centre générateur du blé, où il s'est différencié dans trois régions : le bassin occidental de la méditerranée, le sud de la Russie et le Proche Orient « Syrie et nord de la Palestine ».

1.4. Classification botanique

Le blé est une plante herbacée, appartenant au groupe des céréales à paille, qui sont caractérisée par des critères morphologiques particuliers. Le blé est une monocotylédone qui obéit à la classification au niveau du tableau suivant (Bonjean et Picard, 1990 ; Feillet, 2000).

Tableau 1. Classification botanique du genre *Triticum*

Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
S/Embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Monocotylédones</i>
Super Ordre	<i>Commeliniflorales</i>
Ordre	<i>Poales</i>
Famille	<i>Graminacée</i>
Tribu	<i>Triticeae</i>
Sous tribu	<i>Triticinae</i>
Genre	<i>Triticum</i>

1.5. Cycle de développement

Le cycle de développement du blé comporte trois phases (**Fig.3**): La période végétative, la période reproductrice et la période de maturation (**Anonyme, 1981**).

1.5.1. Période végétative

Cette période comprend les phases suivantes

- **Phase Germination** : c'est la phase première de la vie d'une plante qui assure la naissance d'une jeune plantule au dépend de la graine. Elle passe par la phase de l'imbibition de la graine, libération des enzymes et dégradation des réserves assimilables par la graine, ensuite la phase de croissance caractérisée par l'allongement de la racicule (**Gyot, 1978 ; Vertucci, 1989**).
- **Semi-levée**: C'est la phase de germination et de début de la croissance (**Anonyme, 1981**).
- **Phase Levée-Début tallage** : Elle est caractérisée par les apparitions successives à l'extrémité du coléoptile et la première feuille fonctionnelle, puis de la deuxième, troisième feuille etc. imbriquées les unes dans les autres, partant toutes d'une zone proche de la surface du sol (plateau du tallage) et reliées à la semence par le rhizome. Cette phase devient critique en cas d'attaque d'insectes ou de champignons telles que la septoriose (**Gyot, 1978 ; Vertucci, 1989**).

1.5.2. Période de reproduction

Cette période comprend deux phases:

- **Phase Tallage herbacé – Gonflement** : Elle comprend l'initiation florale, la différenciation de l'ébauche de l'épi, la différenciation des ébauches des glumes, la montaison ou élongation, la méiose ou réduction chromosomique et le gonflement.
- **Phase Epiaison – Floraison**: Cette phase correspond à l'épiaison (apparition des épis à l'extérieur), puis à la fécondation (ouverture des sacs polliniques), à la germination du pollen et à la fécondation de l'ovule. Cependant, la floraison consiste en l'éclatement des anthères qui libèrent le pollen ; les filets qui les portent s'allongent, cette opération entraîne à travers les glumelles entrouvertes, les sacs polliniques desséchés, à l'extérieur flotte alors tout autour de l'épi comme de petites fleurs blanches c'est l'ensemble de ces petites fleurs qui fait dire que « l'épi est fleuri » (**Prescott et al., 1987**).

1.5.3. Période de Maturation

Elle s'étend de la fécondation au stade de maturité du grain et se subdivise en deux phases:

- **Phase du grain pâteux:** Elle est appelée aussi phase du palier hydrique, où la graine accumule très fortement l'amidon dans son albumen, tout excès d'évaporation (ou tout déficit d'alimentation en eau) a pour effet de ralentir les synthèses et la migration des réserves nécessaires à la formation du grain, ce qui se traduit par la formation de grains ridés de poids inférieur à la normale (phénomène d'échaudage).
- **Phase de dessiccation:** elle correspond à la perte progressive de l'humidité du grain, la maturité au champ est entre 20 à 15% d'humidité (Shipton *et al.*, 1971 ; Weise, 1977 ; Eyal, 1999).

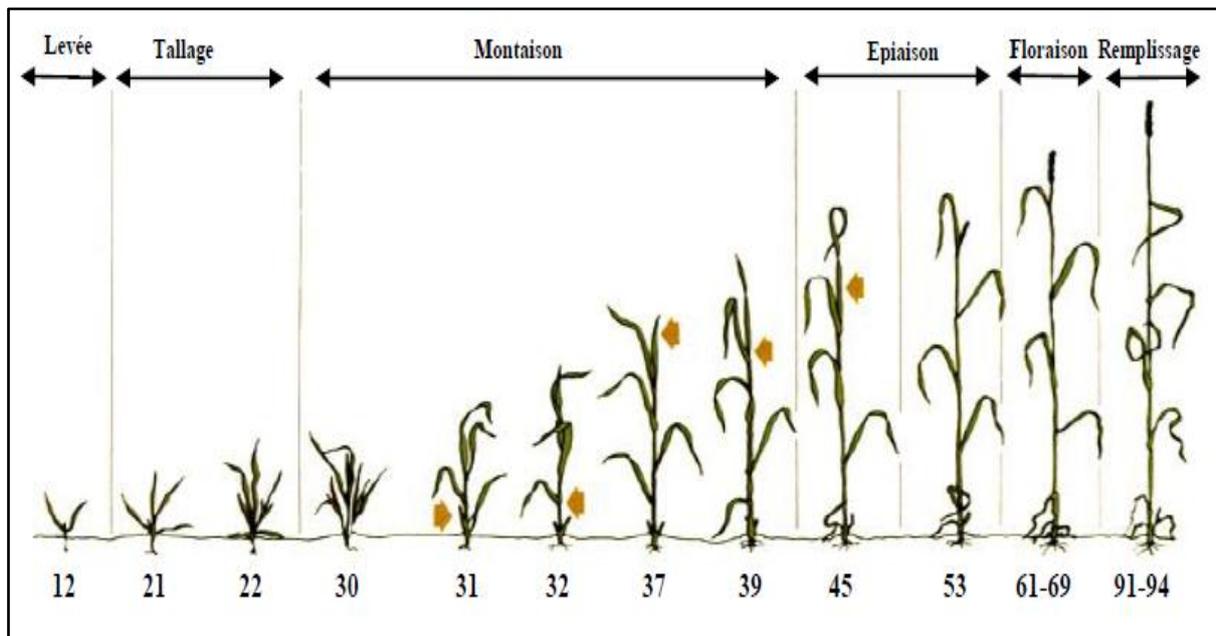


Figure 3. Les principaux stades de développement des céréales selon l'échelle de Zadoks (Zadoks, 1974 ; Gate, 1995).

1.6. Principales maladies du blé

Plusieurs types d'organismes peuvent être à l'origine des maladies. Parmi ceux-ci on peut citer les champignons, les virus, et les bactéries. Ces micro-organismes attaquent presque toutes les espèces cultivées, provoquant ainsi différents types de dégâts (Zahour, 1992). L'un des effets des maladies est la réduction de la biomasse totale et par suite le rendement. L'importance des pertes de rendement varie d'une année à l'autre selon les facteurs climatiques et les types variétés utilisées. Pendant les années normales les pertes de rendement sont estimées à 10 - 25% ou parfois même moins. Par contre, durant certaines années

pluvieuses, des épidémies peuvent se développer causant ainsi une destruction totale des variétés sensibles (**Zahour, 1992**).

1.6.1. Les virus

Ce sont des organismes microscopiques qui parasitent les cellules des plantes (**Laffont, 1985**). La pénétration des particules de virus dans la plantes se fait par des piqûres d'insectes ou d'autres vecteurs comme les nématodes ou par les champignons, en bref par des blessures (**Corbaz, 1990**).

Les symptômes provoqués par les virus varient beaucoup : taches ou anneaux chlorotiques, mosaïque, rougissement des feuilles, nécroses, enroulement des feuilles, nanisme de la plante (**Corbaz, 1990**).

1.6.2. Les bactéries

Ces organismes microscopiques sont constitués d'une seule cellule et se reproduisent par simple division et à très grande vitesse. Le caractère pathogène de certaines bactéries est d'ailleurs lié à leur extraordinaire capacité de se multiplier anormalement ou à leur possibilité génétique d'élaborer des substances dangereusement toxiques (**Laffont, 1985**).

1.6.3. Les champignons pathogènes du blé

Les champignons parasites sont responsable de mycoses dénommées de façon trop générale « maladies cryptogamiques ». Chez les végétaux, ces maladies se traduisent par des symptômes qui sont la résultante de l'action parasitaire du champignon et de la réaction de l'hôte (**Bailly, 1980**).

En absence de la plante-hôte, les champignons responsables des maladies des blés se conservent dans différents supports comme la semence, les débris et le sol, le mode de conservation est important à connaître, puisqu'il détermine, en partie la stratégie de lutte à adopter (**Ezzahiri, 2001**).

Les principales maladies cryptogamiques qui touchent le blé en Algérie d'après **Sayoud et al. (1999)** : les fusarioses, la tache bronzée du blé, l'oïdium, les rouilles et la septoriose.

CHAPITRE 2. LA TACHE SEPTORIENNE DU BLÉ

2.1. Description de la maladie

La septoriose (Septoria Leaf Blotch - SLB) est l'une des principales maladies foliaires du blé (*Triticum aestivum* et *Triticum durum*). Elle est causée par le champignon ascomycète connu sous les deux noms binomiaux *Mycosphaerella graminicola* (téléomorphe) et *Zymoseptoria tritici* (Quaedvlieg *et al.*, 2011), jusqu'à récemment l'anamorphe était dénommé *Septoria tritici*. La maladie est largement répandue dans le monde, notamment dans les régions où les conditions climatiques tempérées sont favorables au développement du champignon (Eyal *et al.*, 1987).

Sous un climat favorable au développement de la maladie, le rendement en grains des variétés de blé sensibles peut être réduit de 30 à 50% (Eyal, 1981).

2.2. Taxonomie et biologie

Il s'agit d'un champignon ascomycète caractérisé par un cycle de vie incluant une forme sexuée (télomorphe) et une forme asexuée (anamorphe). La première est appelée *Mycosphaerella graminicola*, mise en évidence par Sanderson (1976) en Nouvelle Zélande. Il appartient à la classe des *Loculoascomycètes*, ordre des *Dothidéales* a été récemment revu.

L'analyse phylogénétique de plusieurs gènes montre que le genre *Mycosphaerella* appartient désormais à l'ordre des *Capnodiales*. Il présente le genre le plus large chez les *Dothideales*. Il s'agit d'un ordre extrêmement large et divers de champignons avec plus que 1000 espèces. Hoorme *et al.* (2002) rapportent que les pseudothèces sont bruns sombres, la plupart du temps circulaires, légèrement immergés dans la gaine de la feuille, ayant une taille de 70 à 100 µm. Les asques mesurent 42 µm de long et chaque asque contient 8 ascospores.

Le téléomorphe a été identifié en Algérie pour la première fois par Harrat *et al.* en 2017 (Fig.4-C et D). Ces dernières ont deux cellules inégales irrégulières et de taille variable. La deuxième a été désignée par *Zymoseptoria tritici*. Cette forme est décrite pour la première fois en 1842 par Desmazière.

Récemment, les espèces du genre *Septoria* attaquant les céréales ont été regroupées sous le genre *Zymoseptoria* (Quaedvlieg *et al.*, 2011). L'espèce *Zymoseptoria tritici* appartient à la classe des *Deutéromycètes*, ordre des *Sphaeropsidales*, famille des *Sphaerioïdaceés*. Elle est caractérisée par des pycnides de forme globuleuses, de couleur qui devient de plus en plus foncée suivant leur stade de maturité, et encastrés dans les tissus de l'épiderme et du

mésophile. Ils libèrent les pycnidiospores. Ces dernières sont filiformes, enfermées dans des pycnides ayant une taille de 60 à 200 µm (Scharen, 1999).

Tableau 2. Classification de *Z. tritici* selon Quaedvlieg et al. (2011)

Classification	Appellation
Super-règne	<i>Eukaryota</i>
Règne	<i>Fungi</i>
Sous-règne	<i>Dikarya</i>
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Sous-phylum	<i>Pezizomycotina</i>
Classe	<i>Dothideomycetes</i>
Sous-classe	<i>Dothideomycetidae</i>
Ordre	<i>Capnodiales</i>
Famille	<i>Mycosphaerellaceae</i>
Genre	<i>Zymoseptoria</i>
Espèce	<i>Zymoseptoria tritici</i>

2.3. Symptomatologie de la maladie

Les études rapportant que la maladie de la tache septorienne du blé dans le monde remontent à plusieurs années ; les symptômes de cette maladie sont décrits par **Weber (1922)**, **Shipton et al. (1971)**, **Weise (1977)**, **Zillinsky (1983)** et **Eyal et al. (1987)**.

Dans la plu part des cas, la maladie attaque les feuilles basales sous forme de petites lésions chlorotiques en automne ou au printemps. Les taches de couleur vert clair, puis jaune, deviennent brunes à leur périphérie, tandis que le centre se dessèche en raison de la mort des tissus ; les nécroses sont très souvent allongées, délimitées par les nervures et parsemées de très nombreuses fructifications sous forme de points noirs ou bruns appelés pycnides (**Fig.4-A et Fig.5**). Les pycnides peuvent être observées sur les deux faces du limbe (**Eyal et al., 1987**).

Le téléomorphe *M. graminicola* se forme sur les tissus morts du limbe et de la gaine de l'hôte (**Pedersen, 1989**). Selon **Scott et al. (1988)**, les symptômes de la forme sexuée montrent des similitudes avec ceux de l'anamorphe *Z. tritici*, ce qui apprête à confusion (**Fig.4-c**).

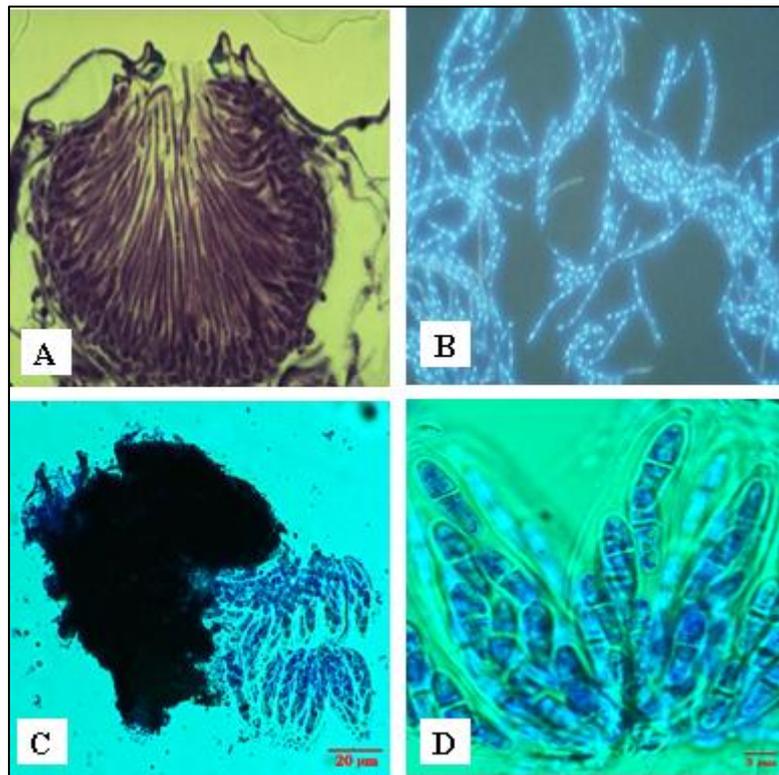


Figure 4. Structures fructifères de *Mycosphaerella graminicola* (anamorph : *Zymoseptoria tritici*).

A : Structure d'un pycnide de *Z. tritici*. B : Pycnidiospores. C : Pseudothéce de *M. graminicola*. D: Détail d'un asque contenant les ascospores (Ponomarenko *et al.* 2011 ; Harrat *et al.*, 2017) .



Figure 5. Symptômes de la maladie. Feuille de blé montrant les symptômes typiques de la septoriose (Kema *et al.*, 1996)

2.4. Epidémiologie de la maladie

Les résidus de cultures infectées sont une importante source d'inoculum primaire. Les pycnidiospores survivent dans les pycnides sur les chaumes infectés pendant plusieurs mois (**Fig.6**). Plusieurs études ont mis en évidence le rôle important des ascospores comme source d'inoculum primaire (**Sanderson et Hampton 1978 ; Suffert, 2011**).

Le rôle des ascospores comme source principale d'inoculum primaire a été montré en utilisant des jeunes plantes de blé comme piège biologique ; les jeunes plantes placées en plein champ dont le précédent cultural était le blé, exposé ainsi à l'inoculum local, ont montré une sévérité beaucoup plus importante de SLB que les plantes protégées contre l'inoculum aéroporté (**Shaw et Royle, 1989**).

Les pycnidiospores sont la source la plus commune de l'inoculum secondaire et peuvent rester viables pendant plusieurs mois à des températures comprises entre 15 et 20°C (**Wiese, 1987**). Le cirrhe, dans lequel les pycnidiospores sont libérées, les protège du rayonnement et de la dessiccation et stimule leur germination. Les spores produits pendant les périodes humides sont disséminées par la pluie à partir des débris ou des feuilles inférieures d'une culture aux étages foliaires supérieurs (transport vertical) ou les plants environnants (transport horizontal). Ce dernier mode de transport peut également se produire en l'absence d'éclaboussures des gouttelettes de pluie par contact avec la feuille (**Royle et al., 1995**).

Par ailleurs, le transport vertical des pycnidiospores par la pluie est affecté par la structure du couvert végétal (distance entre les feuilles, la longueur des limbes et de la posture) (**Eyal, 1999**).

2.5. Processus d'infection

L'espèce *Z. tritici* est un pathogène dimorphique. La transition de la forme sporale à la forme filamenteuse est alors importante pour l'initiation de l'infection.

Après l'adhésion, sur une feuille de blé, les spores sécrètent une matrice extracellulaire afin de maintenir leur attachement à la surface foliaire jusqu'à la germination et la pénétration de l'hôte. Sous des conditions d'hygrométrie suffisantes ainsi que des températures modérées, la germination des spores peut être initiée deux heures seulement après la contamination, par bourgeonnement d'un tube germinatif à partir des cellules apicales ou intermédiaires (**Duncan et Howard, 2000**). L'infection des tissus est initiée par la pénétration des tubes germinatifs dans les tissus de la plante. Cet événement a lieu rapidement habituellement dans les 24 - 48 h post inoculation (**Kema et al., 1996**).

Le mode de pénétration de l'hôte par *Z. tritici* a été très discuté dans la littérature et a fait l'objet de controverses. Tout d'abord, seules des pénétrations directes à travers la cuticule de la feuille ont été observées. Par la suite, **Kema *et al.* (1996)** et **Duncan et Howard (2000)** ont rapporté que la pénétration foliaire se fait presque exclusivement à travers les stomates. Cependant, **Shetty *et al.* (2003)** ont observé des tentatives de pénétration directe. Désormais, les deux modes de pénétration, directe et stomatique, sont recensés dans la littérature, et les pénétrations directes peuvent s'effectuer au niveau des parois périnclinales ou anticlinales des cellules de l'épiderme.

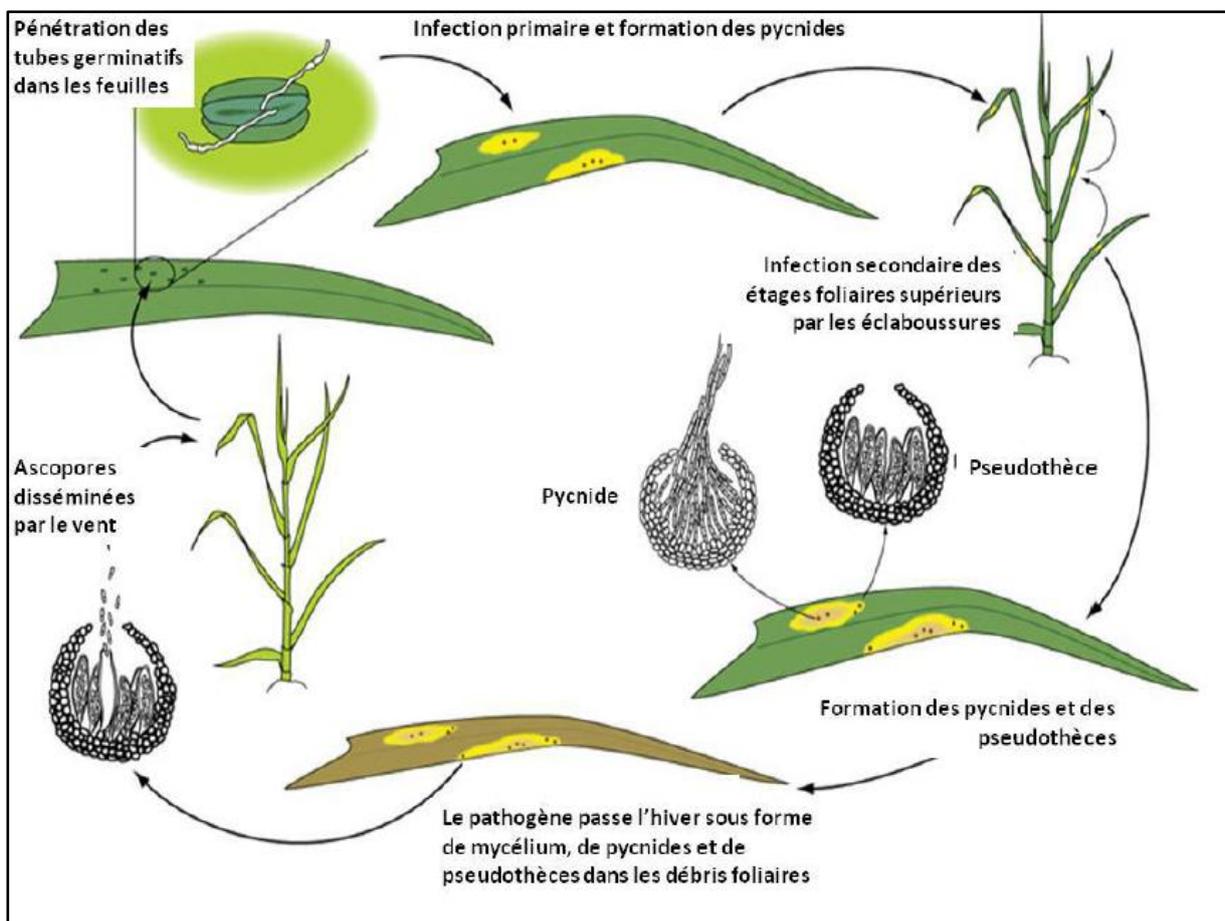


Figure 6. Cycle de développement de *Z. tritici* présentant les deux phases : sexuée et asexuée (Ponomarenko *et al.*, 2011)

2.6. Moyens de lutte

2.6.1. Utilisation de variétés résistantes

L'utilisation de variétés résistantes est le meilleur moyen pour lutter contre la tache septorienne du blé. *Z. tritici a* été une cible majeure pour les sélectionneurs de blé depuis sa prévalence (Torriani *et al.*, 2015).

2.6.2. Pratiques culturales

La lutte contre SLB inclut l'introduction d'un système de rotation des cultures ou l'élimination des débris contaminés par *M. graminicola* en brûlant les débris ou par le labour pour réduire le nombre d'ascospores susceptibles d'infecter la nouvelle culture (Murray *et al.*, 1998).

Les labours servent à enfouir profondément les débris végétaux dans le but de détruire les plantes-hôtes contaminées ; en revanche les pratiques culturales simplifiées favorisent la prolifération de la maladie. La fertilisation excessive notamment la fertilisation azotée (tallage abondant) est favorable au développement de la maladie (Maloy et Inglis, 1993).

Afin de réduire la quantité d'inoculum, la rotation en utilisant des cultures non-hôtes ne doit pas inclure de graminées pendant 3 à 4 ans ce qui permet la décomposition des résidus infectés. De même, la pratique des semis tardifs aide à réduire les attaques d'automne (Krupinsky, 1999 ; Ponomarenko *et al.*, 2011).

2.6.3. Lutte chimique

La lutte chimique a pour but d'éviter l'apparition de la maladie « traitement préventif » ou de la stopper « traitement curatif » (Fig.7), elle doit être raisonnée en tenant compte de la période de traitement, du produit utilisé, de la dose à appliquer, du spectre d'action de la matière active et de la période de couverture (rémanence).

La lutte chimique contre les agents phytopathogènes concerne essentiellement les champignons responsables des maladies fongiques des plantes. La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire. Il existe trois groupes de fongicides généralement utilisés dans la lutte contre les maladies fongiques des céréales : les fongicides QoI (Azoxystrobin, Pyraclostrobin et Trifloxystrobin) généralement connus sous le nom des strobilurines ; ils bloquent le transfert d'électron dans la chaîne respiratoire (Sierotzki, 2007). Les DMIs (epoxiconazole, cyproconazole et prothioconazole) sont apparus au cours des

années 1970, souvent connus comme le groupe des triazoles et des azoles. Ils ciblent la biosynthèse des stérols par l'inhibition des enzymes 14- α -steroldemethylase codés par le gène CYP51 (Siegel, 1981). Récemment des inhibiteurs de succinate dehydrogenase, fongicides à large spectre ont été introduits (Sierotzki et Scalliet, 2013).

Plusieurs études effectuées au champ et au laboratoire ont montré que *Z. tritici* a développé une résistance aux trois groupes de pesticides existants (Cools *et al.*, 2005).

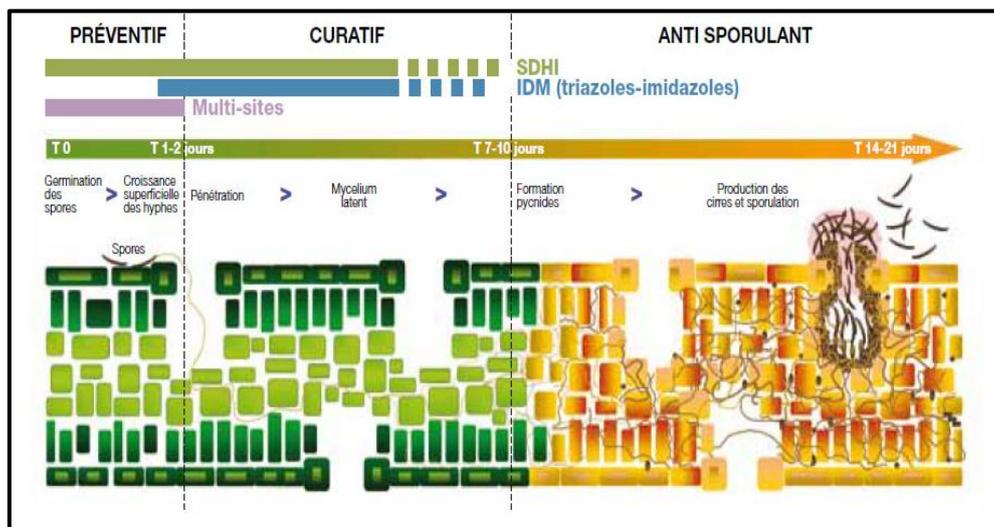


Figure 7. Les principales actions dans la lutte chimique
(Anonyme, 2005).

2.6.4. Lutte biologique

Le principe de la lutte biologique se base sur l'utilisation d'agents biologiques représentés par des organismes vivants antagonistes, appelés agents de lutte biologique qui peuvent être des virus, des bactéries ou des champignons, ils sont également appelés biopesticides.

La lutte biologique a pour but de maintenir la population d'organismes bio-agresseurs en dessous d'un seuil de nuisibilité (Milaire, 1995). On distingue trois stratégies de lutte biologique : la lutte classique (acclimatation d'agents auxiliaires introduits), augmentative (traitements répétitifs par des agents auxiliaires) et de conservation (promotion des agents auxiliaires existants). Ce procédé de lutte non polluant permet de réguler un problème donné, de façon efficace sans engendrer des effets néfastes à la santé humaine ni à l'environnement.

On a recours à la lutte biologique, quand la lutte chimique raisonnée ne donne pas les résultats escomptés (Bérubé, 2010).

6.4.1. La lutte biologique par *Trichoderma* sp.

Certaines souches appartenant au genre *Trichoderma* sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols. Les sols inoculés protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Bojanowski, 2011).

6.4.2. Description et morphologie

a. Description : le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons filamenteux, imparfaits, saprophytes qui décompose naturellement la cellulose et à un degré moindre, la lignine. On le reconnaît facilement en culture grâce à la couleur généralement verdâtre de ses spores et le port typique de ses phialides. Les *Trichoderma*, surtout en sols acides, sont des antagonistes importants et des destructeurs de sclérotés (*Sclerotinia*). Leur température optimale de croissance se situe entre 25°C avec un minimum de 0°C et un maximum de 30 à 37°C (Milaire, 1995).

b. Habitat : *Trichoderma* est un champignon cosmopolite. Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions chimiques et climatiques, il est très répandu dans la nature. En effet, les *Trichoderma* sp. sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, élément majeur dans la microflore terrestre et marine Hibar *et al.* (2005)

Les *Trichoderma* sp. Terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) à toutes les latitudes et sur les végétaux en décomposition (Alabouvette *et al.*, 1986).

c. Taxonomie

Selon Lieckfeldt *et al.* (2001) la classification usuelle du genre *Trichoderma* est définie dans le tableau suivant :

Tableau 3. Classification du genre *Trichoderma*

Règne	<i>Fungi</i>
Embranchement	<i>Eumycètes</i>
S/Embranchement	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Sordariomycètes</i>
Super Ordre	<i>Hypocreomycotidae</i>
Ordre	<i>Hypocréales</i>
Famille	<i>Hypocraceae</i>
Genre	<i>Trichoderma</i>

d. Cycle de vie

Les espèces du genre *Trichoderma* ont une reproduction exclusivement asexuée. En effet, après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium correspondant à la conidiogenèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite (Hibar *et al.*, 2005).

e. Le pouvoir antagoniste et mode d'action des *Trichoderma*

Les propriétés antagonistes du genre *Trichoderma* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. Cependant l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales. Les modèles étudiés s'intéressaient essentiellement aux parasites du sol mais déjà en 1952, Wood signalait l'efficacité de *T. harzianum* pour contrôler *Botrytis cinerea* sur la laitue.

Les espèces de *Trichoderma* ont la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action.

- **L'antibiose** : mécanisme résultant de la production de substances qui agissent comme des antibiotiques et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène.
- **La compétition** : mécanisme qui se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables.

- **Le parasitisme** : résulte de la destruction de l'agent pathogène lorsque de *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant ; en pénétrant à l'intérieure et ou en lui injectant des substances (enzymes) qui le détruisent (**Milaire, 1995**).

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de l'INRA – URC (Institut National de Recherche Agronomique – Unité de Recherche Constantine). Il porte sur l'étude et la lutte biologique et chimique contre l'agent causale de la maladie de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* ».

1. Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué du matériel pathogène « *Zymoseptoria tritici* » et antagoniste « *Trichoderma sp.* » testés dans ce travail.

1.1. Matériel fongique pathogène

Le matériel fongique pathogène est représenté par deux isolats de *Z. tritici*.

- **ZT₁** : isolé à partir d'un champ de blé dur de la commune Grarem Gouga dans la wilaya de Mila.
- **ZT₂**: isoler à partir d'un champ de blé tendre de la commune d'El Khroub, wilaya de Constantine.

1.2. Matériel Fongique antagoniste

Le matériel fongique antagoniste est représenté par deux isolats de *Trichoderma*.

- **Tr1**: isolé à partir du sol supposé par observation microscopique comme *T. viridae* ;
- **Trb**: isolé à partir de grain de blé dur.

2. Isolement du pathogène *Z. tritici*

Des prospections réalisés avec l'équipe de l'URC dans les wilayas de Constantine et Mila. Des échantillons présentant les symptômes caractéristiques de la tache septorienne sont prélevés dans des sacs en papier et transportés au laboratoire pour l'isolement.

2.1. Désinfection des échantillons

Après l'examen visuel de l'organe affecté par l'agent pathogène, des portions de feuille affectée par la septoriose contenant des lésions avec des pycnides caractéristiques, sont découpées séparément en petits fragments de 3 cm.

Désinfection se fait par trempage dans de l'eau javellisée à 2% pendant 3min, puis deux rinçages dans l'eau distillée stérile pendant quelques minutes afin d'éliminer toute trace d'hypochlorite de sodium (**Fig.8-A**).

2.2. Séchage de l'échantillon

Le séchage se fait dans des conditions d'asepsie. Les fragments sont déposés sur papier buvard stérile pendant quelques minutes jusqu'à obtention de fragments totalement secs (**Fig.8-B**).

2.3. Méthode de chambre humide

Cette méthode est utilisée pour stimuler l'exsudation des cirrhes. Les échantillons sont placés en condition d'asepsie dans des boîtes de Pétri en verre, contenant du papier buvard et humidifiées par de l'eau distillée stérile (**Fig.8-C**). Les boîtes sont par la suite incubées dans l'étuve pendant 24h à 20°C.

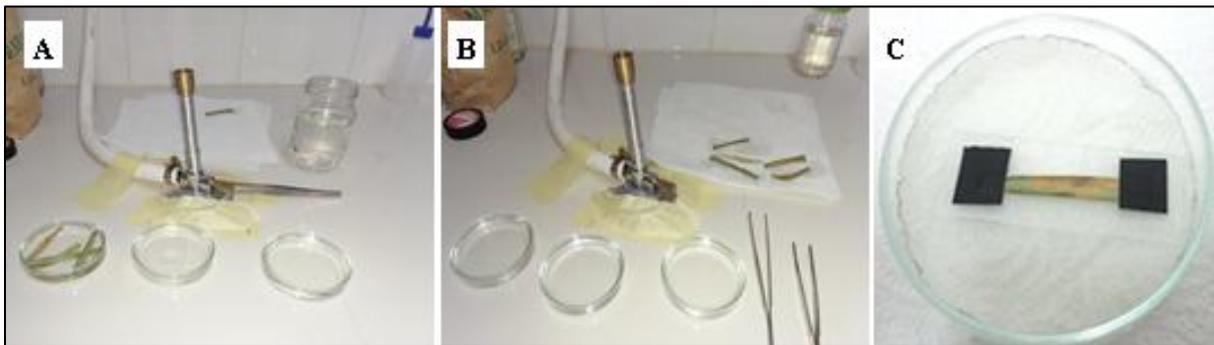


Figure 8. Préparation de la méthode chambre humide. (A) désinfection ; (B) séchage ; (C) Méthode de chambre humide.

2.4. Prélèvement des cirrhes

Au bout des 24h, les exsudats sont observés sous binoculaire à l'aide d'une pipette pasteur aiguillée, le cirrhe d'une pycnide est prélevé puis déposé sur milieu de culture YMA (**Annexe ; Fig.9**).

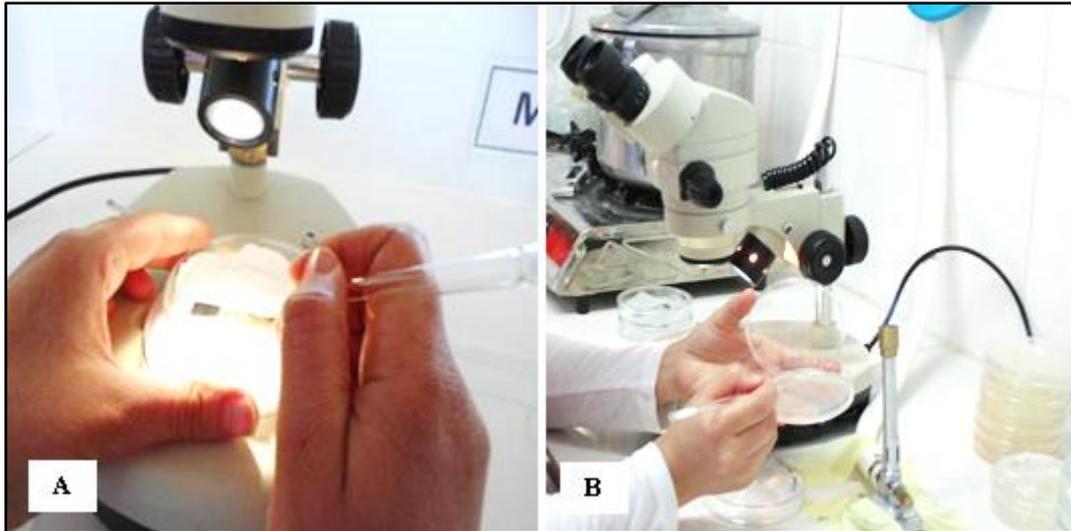


Figure 9. Isolement des cirrhes de *Z. tritici* sur milieu YMA. (A) Prélèvement des exsudats ; (B) ensemencement sur milieu solide.

2.5. Observation microscopique

L'observation microscopique est réalisée au grossissement ($G : 10 \times 40$) en utilisant du bleu de méthylène.

3. Essai de lutte *in vitro*

Le dispositif adopté pour cette étude est en randomisation totale. Pour cela des flacons de 250 ml contenant 100 ml de milieu de culture (YM^+ - Yeast Malt plus 50 mg/l d'amoxicilline) mélangé avec les produits antifongique (produits chimiques et métabolites secondaires de *Trichoderma*), auxquels sont ajoutés 10 disques du stroma d'une culture homogène de *Z. tritici* âgée de 7 jours cultivée sur milieu YMA.

Le dispositif est composé de 22 flacons (**Fig.10**):

- 02 flacons du milieu de culture (YM^+) sans inoculum du pathogène ;
- 02 flacons témoins inoculés par Zt_1 ;
- 02 flacons témoins inoculés par Zt_2 ;
- 02 flacons inoculés par Zt_1 , avec la présence du Falcon ;
- 02 flacons inoculés par Zt_2 , avec la présence du Falcon ;
- 02 flacons inoculés par Zt_1 , avec la présence d'Artea ;
- 02 flacons inoculés par Zt_2 , avec la présence d'Artea ;

- 02 flacons inoculés par Zt₁, avec la présence des métabolites secondaires du Tr1 ;
- 02 flacons inoculés par Zt₂, avec la présence des métabolites secondaires du Tr1 ;
- 02 flacons inoculés par Zt₁, avec la présence des métabolites secondaires du Trb ;
- 02 flacons inoculés par Zt₂, avec la présence des métabolites secondaires du Trb.

Les flacons sont incubés à 20-23°C pendant 10 jours en agitation à raison de 170 tours/min (Fig.10).



Figure 10. Incubation des flacons en agitation

3.1. Lutte chimique

Les formulations utilisées dans cet essai ainsi que les concentrations utilisées sont mentionnées au niveau du tableau suivant :

Tableau 4. Caractéristiques des produits chimiques testés

Produit	Formulation	Culture	Cible	Dose	Dose/100ml de milieu de culture
Falcon	Spiroxamine (250g/l), tébuconazole (167g/l) et triadiménol (43g/l).	Céréales (blé dur et blé tendre)	Septoriose	0,8 l/ha	260 µl
Artea330	Cyproconazole (80 g/l), Propiconazole (250 g/l).	Céréales (blé dur et blé tendre)	Septoriose	0,4 l/ha	130 µl

3.1.1. Préparation des formulations

Les produits sont filtrés à l'aide d'un microfiltre à 0,2 μm avant de mélanger la quantité calculée au milieu de culture YM^+ autoclavé 20 min à 120°C et refroidi à 40°C.

3.2. Lutte biologique

3.2.1. Préparation des métabolites secondaires

Les isolats de *Trichoderma* (Tr1etTrb) sont cultivés sur milieu PDA (**Annexe**) pendant 07 jours. 15 disques de 6 mm sont prélevés de ces cultures, puis déposés dans un milieu liquide à base de bouillie de pomme de terre et de glucose. Les fioles sont par la suite incubées à 20°C pendant 10 jours en agitation (170 tours/min).

Au bout des 10 jours deux types de filtration sont réalisées (**Fig.11**):

- 1^{ère} : A l'aide de papier filtre pour séparer le mycélium.
- 2^{ème} : A l'aide d'un filtre de 0,2 μm pour séparer les spores et d'autres microorganismes contaminants.

Les fioles contenant les métabolites secondaires sont stockées à 6°C avant l'utilisation.

Une seule dose de métabolites secondaires est testée soit 25 ml par 100 ml.



Figure 11. Méthode de filtration des métabolites secondaires. (A) filtration par papier filtre du mycélium de *Trichoderma* ; (B) filtration par microfiltre.

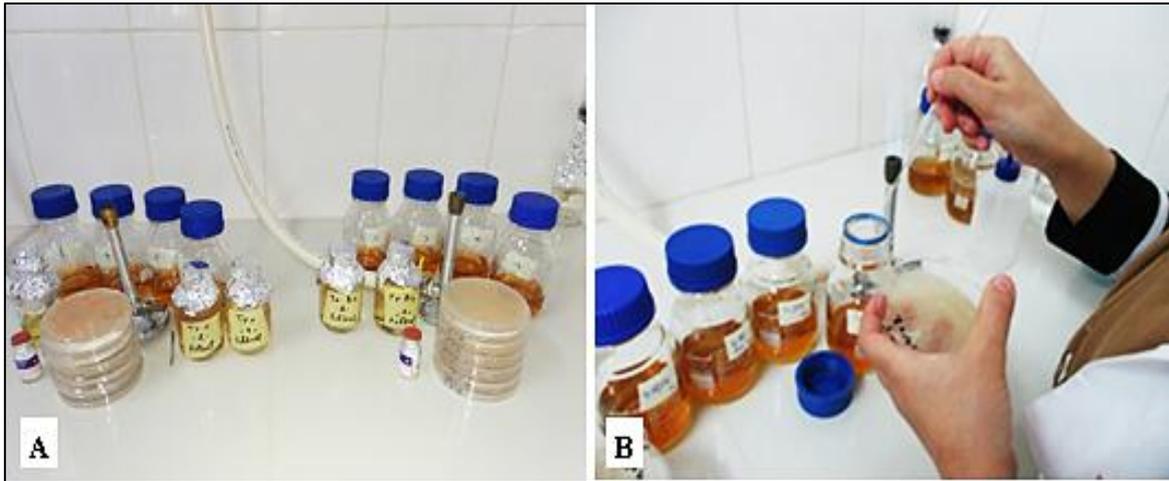


Figure 12. Préparation du dispositif. (A) Préparation des mélanges pour les deux types de lutte ; (B) Inoculation des flacons par des disques de *Z. tritici*.

4. Méthode de dénombrement cellulaire

Le dénombrement cellulaire est réalisé selon deux méthodes : la numération sur lame (cellules de Malassez) et les dilutions en série suivies d'étalement sur milieu solide ou la turbidimétrie avec un spectrophotomètre.

4.1. Cellule de Malassez

C'est une méthode de mesure directe du nombre de cellules sous microscope.

A partir d'un volume connu d'une suspension du pathogène on peut faire une numération totale des cellules au microscope. On utilise une lame spéciale appelée « cellule de Malassez ».

Cette cellule permet le comptage de différents types de cellules animales ou végétales et des spores.

Le dénombrement est réalisé sur la totalité des flacons inoculés par *Z. tritici*.

Pour réaliser le remplissage de la cellule, il faut :

- Humidifier les glissières latérales sur lesquelles va reposer la lamelle ;
- Déposer la lamelle sur les rebords, celle-ci doit adhérer par un "effet ventouses" ;

Placer l'extrémité de la pipette contre la lamelle et délivrer par capillarité le liquide en évitant tout débordement vers les rigoles ;

La totalité de la cellule est composée de 100 rectangles dont les dimensions sont :

- Longueur = 0,25 mm
- Largeur = 0,20 mm
- Profondeur = 0,20 mm

Soit un volume total de la cellule est de 1 mm^3 ($2,5 \times 2 \times 0,20$).

Le quadrillage est constitué de 10 bandes verticales de 0,25 mm de large et de 10 bandes horizontales de 0,20 mm de large formant ainsi 100 rectangles, on ne comptera les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule.

On totalise le nombre de cellules présentes dans chaque rectangle, arbitrairement, il est convenu de ne tenir compte que des cellules positionnées sur les côtés droits et inférieurs.

On fait ensuite la somme des cellules observées dans chaque rectangle, on divise ce nombre par 10 (nombre de rectangles comptés), on obtient ainsi le nombre de cellules par rectangle, il suffit de multiplier le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre d'entités cellulaires par mm^3 .



Figure 13. Cellule de Malassez.

4.2. Turbidimétrie

Cette technique consiste à mesurer la lumière absorbée par les différentes suspensions du test à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 620 nm (**Fig.14**). Des dilutions sont réalisées afin de réaliser une courbe d'étalonnage de l'absorption en fonction des concentrations cellulaires (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}). L'absorbance est proportionnelle à la concentration cellulaire.

4.2.1. Principe de la méthode

Lorsque des cellules sont en suspension dans un milieu liquide traversé par un faisceau lumineux monochromatique, la quantité de lumière absorbée et dispersée par la suspension dépend de la concentration des cellules et de leur taille.

La relation entre absorbance et concentration en cellules est linéaire dans une gamme de concentrations couvrant environ un ordre de grandeur. Si on connaît la droite représentant l'absorbance de la suspension en fonction de la concentration en cellules, il suffit de mesurer l'absorbance d'une suspension de concentration inconnue pour déterminer graphiquement le nombre de cellules qu'elle contient.

En partant d'une suspension contenant un nombre de cellules connu, on peut aisément construire cette droite, appelée droite étalon. Pour cela, on réalise une gamme de dilutions déterminée de la suspension connue et l'absorbance de chaque dilution est mesurée avec un spectrophotomètre. La droite : **Absorbance = f (concentrations en cellules)** est alors construite.

La concentration en cellules de la suspension servant à construire la droite d'étalonnage on la détermine au préalable avec le dénombrement des unités formant des colonies sur milieu solide.

La détermination de la concentration en cellules d'une suspension de concentration inconnue, on mesure l'absorbance d'un échantillon, après dilution, et on reporte la valeur obtenue sur la droite d'étalonnage pour en déduire sa concentration.

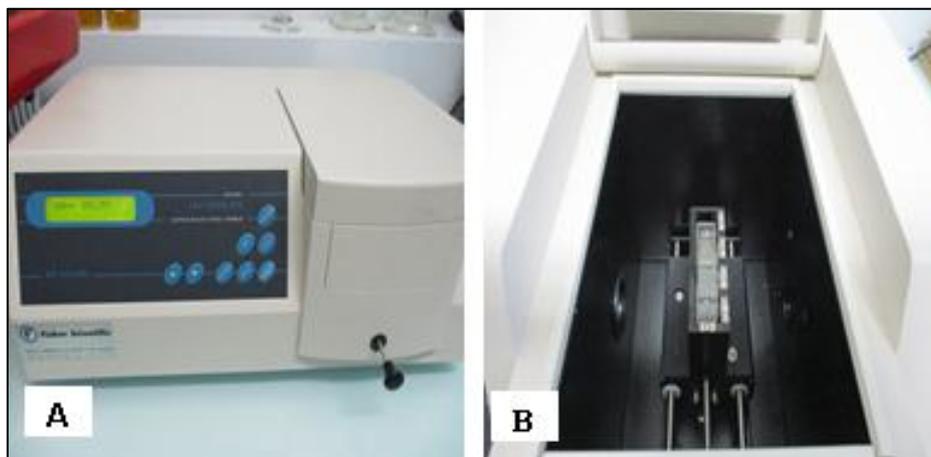


Figure 14. (A) Spectrophotomètre ; (B) Pose des échantillons de suspension de *Z. tritici*.

4.2.2. Dénombrement sur milieu gélosé

Le principe des dénombrements sur milieu gélosé est basé sur l'aptitude de *Z. tritici* à donner des colonies en aspect de colonies bactériennes, fixée par la solidification du milieu, à se multiplier et à former une colonie visible à l'œil nu.

En fait, une partie des colonies provient de la croissance concertée d'amas fongique, soit donc de plusieurs spores non dissociées. Ce qui induit un dénombrement par défaut. C'est pourquoi, dans ce type de dénombrement on désigne les colonies par UFC (Unité Formant une Colonie).

De chaque dilution 1 ml est prélevé etensemencé sur milieu solide (YMA⁺). Après incubation à 20°C pendant 7 jours, le comptage des colonies apparues dans chaque boîte de Pétri donne l'UFC. Statistiquement, seules les boîtes comportant des nombres moins de 300 colonies sont prise en compte.

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1. Caractérisation du pathogène *Zymoseptoria tritici*

La septoriose s'identifie par des nécroses allongées et délimitées par les nervures. Les nécroses sont très souvent allongées, parsemées de très nombreux points noirs qui représentent les fructifications asexuées appelées pycnides (**Fig.15**).

Au cours des isollements, sous conditions de chambre humide, différents aspects des cirrhes exsudés sont observés. Il peut être blanchâtre ou marron claire, de forme globuleuse ou en fil fin et enroulé (**Fig.15**).

Les observations phénotypiques de l'aspect cultural des colonies obtenues des isollements de *Z. tritici* sur milieu solide YMA âgées de 5 jours montrent une couleur rosâtre ont une texture crémeuse « Yeast Like » (**Fig.16**).

Les spores contenues dans des pycnides issus de la forme asexuée. Les pycnidiospores sont hyalines, étroites, courbes et filiformes. Les pycnidiospores peuvent être présentes sous deux formes à l'intérieur de la pycnide, les macropycnidiospores, présentent 3 à 5 cloisons et les micropycnidiospores non cloisonnées (**Fig.17**).

Les observations microscopiques des deux isolats testés montrent un aspect microscopique différent concernant la forme des spores, comme le montre la figure 18.

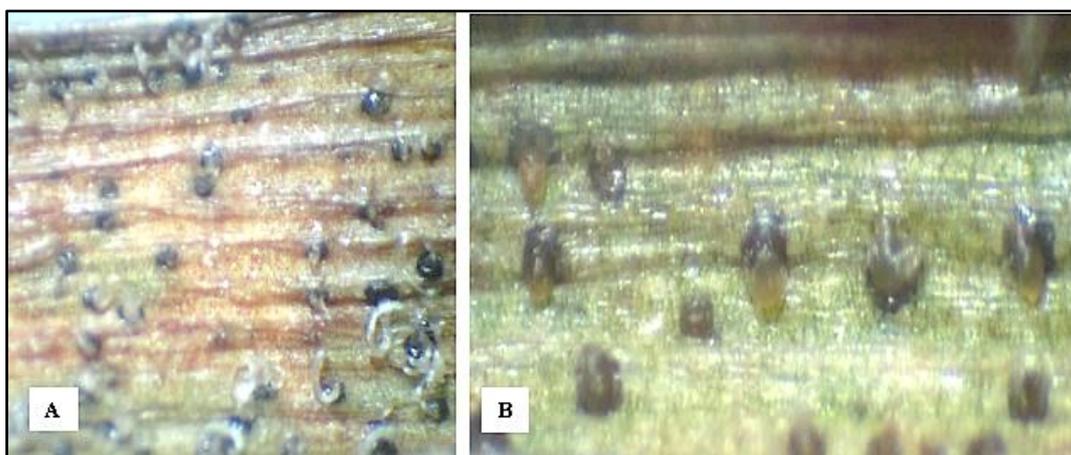


Figure 15. Symptômes de *Z. tritici* avec pycnides et cirrhe. (A) cirrhes en fil fin enroulé ; (B) cirrhes de forme globuleuse.

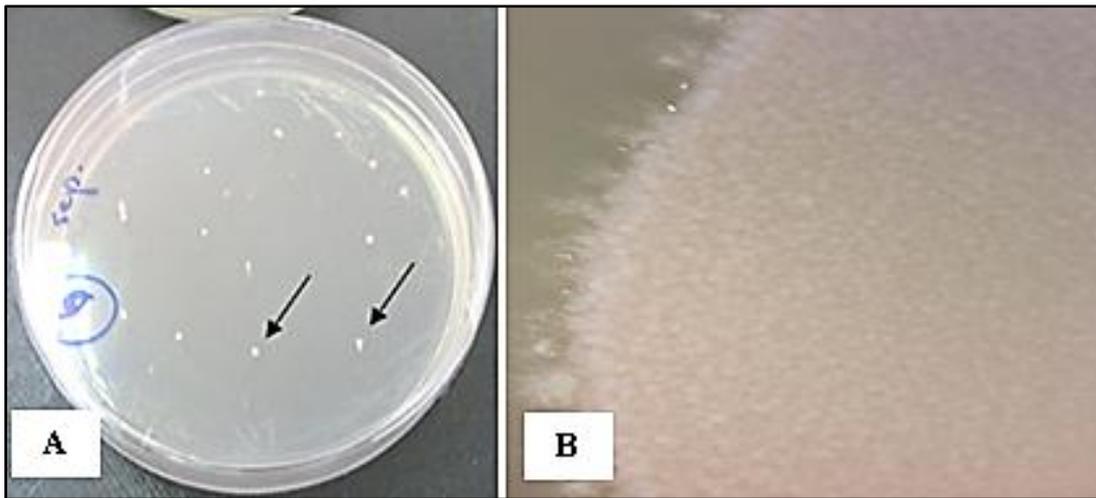


Figure 16. Aspect cultural des colonies de *Z. tritici* sur YMA. (A) obtenues des isolements ; (B) Stroma de *Z. tritici* après ensemencement.

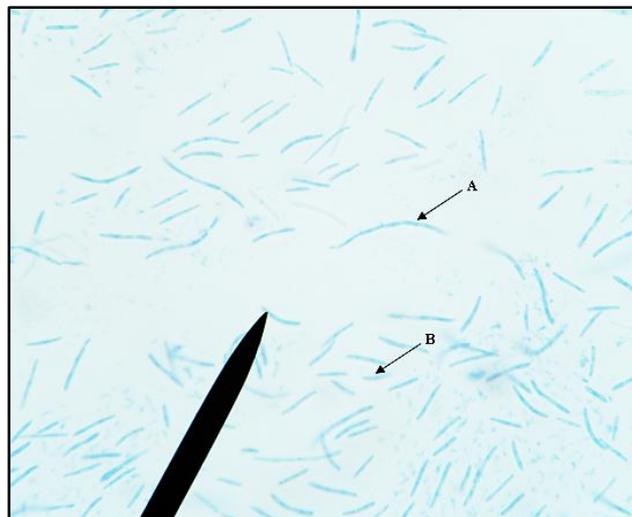


Figure 17. Pycnidiospores de *Z. tritici*. (A) macropycnidiospore ; (B) micropycnidiospore.

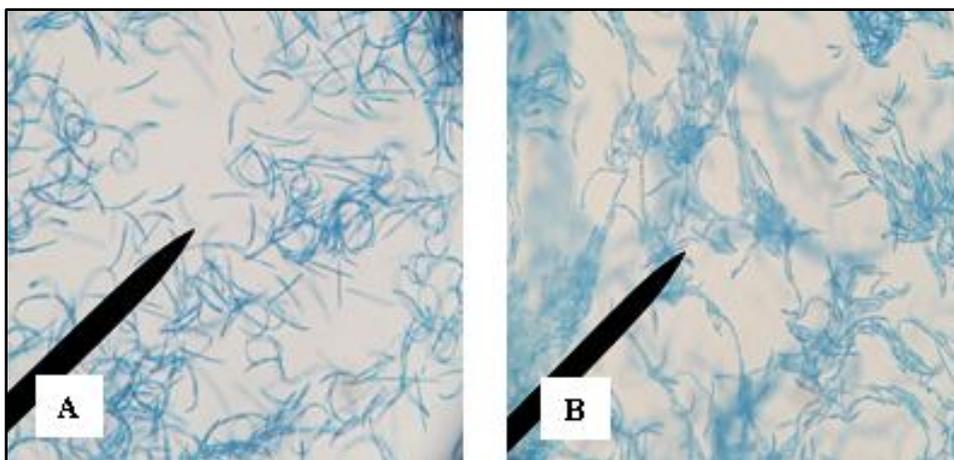


Figure 18. Aspect microscopique des pycnidiospores de (A) Zt1 et (B) Zt2.

1.2. Caractérisation des isolats antagonistes « *Trichoderma* »

La culture est caractérisée par la présence d'un mycélium blanchâtre au départ qui devient verdâtre après la sporulation. Les spores sont rondes et lisses. Le mycélium est constitué d'hyphes septées et ramifiées à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale, ils sont ramifiés et portent des phialides en forme de flasque ou de quilles qui portent les spores (**Fig.19**).

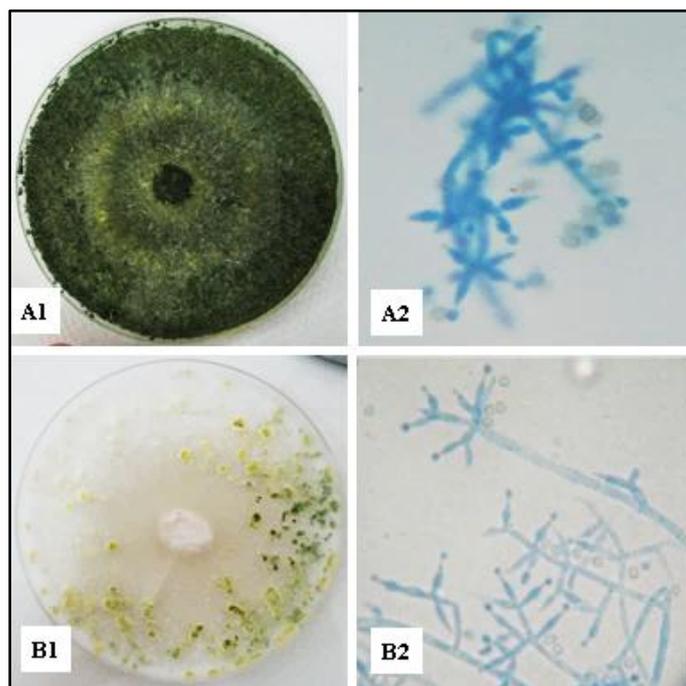


Figure 19. Caractérisation morphologique (1) et microscopique (2) des isolats de *Trichoderma*. (A) Tr1 ; (B) Trb.

1.3. Résultats du dénombrement cellulaire

Afin d'évaluer l'effet des différents traitements antifongiques (chimiques et biologiques), deux méthodes ont été testées à savoir le comptage par cellule de Malassez et turbidimétrie.

1.3.1. Cellule Malassez

Le comptage à l'aide de la cellule de Malassez, permet d'estimer le nombre de spores produits dans 1 ml de milieu de culture par conséquent l'évaluation du taux d'inhibition des différentes formulations antifongiques (**Fig.20**).



Figure 20. Exemple de vue microscopique du comptage à l'aide d'une cellule de Malassez.

1.3.1.1. Lutte chimique

Concernant le Zt1 le taux d'inhibition le plus élevé est noté au niveau de la formulation Artea avec 88,66%. Il n'existe pas une grande différence entre les deux formulations, celui du Falcon est de 87,08% d'inhibition (Fig. 21; Tab.5). Pour le Zt2 le produit Artea est plus efficace contre le développement de *Z. tritici*, soit 91,79% d'inhibition par rapport au Falcon (87,20%). L'isolat Zt1 est plus résistant aux fongicides testés que le Zt2.

Tableau 5. Nombre de spores de *Z.tritici* par ml et taux d'inhibition en lutte chimique

Traitements	Spores/ml		Taux d'inhibition (%)	
	Zt1	Zt2	Zt1	Zt2
Témoin	$49,4 \times 10^5$	$41,4 \times 10^5$	-	-
Falcon	$6,4 \times 10^5$	$5,3 \times 10^5$	87,04	87,20
Artea	$5,6 \times 10^5$	$3,4 \times 10^5$	88,66	91,79

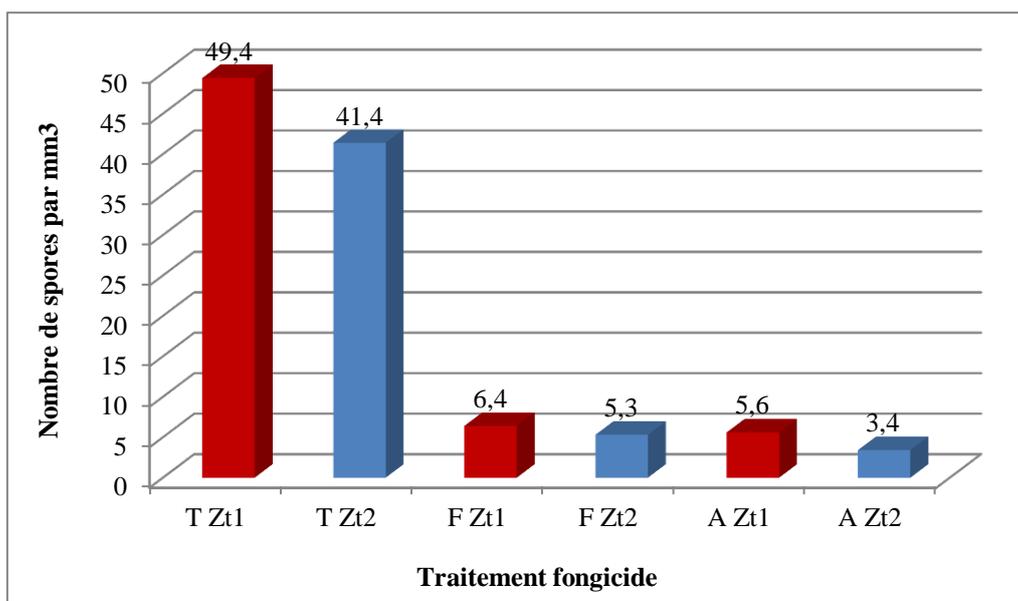


Figure 21. Nombre de spores par mm³ de *Z. tritici* en fonction des traitements chimiques (T : témoin ; F : Falcon ; A : Artea).

1.3.1.2. Lutte biologique

Les métabolites secondaires des deux isolats de *Trichoderma* testés montrent une grande efficacité antagoniste contre le développement les isolats de *Z. tritici* (Tab.6 ; Fig.22).

Le Tr1 est plus efficace que le Trb avec un taux d'inhibition de 89,68% concernant le Zt1 et 62,15% d'inhibition pour le Zt2.

Contrairement à la lutte chimique le Zt2 montrent une résistance aux métabolites testés par rapport à Zt1.

Tableau 6. Nombre de spores de *Z. tritici* par ml et taux d'inhibition en lutte biologique

Traitements	Spores/ml		Taux d'inhibition (%)	
	Zt1	Zt2	Zt1	Zt2
Témoin	49,4 × 10 ⁵	41,4 × 10 ⁵	-	-
Tr1	5,1 × 10 ⁵	7,1 × 10 ⁵	89,68	82,85
Trb	18,7 × 10 ⁵	20,8 × 10 ⁵	62,15	49,76

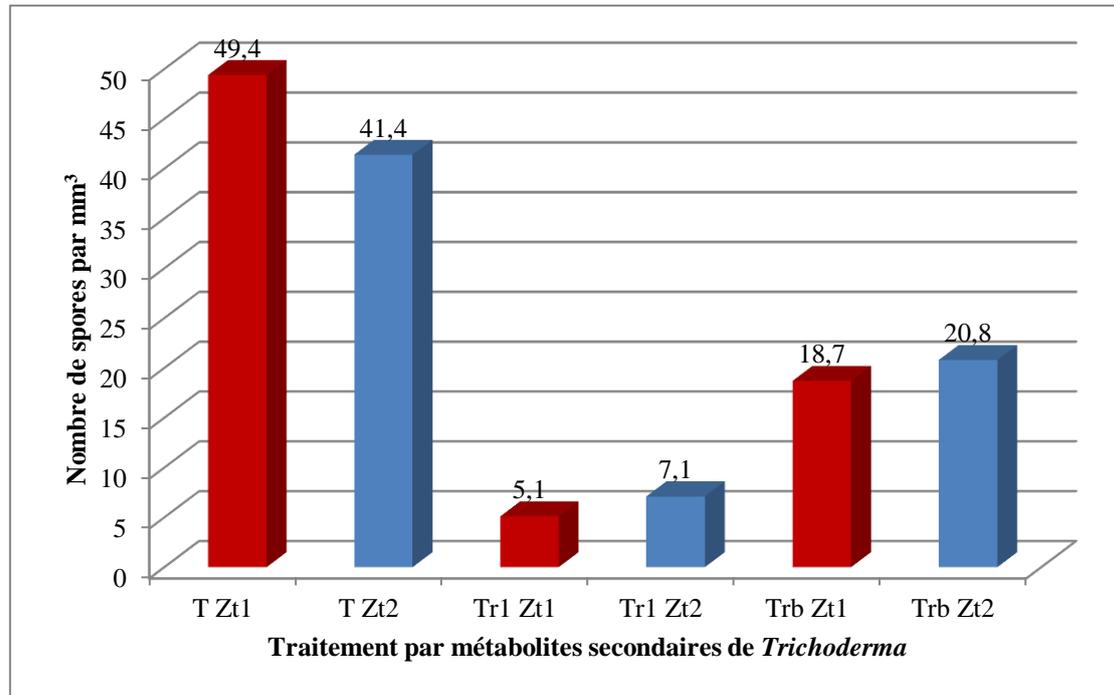


Figure 22. Nombre de spores par mm³ de *Z. tritici* en fonction des métabolites secondaires de *Trichoderma* testés (T : témoin).

1.3.2. Mesure de turbidimétrie

1.3.2.1. Mesure de l'absorption (A)

Plus un isolat de *Z. tritici* se développe dans un milieu liquide il devient trouble à cause de la formation de voile. On mesure la turbidimétrie à l'aide un spectrophotomètre (mesure de l'absorption). Dans des conditions techniques précises, l'absorbance est proportionnelle à la concentration cellulaire.

Concernant le développement de l'isolat Zt1, la valeur de l'absorption notée au niveau des échantillons contenant d'Artea est la plus faible (0,286) par rapport au témoin (0,584). Ceci démontre l'efficacité de cette formulation sur l'isolat testé (**Fig.23**). Les résultats d'absorption, des deux échantillons contenant les deux formulations, démontrent une efficacité similaire des deux produits, à celle notée au niveau de Zt1, sur le développement de l'isolat Zt2 (**Fig.24**).

Les métabolites secondaires du Tr1 inhibent plus le Zt2 (0,160) que le Zt1 par rapport à son témoin (0,651). Contrairement aux métabolites du Trb qui sont plus efficace contre le Zt1(0,283) que le Zt2 (**Fig.23 ; 24**).

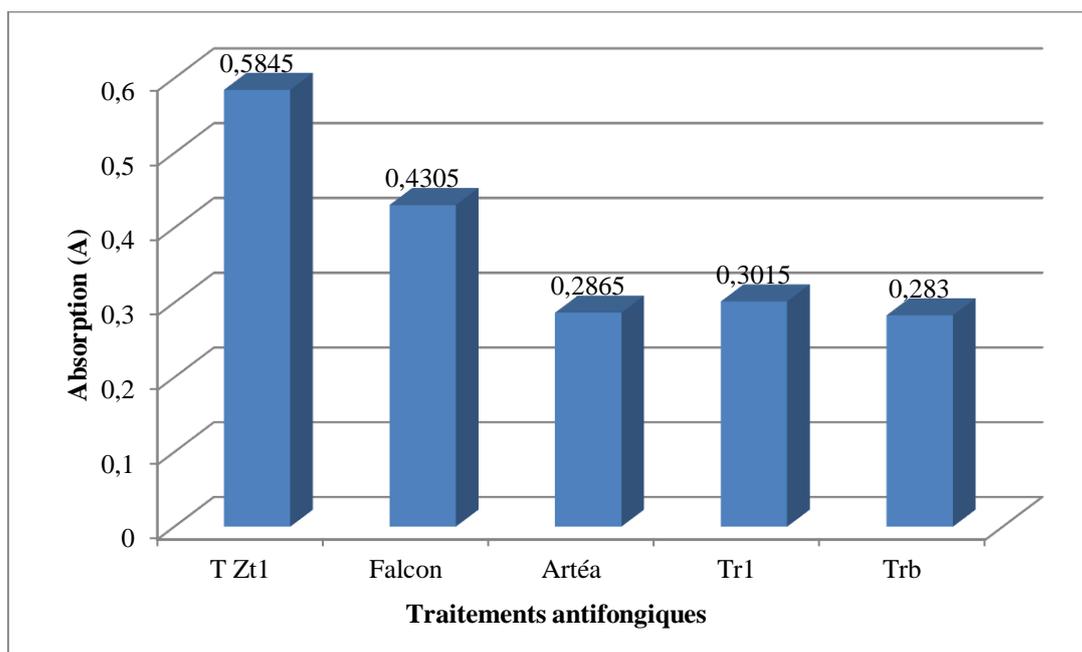


Figure 23. Valeurs de l'absorption en fonction des traitements antifongiques testés contre l'isolat Zt1.

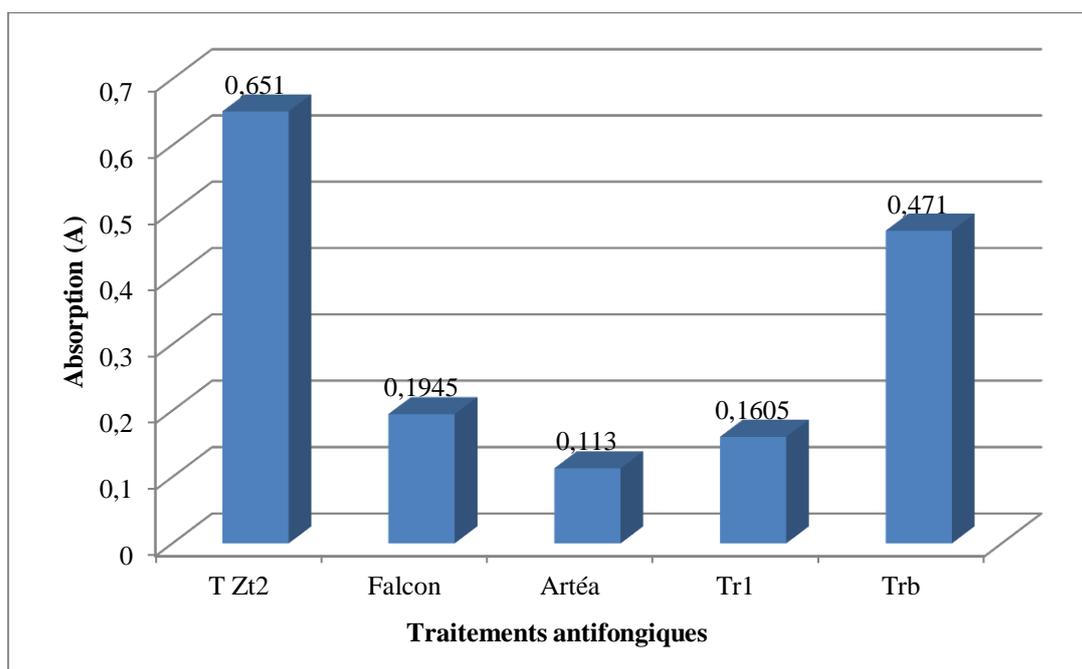


Figure 24. Valeurs de l'absorption en fonction des traitements antifongiques testés contre l'isolat Zt2.

1.3.2.2. Conversion de l'absorption en nombre de colonies

Les résultats du dénombrement du nombre de colonies issues de la culture de l'ensemble des dilutions sur milieu solide (**Fig. 25**) sont mentionnés au niveau du tableau 7.

Des nuages de points ainsi que les courbes de tendances (**Fig. 26 ; 27**) sont réalisées pour le nombre de colonies en fonction de l'absorption pour les dilutions (10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3}).

Les résultats des traitements antifongiques concernant l'isolat Zt1 révèlent que l'Artea est le meilleur inhibiteur en lutte chimique avec un taux d'inhibition de 50,38%, de même pour le Trb en lutte biologique (50,97%).

L'Artea est le produit le plus efficace en lutte chimique contre l'isolat Zt2 avec 85,93% d'inhibition. En lutte biologique c'est le Tr1 qui montre plus d'efficacité avec un taux d'inhibition de 78,35% (**Fig.28**).

Tableau 7. Nombre de colonies en fonction des dilutions en culture sur milieu solide

Isolat	Dilution				
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
T ₁ Z T ₁	40	17	5	3	0
T ₂ Z T ₁	35	6	2	0	0

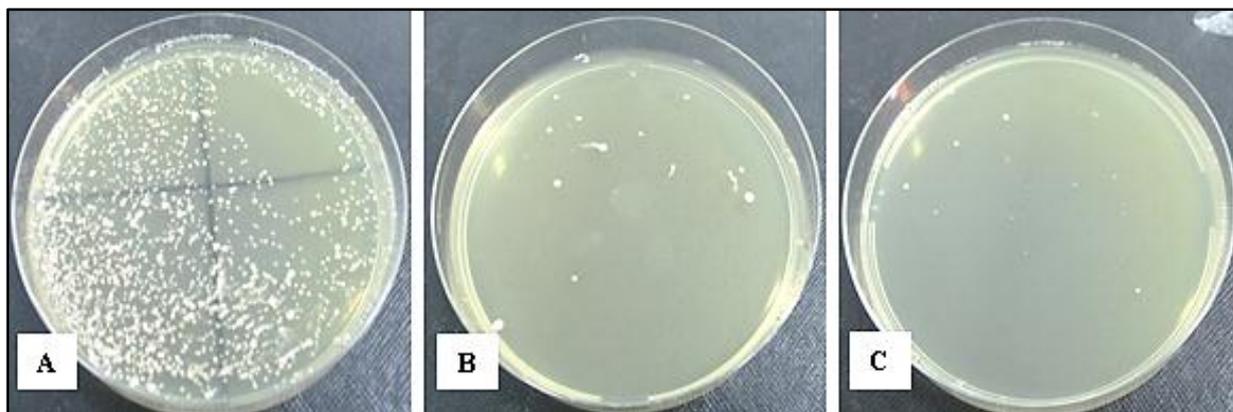


Figure 25. Exemples de colonies sur milieu solide. (A)Témoin ; (B) dilution 10^{-2} ; (C) dilution 10^{-3} .

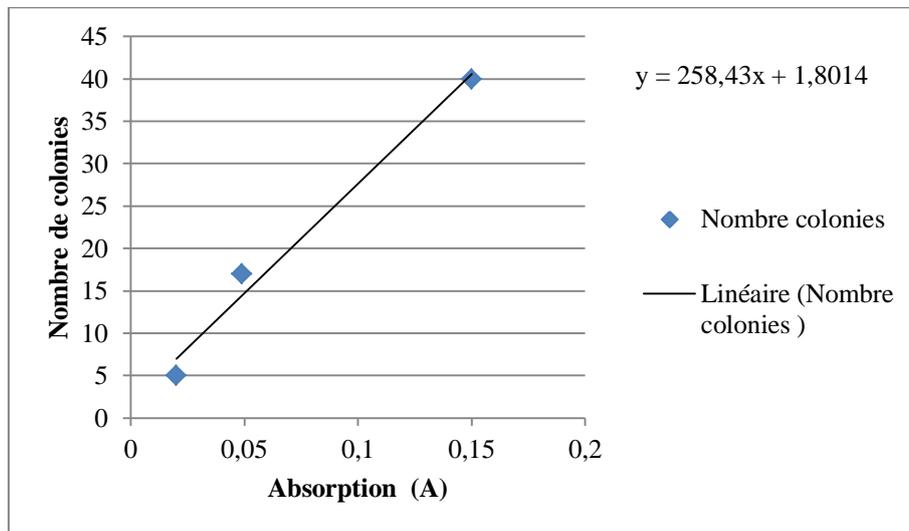


Figure 26. Nombre de colonies de l'isolat Zt1 en fonction de l'absorption.

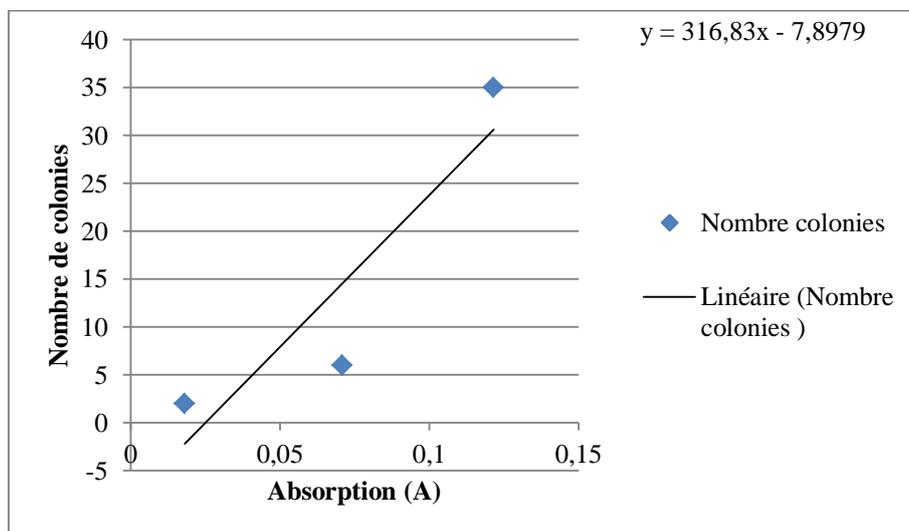


Figure 27. Nombre de colonies de l'isolat Zt2 en fonction de l'absorption

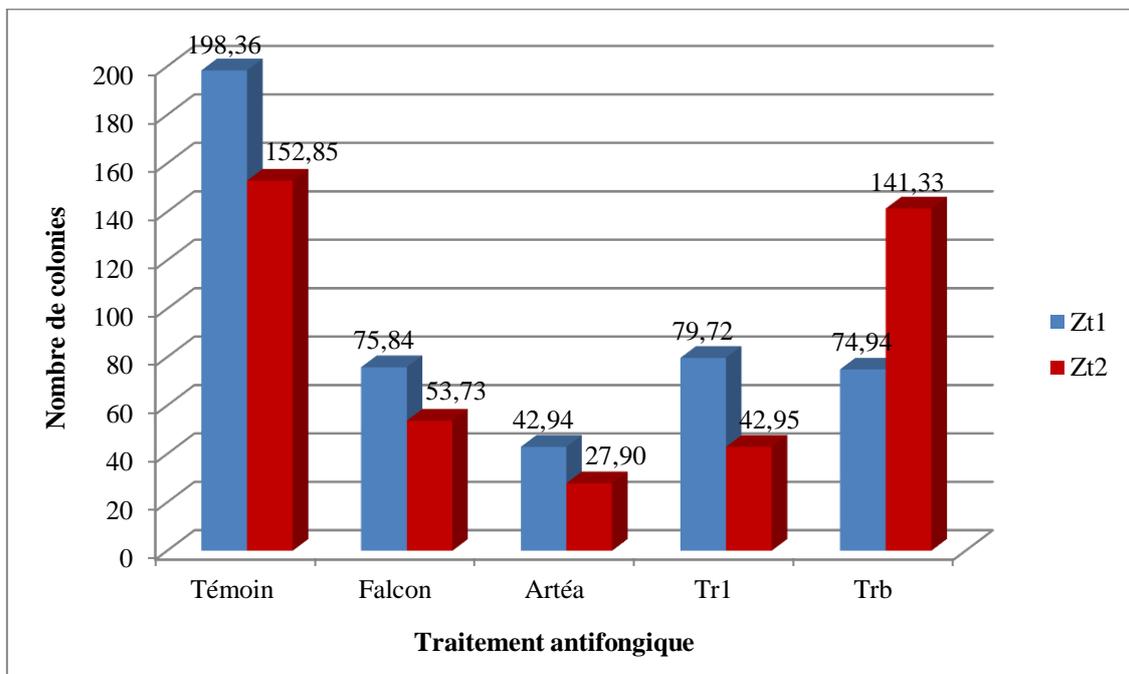


Figure 28. Nombre de colonies des isolats Zt1 et Zt2 en fonction des traitements antifongiques testés

2. DISCUSSION

Ce travail est une approche à la lutte chimique et biologique « *in vitro* » contre l'agent causal de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* », en utilisant deux méthodes d'estimation de la masse sporale formée au niveau de milieu culture liquide à savoir le comptage à l'aide de la cellule de Malassez et la méthode de turbidimétrie.

Les résultats obtenus dans au terme de ce travail démontrent que la masse sporale fournie par le Zt1 est supérieure à celle de Zt2 au niveau des témoins. Selon **Ayad et al. (2014)** les isolats diffèrent par leur morphologie et leur capacité à produire des spores en milieu artificiel.

L'efficacité des deux fongicides testés ne montre pas de différence significative. Tandis que le comportement des deux isolats de *Z. tritici* testés est variable. En effet, l'isolat Zt1 est plus résistant aux fongicides testés que le Zt2. Selon **Meamiche-Neddaf et al. (2017)** certains isolats algérien présentent une résistance aux fongicides et notamment aux strobilurines. **Stewart et al. (2014)** ont réalisé une étude sur la résistance des isolats de *Z. tritici* de Nouvelle Zelande aux fongicides de ces deux familles *in vitro* et *in vivo*. Une résistance des isolats à ces deux matières actives est clairement révélée.

Deux mutations conférant une résistance aux triazoles des isolats de *Z. tritici* ont été identifiées. Ces mutations réduisent l'efficacité des fongicides plutôt que de les rendre complètement inefficaces. Cependant, l'utilisation répétée de fongicides appartenant à la même famille exercera une pression de sélection supplémentaire sur l'agent pathogène et donnera lieu à de nouvelles mutations (**Hollaway, 2014**).

Les métabolites secondaires testés contre les deux isolats de *Z. tritici* testés montrent un effet inhibiteur important. Néanmoins, le Tr1 montre plus d'efficacité soit plus de 80% du taux d'inhibition, ces résultats sont très proches de ceux de la lutte chimique. Selon **Harman (2004)**, quelques espèces du genre *Trichoderma* sont connues pour leurs interactions avec d'autres microorganismes et spécialement avec les champignons, à travers différents modes d'action : métabolites secondaires à effet inhibiteur, mycoparasitisme et compétition.

Les résultats obtenus en testant les deux méthodes de comptage (cellule de Malassez et turbidimétrie) montrent une concordance des résultats, les deux méthodes sont fiables et précises et peuvent être complémentaires pour confirmer les résultats.

CONCLUSION

CONCLUSION

En Algérie, la culture du blé occupe une place importante parmi les céréales. Elle fait partie de nos mœurs et constitue l'alimentation de base de notre population. Cependant, cette culture est exposée aux infections naturelles pouvant conduire rapidement à la dégradation de la qualité et de la quantité des rendements.

Les maladies cryptogamiques du blé tel que la tache septorienne, restent la principale cause de pertes de rendement en Algérie. Une attention particulière doit être prêtée pour lutter contre ces maladies avec les différentes méthodes qui existent.

Ce travail est une approche à la lutte chimique (Falcon et Artea) et biologique (métabolites secondaires de *Trichoderma*), « *in vitro* », contre l'agent causal de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* », en utilisant deux méthodes d'estimation de la masse sporale formée au niveau de milieu culture liquide à savoir le comptage à l'aide de la cellule de Malassez et la méthode de turbidimétrie.

Le champignon *Z. tritici* est isolé à partir de deux champs de blé (Constantine et Mila); la caractérisation des deux isolats est réalisée selon les critères morphologiques et microscopiques.

Les résultats de la lutte chimique révèlent l'efficacité des formulations testées soit une moyenne du taux d'inhibition de 88% pour l'Artea et de 87% pour le Falcon.

La lutte biologique contre l'agent pathogène est mise en évidence par l'utilisation des métabolites secondaires. Les résultats révèlent des taux d'inhibitions importants de la masse sporale du pathogènes avec un pourcentage supérieur à 88 % pour le Tr1 et de 60% pour le Trb.

Les deux méthodes de comptage (cellule de Malassez et turbidimétrie) montrent une concordance des résultats, les deux méthodes sont fiables et précises et peuvent être complémentaires pour confirmer les résultats.

Au terme de ce travail, il serait intéressant de confirmer les résultats obtenus *in vivo* et sur une plus grande gamme d'isolats du pathogène. Aussi, réaliser une caractérisation biochimique sur les métabolites secondaires des *Trichoderma* testés afin d'identifier le principe actif.

L'utilisation excessive des produits chimiques peut induire des populations résistantes du pathogène à certaines molécules. Ce travail démontre qu'il existe des alternatives aux traitements fongicides en les remplaçant par des principes actifs d'origine biologique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Albouvette C., Couteaudier Y. et Louvet J., **1986**. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. X-comparaison de la mycoflore colonisant les racines de melons cultivés dans un sol résistant ou dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. 4, pp: 735-740.
2. Anonyme, **1981**. Larousse agricole, publié sous la direction de Jean Michel Clément. 1207 pages.
3. Anonyme, **2005**. Photologie des plantes. 16 pages.
4. Anonyme, **2005**. Céréales du monde. Fiche animation. Service jeunes publics.
5. Anonyme, **2005**. Profile de la culture du blé au Canada. Programme de réduction des risques liés aux fongicides, Centre de lutte antiparasitaire Agriculture et Agroalimentaire, Canada.
6. Aouali S. et Douici-Khalfi A., **2013**. Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte. ITGC. pp: 8-36.
7. Ayad D., Sayoud R., Benbelkacem K. et Bouznad Z., 2014. La tache septorienne du blé : Première signalisation de la présence en Algérie des deux Mating types du téléomorphe *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schröter, (anamorphe : *Septoria tritici* Rob. ex Desm.) et diversité phénotypique de l'agent pathogène. Nature et Technologie. B- Sciences Agronomiques et Biologiques. 11, pp: 34-45.
8. Baily R., **1980**. Guide pratique de défense des cultures. Reconnaissance des ennemis Notion de protection des cultures ; Edition : Tarif. ACTA, 419 pages.
9. Bermond A., **2002**. Larousse agricole. Edi Mathilde Majorel. Editeur: Larousse (Paris). 767 pages.
10. Bérubé M E., **2010**. Effet du Gluphosate sur la fusariose de l'épi chez le blé et l'orge selon différents travaux du sol, mémoire pour l'obtention du grade de maître en science, université Laval, Qubec.131pages.
11. Bojanowski A., **2011**. Molécules antifongiques et activité Antagoniste de deux souches de pseudomonas envers *helminthosporium solani*, agent responsable de la tache argentée de la pomme de terre. Thèse pour l'obtention du grade de maître en sciences (M.Sc.). l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en biologie végétale.70 pages.
12. Bonjean A. et Picard E., **1990**. Les céréales à paille : Origine historique, économique, sélection. SOFTWORD/Groupe ITM (INRA). pp: 9-147.
13. Bouzidi H., **1979**. Généralité. Revue trimestriel scientifique et technique d'information, Institut de développement des grandes cultures, Alger. 32 pages.
14. Brunner P.C., Torriani S.F.F., Croll D., Stukenbrock E.H. et McDonald B.A., **2013**. Coevolution and Life Cycle Specialization of Plant Cell Wall Degrading Enzymes in a Hemibiotrophic Pathogen. Mol. Biol. Evol. 1 page.

15. Chamant S., **2013**. *Blumeria graminis* Biologie, épidémiologie. INRA [En ligne] : <http://ephytia.inra.fr/fr/C/16203/hypp-Biologie-epidemiologie>.
16. Champion R., **1997**. Identifier les champignons transmis par les semences. Chapitre 8 : maladies transmis par les semences. INRA EDITIONS. pp: 105-113.
17. Chehat F., **2007**. Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM «Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation» Alger pp: 7-9 avril 2007.
18. Clément J. M., **1981**. Larousse agricole In Bouasla S., Debabsa R. et Djouamaa M., 2008: Comportement morphologique, physiologique et biochimique de trois variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous traitement par un fongicide (TILT 250 EC). D.E.S Université de Souk Ahras.
19. CNCC, **2015**. Bulletin des variétés des Céréales autogames, Centre Nation de Contrôle et de Certification des semences et des plantes, 255 pages.
20. Cools, H. J. et Fraaije, B. A. **2008**. Are azole fungicides losing ground against septoria wheat disease? Resistance mechanisms in *Mycosphaerella graminicola*. Pest Management Science, 64(7), pp:681–684.
21. Corbaz R., **1990**. principes de phytopathologie de lutte contre les maladies des plantes, 257 pages.
22. Crystel H., **2014**. Le marché du blé dur. Service Agronomie-Economie-Environnement. Comité technique de blé dur, Ouest Océan, Février, Vouillé 79. ARVALIS. 25 pages.
23. De Proft M. et Duvivier M., **2012**. Lutte intégrée contre les maladies. Livre Blanc «Céréales» ULg Gembloux Agro-Bio Tech et CRA-W Gembloux – Février. 25 pages.
24. Devale R., Bastard L. et Nussbaumer A., **2000**. Le blé a lui aussi son helminthosporiose. Phytoma. 526, pp: 17-20.
25. Djaouti M., **2010**. Renforcement des capacités des acteurs de la filière céréales en Algérie dans le cadre d'un partenariat Nord-Sud. Cas de la wilaya de Sétif. Série 'Master of science' N°106.Thèse Master science, CIHEAM. IAMM. 106, 142 pages.
26. Djermoun A., **2009**. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Revue Nature et Technologie. 01, pp: 45-53.
27. Duncan K.E. et Howard R.J., **2000**. Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola*. Mycological Research, 104, pp: 1074-1082.
28. Elabed B., **1984**. Relation entre l'aptitude technologique et le polymorphisme des glutenines chez les blés tendres, thèse Ing., INA., El-Harrach, 93 pages.
29. Eyal Z., **1981**. Integrated control of Septoria diseases of wheat. Plant Disease. 65: 763-768.
30. Eyal Z., Scharen A.L., Prescott J.M. et VanGinkel M., **1987**. The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT.

31. Eyal, Z. **1987**. The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT. 46 pages.
32. Eyal, Z., **1999**. Septoria and Stagonospora diseases of cereals: A comparative perspective. - Proc. 15th Long Ashton Int. Symp. - Understanding pathosystems. A Focus on Septoria, 15-17 Sept. 1997, Long Ashton, UK, pp: 1-25.
33. Ezzahiri B., **2001**. Les maladies du blé. Programme national de transfert de technologie en agriculture. PNTTA, N° 77 IAVH II.
34. FAOSTAT, 2018. www.fao.org/statistics/fr/
35. Farih A., **1992**. Components of partial resistance, mode of inheritance of resistance to *Septoria tritici* blotch, and status of septoria diseases in Morocco. PhD Thèse, Oklahoma State Univ, Stillwater, USA. 89 pages.
36. Feillet P., **2000**. Le grain de blé composition et utilisation Inra, paris 2000 : 17/ 18.
37. Godon B., **1985**. Protéines végétales. Ed. Lavoisier. 162- 235.
38. Grignac P., **1978**. Le blé dur: monographie succincte, Ann. Inst .Nat.Agr Harrach, 8 (2).
39. Guettouche R., **1990**. Contribution à l'identification des caractères morphophysiologiques d'adaptation à la secheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf). Thèse de diplôme d'Agronomie Approfondie. Mise en valeur du milieu naturel. ENSAM : 111pages.
40. Gyot L., **1978**. Biologie Végétale. Collection que sais-je? Ed. Press Uiversitaire de France. 127 pages.
41. Hadria R., 2006. Adaptation et Spatialisation des modèles stricts et la gestion d'un périmètre céréalier irriguée en milieu semi-aride. Thèse de doctorat. Uni Cadi ayyad Samlalia-Marrakech.
42. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M., 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol., 2(1), pp: 43-56.
43. Harrat W., Meamiche Neddaf H., Keddad A. et Bouznad Z., 2017. First report of the *Zymoseptoria tritici* teleomorph stage causing septoria leaf blotch of wheat in Algeria. New Disease Reports 35, 30.
44. Meamiche - Neddaf H., Lamia A., Bouznad Z. et Kema Gert H. J., 2017. Equal Distribution of Mating Type Alleles and the Presence of Strobilurin Resistance in Algerian *Zymoseptoria tritici* Field Populations. Plant Disease. 101, pp:544-549
45. Hennouni N., 2012. Evaluation du métabolisme respiratoire et enzymatique des racines de blé dur (*Triticum durum* Desf.) issues de plantes infectées par les maladies cryptogamiques et de plantes traitées avec un fongicide (ARTEA EC 330), thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba.
46. Hibar, K., Daam-Remadi, M., Khiareddine, H., et El-Mahjoub, M., **2005**. Effet inhibiteur in vitro du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Biotechnol. agron. Soc. Environ. 9 (3), pp: 163-171.

47. Hollaway G., 2014. *Septoria tritici* Blotch of Wheat. Grain research and Development Corporation. Ed. Victorian Government Department of Environment and Primary Industries Melbourne, Australia, 2 pages.
48. Hoorme C., Lamari L., Gilbert J. et Ballance GM., 2002. First report of *Mycosphaerella graminicola*, the sexual state of *S. tritici*, in Manitoba, Canada. *Plant Pathology*. 24, pp: 445–449.
49. Jacquemin L., 2012. Production d'hémicelluloses de pailles et de sons de blé à une échelle pilote Etude des performances techniques et évaluation environnementale d'un agro-procédé. Thèse de doctorat en Sciences des Agroressources. Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). 345 pages.
50. Kema GHJ., Yu D., Rijkenberg FHJ., Shaw MW., Baayen RP., 1996. Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat. *Phytopathology*. 86, pp: 777-786.
51. Krupinsky J.M., 1999. Influence of cultural practices on Septoria / Stagonospora diseases. Proceeding of the 5th international Septoria Workshop. Septoria and Stagonospora diseases of cereals: a compilation of global research. 20-24 September. CIMMYT, Mexico. pp: 105-110.
52. Laffont J., 1985. les maladies des céréales et du maïs. AGRI-NAHAN. pp: 4-51.
53. Lesage V., 2011. Contribution à la validation fonctionnelle du gène majeur contrôlant la dureté/tendreté de l'albumen du grain de blé par l'étude de lignée quasi-isogénique. Thèse de doctorat. 17 pages.
54. Lieckfeldt E, C.M. Kullnig C.P. Kubicek G.J. Samuels et Börner T., 2001. *Trichoderma aureoviride*: phylogenetic position and characterization *Mycol. Res.*, 105 (2001), pp: 313-322.
55. Maloy O. et Debra I., 1993. Powdery Mildew, Washington University extension, Diseases of Washington crops.
56. Milaire H., 1995. à propos de quelques définitions. *Phytoma*, La Défense des Végétaux. 474, pp: 7-9.
57. Murray T.D., Parry D.W. & Cattlin N.D., 1998. Diseases of Small Grain Cereal Crops: A Color Handbook of Diseases of Small Grain Cereal Crops. Iowa State University Press, Ames, IA. 144 pages.
58. Murray, D.C., & Walters, D.R., 1992. Increased photosynthesis and resistance to rust in upper uninfected leaves of rusted broad bean (*Vicia fabae* L.). *New Phytol.*, 120, pp: 235-242.
59. Olmedo-Areaga O.B. et Cantrell R.G., 1995. Recurrent sélection for grain yield in Durum Wheat. *CropScio*. 35 :714-719. IN : Evaluation de la qualité D'un germoplasm de blé dur (*Triticum durum* Desf.) : appréciation de l'aptitude technologique et biochimique.
60. Ponomarenko A., S.B. Goodwin et G.H.J. Kema, 2011. *Septoria tritici* blotch (STB) of wheat. *Plant HealthInstructor*doi: 10.1094/PHI-I-2011-0407-01.
61. Prats J. et Grandcount M.C., 1971. Les céréales 2ème éd. Coll d'enseignement Agricole. 288 pages.

62. Prescott J. M., Burnett P.A., Saari E.E., Ransom J., De Milioano W., Singh R.P. et Bekele G., **1987**. Maladies et ravageurs du blé : guide d'identification au champ. CIMMYT. Mexico : 133 pages.
63. Quaedvlieg W., Kema GHJ., Groenewald JZ., Verkley GJM., Seifbarghi S., Razavi M., Gohari MA., Mehrabi R. et Crous PW., **2011**. *Zymoseptoria* gen. nov.: a new genus to accommodate Septoria-like species occurring on graminicolous hosts. *Persoonia*. 26, pp: 57–69.
64. Royle J. A., Chandler R. B., Sun C. et Fuller A., 2013. Integrating resource selection information with spatial capture-recapture. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, pp: 520–530.
65. Sanderson F.R., **1976**. *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Sanderson, the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob.apud. *Desm. New Zealand Journal of Botany*. 14, pp: 359-360
66. Sanderson F. R. et Hampton, J. G. **1978**. Role of the perfect states in the epidemiology of the common septoria diseases of wheat. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 21(2), pp:277–281.
67. Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z., **1999**. Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Eds. I.T.G.C., Alger. 64 pages.
68. Scharen A.L. 1999. Biology of Septoria/Stagonospora pathogens: an overview. Pages 19-22 *In* van Ginkel, M., A. McNab, and J. Krupinsky, eds, **1999**. *Septoria and Stagonospora Diseases of Cereals: A Compilation of Global Research*. Proceedings of the Fifth International Septoria Workshop, September 1999, CIMMYT, Mexico.
69. Scott G.P., Burn D.M. et Hansen L.J., 1988. The dolphin die-off; long term effects and recovery of the population. *Proc. Oceans*. 88(3), pp:819-23
70. Selmi R., **2000**. Fin du mythe de l'autosuffisance alimentaire et place aux avantages comparatifs. *Revue Afrique Agriculture*. 280 : 23-30. *IN: Evaluation de la qualité d'un germoplasm de blé dur (Triticum durum Desf.) : appréciation de l'aptitude technologique et biochimique. Septoria tritici (Mycosphaerella graminicola) infections in winter wheat crops in the UK. Plant Pathology*. 38(1), pp: 35–43.
71. Shaw M.W. et Royle D.J., 1989. Airborne inoculums as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infections in winter wheat crops in the UK. *Plant Pathology*, 38: 35-43
72. Shipton W.A., Boyd W.R.J., Rosielle A.A. et Shearer B.L., **1971**. The common Septoriadiseases of wheat. *Botanical Review* 37, pp: 231-262.
73. Siegel J.G., **1981**. Genetic characterization of the region of the Drosophila genome known to include the histone structural gene sequences. *Genetics* 98(3).
74. Sierotzki H. et Scalliet G., **2013**. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology* 103, pp:880-887

75. Soltner D., **2005**. La base de la production végétale Tom I. Le sol et son amélioration 24eme Edi. Collection science et technique agricole. 472 pages.
76. Stewart T.M., Perry A.J. et M.J., **2014**. Evans Resistance of *Zymoseptoria tritici* to azoxystrobin and epoxiconazole in the lower North Island of New Zealand. *New Zealand Plant Protection*, 67: 304-313
77. Suffert F. et Sache I., **2011**. Relative importance of different types of inoculum to the establishment of *Mycosphaerella graminicola* in wheat crops in north-west Europe. *Plant Pathology*, 60: 878–889.
78. Suffert F., Sache I. et Lannou C., **2011**. Early stages of *Septoria tritici* blotch epidemics of winter wheat: build-up, overseasoning, and release of primary inoculum. *Plant Pathology*, 60, pp: 166–177.
79. Torriani S.F.F. et Melichar J.P.E, Mills C., Pain N., Sierotzki H. et M.Courbot, **2015**. *Zymoseptoria tritici* a major threat to wheat production, integrated approaches to control Fungal Genet. Biol. (THIS SPECIAL ISSUE).
80. Torriani S. F. F., Brunner P. C., McDonald B. A. et Sierotzki, H., **2009**. QoI resistance emerged independently at least 4 times in european populations of *Mycosphaerella graminicola*. *Pest Management Science*, 65(2), pp: 155–162.
81. Vertucci C.W., **1989**. The kinetic of seeds imbibition controlling factors and relevance to seedling vigor. *In: Seed Moisture, CSSA special publication*. 14, pp: 93 -.115.
82. Viaux P., **1999**. Une 3^{ème} voie en grande culture. Environnement Qualité Rentabilités. Ed. Agridécisions, Paris. 211pages.
83. Weber GF., 1922. Septoria diseases of cereals. II. Septoria diseases of Wheat. *Phytopathology*. 12(12), pp: 537-585.
84. Weise M.V., **1977**. Compendium of wheat diseases. St Paul, Minn.: Am. Phytopathol. Soc. pp: 42-45.
85. Wiese W.V., 1987. Compendium of wheat diseases. 3ed printing 1998. Eds. APS Press, Minneapolis (USA). pp: 43-45.
86. Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF, **1974**. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Resistance*, 14, pp: 415–421.
87. Zahour A., **1992**. Eléments d'amélioration génétique des plantes, Editions Actes. 161p.
88. Zerbita I. et Ferragji A., **2017**. Comparaison entre l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de fongicide chimique. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri, Constantine.
89. Zillinsky F.J., **1983**. Les maladies des céréales à paille. Guide d'identification. Eds. CIMMYT. Mexico. 142 pages.

ANNEXE

Milieux de culture

Yeast malt agar - YMA

- 4 g d'extrait malt
- 4 g d'extrait de levure
- 4 g de saccharose
- 15 g d'agar
- 1000 ml d'eau distillée.

Potato dextrose agar PDA

- 200 g pomme de terre
- 20 g glucose
- 20 g agar

ملخص

هذا العمل هو دراسة مقارنة في المختبر لطرق مكافحة المرض الفطري التبع السيتوري والمسبب له زيموسيتوريا تريتيسي -مرض فطري يصيب القمح- عن طريق المكافحة الكيميائية بمبيدين فطريين فالكون وارتيا والمكافحة البيولوجية بالمركبات الايضية الثانوية لفطر التريكودارما وذلك باستخدام طريقتين لتقدير عدد الابواغ المتكونة في وسط استزراع سائل عن طريق العد باستخدام خلية ملاسيز وطريقة التعكر -توربيدي متري - نتائج المكافحة الكيميائية تكشف عن فاعلية المركبات المختبرة وكان متوسط معدل التثبيط 88% لأرتيا و 87% لفالكون ويتضح ايضا السيطرة البيولوجية على سيبتوريا تريتيسي من خلال استخدام المركبات الايضية الثانوية. النتائج تكشف عن مستويات تثبيط كبيرة لعدد الابواغ بنسب 88% و 60% لكل من Tr1 و Trb على الترتيب

الكلمات المفتاحية: الأمراض الفطرية للقمح ، المكافحة الكيميائية ، المكافحة البيولوجية ، زيموسيتوريا تريتيسي ، تريكودارما.

Abstract

This work is an approach to the chemical control (Falcon and Artea) and biological (secondary metabolites of *Trichoderma*), "in vitro", against the causative agent of the Septoria leaf spot of wheat "*Zymoseptoria tritici*", using two estimation methods of the spore mass formed at the level of liquid culture medium, namely the counting using the Malassez cell and the turbidimetry method.

The results of the chemical control reveal the effectiveness of the tested formulations. The average inhibition rate was 88% for Artea and 87% for Falcon.

Biological control of the pathogen is evidenced by the use of secondary metabolites. The results reveal significant inhibitory levels of the spore mass of pathogens with a percentage greater than 88% for Tr1 and 60% for Trb. The reliability of the two counting methods is highlighted.

Key words: Fungal diseases of wheat, *Zymoseptoria tritici*, chemical control, biological control, *Trichoderma*.

Contribution à la lutte chimique et biologique contre l'agent causal de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* » *in vitro*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques,
Spécialité : Microbiologie, Option : mycologie et biotechnologie fongique.

Résumé

Ce travail est une approche à la lutte chimique (Falcon et Artea) et biologique (métabolites secondaires de *Trichoderma*), « *in vitro* », contre l'agent causal de la tache septorienne du blé « *Zymoseptoria tritici* », en utilisant deux méthodes d'estimation de la masse sporale formée au niveau de milieu culture liquide à savoir le comptage à l'aide de la cellule de Malassez et la méthode de turbidimétrie.

Les résultats de la lutte chimique révèlent l'efficacité des formulations testées soit une moyenne du taux d'inhibition de 88% pour l'Artea et de 87% pour le Falcon.

La lutte biologique contre l'agent pathogène est mise en évidence par l'utilisation des métabolites secondaires. Les résultats révèlent des taux d'inhibitions importants de la masse sporale du pathogènes avec un pourcentage supérieur à 88 % pour le Tr1 et de 60% pour le Trb.

La fiabilité des deux méthodes de comptage est mise en évidence.

Mots clés : Maladies fongiques du blé, *Zymoseptoria tritici*, lutte chimique, lutte biologique, *Trichoderma*

Laboratoire de recherche : INRAA – Unité de Recherche Constantine

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. ALMI Hiba (MCB - UFM Constantine)
Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (AR - INRAA Constantine)
Examineur : Dr. OUFROUKH Amar (MRA - INRAA Constantine)

Date de soutenance : 26/06/2018