

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

و البحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mustapha Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Agronomiques

Laboratoire de Recherche sur les Systèmes Biologiques et de la Géomatique

THESE DE DOCTORAT

Spécialité Phytopharmacie et Protection des Végétaux

Intitulée

Caractérisation phénotypique, pathologique et moléculaire de la population Algérienne de *Pyrenophora teres* (anamorphe *Drechslera teres*) agent causal de la rayure réticulée de l'orge (*Hordeum vulgare* L.)

Présentée par : AHMED LHADJ Wassila

Le 01/12/2022

Devant le jury :

Président	BELABID Lakhdar	Professeur	Université de Mascara
Examinatrice	BOUSMAHA Leila	Professeur	Université de Sidi Bel Abbas
Examineur	RIGHI Kada	MCA	Université de Mascara
Examinatrice	LAZREG Fatiha	MCA	Université de Mascara
Encadrant	BOUNGAB Karima	Professeur	Université de Mascara
Co-encadrant	RIGHI ASSIA Fatiha	Professeur	Université de Mascara

Année Universitaire : 2022-2023

Dédicace

Je dédie cette thèse :

A MES TRÈS CHERS PARENTS

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Votre prière et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie.

Aucun terme ne pourra décrire ma profonde reconnaissance ; je n'espère ne jamais vous décevoir un jour.

Puisse Dieu vous préserver et vous procurer santé et bonheur

A MON CHER MARI

Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler ; tu as partagé avec moi les meilleurs moments de ma vie. Aux moments les plus difficiles de ma vie, tu étais toujours à mes côtés ; je te remercie de ne m'avoir jamais déçu.

Puisse le bon dieu nous procurer santé et longue vie.

A MON BEBE YANIS

Aucun terme ne pourra décrire mon amour et mon affection envers toi, t'es le bijou que le bon Dieu m'a procuré pour ressentir le bonheur dans cette vie,

J'espère que le jour où tu grandiras, tu serais frère de ta maman. Puisse dieu te protéger, te procurer santé et longue vie.

A MON FRERE NABIL

Je n'oublierai jamais les merveilleux moments d'enfance passés ensemble J'implore Allah de te réserver un avenir meilleur.

A MES REGRETTÉS ONCLES KAMEL ET HAMOU

Votre bonté reste encore gravée dans ma mémoire, on n'a pas pu admettre que vous êtes partis si tôt.

Que Dieu vous accorde la paix éternelle et vous accueille dans son paradis.

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS PARENTS

Que vous reposiez dans le paradis du bon Dieu.

A MA GRAND-MERE AZIZA, A MA TANTE DJAHIDA

A TOUTE MA FAMILLE ET MA BELLE FAMILLE

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le bon Dieu tout puissant de m'avoir accordé du courage et beaucoup de patience pour avoir finalisé ce travail

Je remercie également toute personne qui a contribué à la réalisation de ce travail et qui m'a soutenu tout le long de ce parcours

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à ma directrice de thèse Professeur BOUNGAB K., du département d'agronomie de l'université de Mascara, pour avoir assuré la direction scientifique de ce travail. Je tiens vraiment à lui adresser mes vifs remerciements et reconnaissances pour son assistance pertinente, son dévouement durant la période d'encadrement et pour sa contribution dans la correction de ce document. Vos qualités humaines, votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence. Veuillez croire à l'expression de mon grand respect.

Je remercie très vivement professeur RIGHI ASSIA F., qui m'a fait bénéficier de ses précieux conseils directifs. Qu'elle veuille bien agréer l'expression de mon profond respect.

Je remercie très vivement le professeur BELABID L., doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Mascara, pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant le jury de cette thèse ; qu'il veuille bien trouver ici l'assurance de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude au professeur BOUSMAHA L., de l'Université de Sidi Bel Abbes, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de faire partie du jury. Votre présence au sein de notre jury constitue pour moi un grand honneur.

Mes remerciements vont également au Professeur RIGHI K., et LAZREG F., de l'Université de Mascara, pour avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je tiens à exprimer mes remerciements particuliers au Professeur BENHASSAINI H., du département des sciences de l'environnement « Biodiversité Végétale : Conservation & Valorisation » université de Sidi Bel Abbes pour son soutien et son aide précieux.

Mes sincères remerciements sont adressés également à Monsieur HADDAD M., professeur à l'université de Sidi Bel Abbes pour son aide et ses précieux conseils tout le long de l'élaboration de ce travail.

J'exprime ma profonde reconnaissance au professeurs KARAKAYA A. et ÇELIK OGUZ A., de l'université d'Ankara, Turquie, pour leurs accueils chaleureux et leurs aides tout le long de mon séjour scientifique.

Je tiens également à remercier Dr NACER A., de l'université de Sidi Bel Abbes pour m'avoir accordé des souches bactériennes pour la réalisation d'une partie de ce travail.

RESUME

La culture de l'orge est sujette à de nombreux stress d'origine biotique et abiotique parmi lesquels on distingue les maladies cryptogamiques. Les prospections effectuées dans l'est et l'ouest du pays ont révélé la présence de nombreuses maladies foliaires notamment la rayure réticulée, la rhynchosporiose, l'oïdium, la strie foliaire et la tache helminthosporienne. La rayure réticulée était la maladie la plus importante en incidence et en sévérité dans tous les champs prospectés. L'agent causal *Pyrenophora teres Drechs.* Anamorphe *Drechslera teres* (sacc) *Shoem.* se présente sous deux formes, *P. teres f. teres (Ptt)* et *P. teres f. maculata (Ptm)* présentant respectivement les symptômes de type réticulée et tache brune. L'utilisation d'amorces spécifiques par la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) a permis la caractérisation des deux formes de l'espèce au sein de 61 isolats collectés. Les résultats ont indiqué que 57.38% des isolats ont été identifiés comme *Ptm*, alors que 42.62% étaient identifiés comme *Ptt*. La caractérisation phénotypique de 61 isolats a permis de mettre en évidence une variabilité des caractères culturels, en effet on a distingué quatre morphotypes, 4 couleurs, une variabilité de la croissance mycélienne et de la taille des conidies. Nos résultats ont également indiqué que cette variabilité ne dépend pas de leur origine géographique et ne permettent pas la discrimination entre les deux formes. L'étude du pouvoir pathogène des isolats a montré que tous les isolats ont provoqué les symptômes typiques pour les deux formes de la maladie avec un degré d'agressivité variant d'un isolat à un autre. La détermination des mating types était conduite au sein des 61 isolats étudiés par l'utilisation d'amorces appropriées SNP. Parmi les isolats *Ptt*, 19 ont été identifiés comme MAT1-2 et seulement 7 ont été déterminés comme MAT1-1; tandis que parmi les isolats *Ptm*, 27 ont été identifiés comme MAT1-1 et 8 ont été déterminés comme MAT1-2. L'analyse de la structure génétique au sein de notre collection d'isolat par l'utilisation des marqueurs moléculaires (ISSR), a mis en évidence un taux de similarité de 0.60 et 0.63 au sein des populations de *Ptt* et *Ptm* respectivement. Les résultats obtenus ont également suggéré la présence des deux modalités de reproduction sexuée et asexuée chez les isolats testés.

Les résultats de l'activité antifongique de 3 souches de *Bacillus cereus* contre *P.teres f. teres* et *P.teres f.maculata* ont montré un effet inhibiteur différent d'une souche à une autre. La souche S10C1 a enregistré la plus grande efficacité par un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne allant jusqu'à plus de 90 %, et une réduction de la sévérité de la maladie sur les feuilles détachées. L'utilisation des microorganismes naturels constitue une alternative prometteuse en lutte biologique et ce dans le cadre d'une agriculture durable respectueuse de l'environnement.

Mots clés : orge, rayure réticulée, *Pyrenophora teres*, agressivité, mating type, diversité génétique

ABSTRACT

Barley is subject to many stresses of biotic and abiotic origin, among which we distinguish cryptogamic diseases. Surveys carried out in the east and west of the country revealed the presence of numerous leaf diseases, in particular net blotch, scald, powdery mildew, leaf stripe and spot blotch. Net blotch was the most important disease in terms of incidence and severity in all the fields surveyed. The causal agent *Pyrenophora teres* Drechs. Anamorphe *Drechslera teres* (sacc) Shoem. occurs in two forms, *P. teres f. teres* (*Ptt*) and *P.teres f. maculata* (*Ptm*), showing the symptoms of net and spot forms respectively. The use of specific primers by the polymerase chain reaction (PCR), allowed the characterization of the two forms of the species within 61 isolates collected. The results indicated that 57.38% of the isolates were identified as *Ptm*, while 42.62% were identified as *Ptt*. The phenotypic characterization of 61 isolates allowed to highlight a variability of the cultural characters, indeed, four morphotypes have been distinguished, 4 colors, variability in mycelial growth and conidial size. Our results also indicated that this variability does not depend on their geographical origin, and do not allow discrimination between the two forms. The study of the pathogenicity of isolates showed that all the isolates caused the typical symptoms for the two forms of the disease with a degree of aggressiveness varying from one isolate to another. The determination of mating types was carried out within the 61 isolates studied by the use of appropriate SNP primers. Among the *Ptt* isolates, 19 were identified as MAT1-2 and only 7 were determined as MAT1-1; while among the *Ptm* isolates, 27 were identified as MAT1-1 and 8 were determined as MAT1-2.

The analysis of the genetic structure within our collection of isolates using molecular markers (ISSR) revealed a similarity rate of 0.60 and 0.63 within the populations of *Ptt* and *Ptm* respectively. The results obtained also suggested the presence of both sexual and asexual reproduction modalities in the tested isolates. The results of the antifungal activity of 3 strains of *Bacillus cereus* against *P.teres f. teres* and *P.teres f.maculata* showed a different inhibitory effect. The S10C1 strain recorded the highest efficacy by a percentage inhibition of mycelial growth more than 90%, and a reduction in the severity of the disease on the detached leaves. The use of natural microorganisms is a promising alternative in biological control and this in the context of sustainable agriculture that respects the environment.

Key words: barely, net blotch, *Pyrenophora teres*, aggressiveness, mating type, genetic diversity

ملخص

الشعير عرضة للعديد من العراقل الحيوية وغير حيوية، من بينها الأمراض الفطرية. المعاينة التي أجريت في شرق وغرب البلاد أظهرت وجود العديد من الأمراض الورقية خاصة التبقع الشبكي، السفحة، البياض الدقيقي. تخطط الأوراق و التبقع الهمنتوسبوروي.

التبقع الشبكي كان من أهم الأمراض من حيث الإصابة والشدة في جميع الحقول المعاينة. العامل الممرض (*Pyrenophora teres Drechsler* الطور الكونيدي *Sh. Drechslera teres [Sacc.] Sh.*) يأتي في شكلين *Pyrenophora teres f. maculata* و *Pyrenophora teres f. teres* اللذان يسببان النوع الشبكي و نوع اللطخة على التوالي.

استخدام بادئات محددة بالتفاعل المتسلسل السريع لأنزيم البوليميريزم سمح بتحديد شكلين من ضمن 61 عزلة تم جمعها. أشارت النتائج أن 57.38% من العزلات تم تحديدها على أنها *Ptm* ، بينما 42.62% تم تحديدها على أنها *Ptt*

دراسة الصفات المورفولوجية لـ 61 عزلة سمح بتسليط الضوء على تنوع الخصائص الظاهرية. في الواقع، تم تمييز أربعة أنماط شكلية 'أربعة ألوان'؛ إختلاف معدل نمو الميسليوم الفطري وحجم الكونيديا. أشارت نتائجنا أيضاً أن هذا الاختلاف لم يكن مرتبطاً بالمصدر الجغرافي للعزلات و لم تسمح بالتمييز بين شكلي الفطر. أظهرت دراسة القدرة الامراضية أن جميع العزلات تسببت في الأعراض النموذجية لكلا الشكلين من المرض بدرجة من العدوانية تختلف من عزلة إلى أخرى.

تم تحديد أنواع التكاثر ضمن مجموعتنا المكونة من 61 عزلة باستخدام بادئات SNP المناسبة. من بين عزلات *Ptt* ، تم تحديد 19 عزلة على أنها MAT1-2 و 7 فقط على أنها MAT1-1. بينما من بين عزلات *Ptm* ، تم تحديد 27 عزلة على أنها MAT1-1 و 8 على أنها MAT1-2.

تحليل التركيب الجيني ضمن مجموعتنا من العزلات باستخدام الواسمات الجزئية (ISSR)، أظهر معدل تشابه قدره 0.60 و 0.63 بين عزلات *Ptt* و *Ptm* على التوالي. النتائج التي تم الحصول عليها تشير أيضاً إلى وجود كل من طرق التكاثر الجنسي واللاجسي في العزلات المختبرة.

نتائج النشاط المضاد للفطريات لثلاث سلالات من *Bacillus cereus* ضد *P. teres* و *P. teres f. teres* و *f. maculata* أظهر تأثير مثبط مختلف من سلالة إلى أخرى.

سجلت السلالة S10C1 أعلى كفاءة بنسبة مئوية من تثبيط نمو الميسليوم الفطري يصل إلى أكثر من 90% وتقليل ملحوظ لشدة المرض على الأوراق المنفصلة .

يعد استخدام الكائنات الحية الدقيقة الطبيعية بديلاً واعداً في مكافحة البيولوجية في إطار الزراعة المستدامة التي تحترم البيئة.

الكلمات المفتاحية: الشعير، التبقع الشبكي، *Pyrenophora teres*، عدوانية، أنواع التكاثر، التنوع الجيني

TABLE DE MATIERE

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Généralités sur la plante hôte (*Hordeum vulgare* L.)

1. Origine et aire de répartition	4
2. Caractères taxonomiques.....	5
3. Caractères botaniques et morphologiques.....	7
4. Exigences pédoclimatiques.....	9
5. Importance économique de l'orge.....	9
6. La production de l'orge dans le monde et en Algérie	10
7. Les principales maladies de l'orge	13

Chapitre 2 : La Rayure réticulée de l'orge

1. Importance et distribution géographique.....	15
2. Symptomatologie	16
3. L'agent pathogène : <i>Pyrenophora teres</i>	18
3.1. Historique et taxonomie	18
3.2. Gamme d'hôte	19
3.3. Description morphologique du pathogène	19
3.4. Cycle biologique du pathogène	21
4. Diversité phénotypique de <i>P .teres</i>	24
5. Diversité pathologique de <i>P.teres</i>	25
6. Diversité génétique de <i>P.teres</i>	26
6.1. Hétérothallisme et mating types	26
6.2. Etude de la diversité génétique.....	27

Chapitre 3 : Stratégies de lutte contre la rayure réticulée de l'orge

1. La lutte culturale.....	30
2. La lutte génétique.....	31

3. La lutte chimique.....	31
4. La lutte biologique.....	32
4.1. La lutte biologique par l'utilisation des extraits de plantes	33
4.2. La lutte biologique par l'utilisation des microorganismes vivants.....	33
4.2.1. La lutte biologique par l'utilisation des bactéries (<i>Bacillus</i>).....	35

MATERIEL ET METHODES

1. Prospections et prélèvement des échantillons	38
2. Isolement et purification de l'agent pathogène	39
3. Identification de <i>Pyrenophora teres</i>	39
3.1. Identification morphologique	39
4. Conservation des isolats fongiques	40
4.1. Conservation à basse température	40
4.2. Conservation en disques de gélose séchés	40
4.3. Conservation sous forme d'herbier	40
5. Caractérisation moléculaire phénotypique et pathologique de <i>P.teres</i>	40
5.1. Caractérisation moléculaire de <i>P.teres</i>	42
5.1.1. Extraction de l'ADN.....	42
5.1.2. Mesure de la concentration et de la pureté de l'ADN	42
5.1.3. L'analyse PCR spécifique à l'espèce	43
5.1.3.1. Electrophorèse sur gel d'agarose	43
5.1.3.2. Migration de l'ADN et visualisation.....	43
5.1.4. Différenciation des deux formes du pathogène	44
5.2. Caractérisation phénotypique de <i>P.teres</i>	44
5.2.1. Origine des isolats de <i>P. teres</i>	44
5.2.2. Détermination des morphotypes, de la pigmentation et de la croissance mycélienne	46
5.2.3. Etude biométrique des conidies	46
5.3. Caractérisation pathologique de <i>P.teres</i>	46
5.3.1. Etude du pouvoir pathogène.....	46
5.3.2. Obtention des plantules d'orge	46
5.3.3 Préparation de l'inoculum.....	47
5.3.4. Inoculation et évaluation des symptômes de la maladie	47
5.3.5. Réisolement de l'agent pathogène.....	47
6. Production <i>in vitro</i> du stade téléomorphe de <i>P.teres</i>	48

7. Etude de la diversité génétique de <i>Pyrenophora teres</i>	48
7.1. Détermination des types sexuels (mating type)	48
7.2. Analyse de la diversité génétique de <i>P.teres</i> par les marqueurs ISSR.....	49
7.3. Génération de dendrogramme et calcul d'indice de similarité de Jaccard	51
8. Evaluation de l'effet antifongique de <i>Bacillus cereus</i> vis-à-vis de <i>Pyrenophorateres</i>	52
8.1. Agents antagonistes.....	52
8.2. L'agent pathogène	52
8.3. Tests antifongiques.....	52
8.3.1. Confrontation directe	52
8.3.2. Confrontation indirecte (Antagonisme dû aux composées volatiles).....	53
8.4. L'évaluation de l'effet antagoniste sur feuilles détachées.....	54
9. Analyse statistique.....	54
9.1. Analyse de la variance et détermination des groupes homogènes	54

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 1 : Principales maladies cryptogamiques de la culture d'orge

1. Recensement des principales maladies foliaires de l'orge	55
1.1. La rayure réticulée de l'orge	55
1.1.1. Prévalence de la maladie	55
1.1.2 Description des symptômes et de l'agent causal	58
1.1.3. Identification morphologique de l'agent pathogène.....	59
1.2. La rhynchosporiose	59
1.3. La strie foliaire	60
1.4 La tache helminthosporienne	61
2.1. L'oïdium	62
3. Discussion	63

CHAPITRE II : Caractérisation moléculaire phénotypique et pathologique de *P.teres*

1-Caractérisation moléculaire de <i>P. teres</i>	66
1.1. Mesure de la concentration et de la pureté d'ADN des isolats de	66
1. 2. Identification moléculaire et répartition des deux formes de l'agent pathogène	66
2.Caractérisation phénotypique des isolats de <i>P. teres</i>	69
2.1. Caractérisation morphologique	69

2.1.1. Types des morphotypes rencontrés	69
2.1.2. Couleur des morphotypes rencontrés	73
2.1.3. Formation de corémies et de sclérotés	76
3. Caractérisation biométrique des conidies.....	78
4. Evaluation de la croissance mycélienne	80
5. Variabilité du pouvoir pathogène chez <i>Pyrenophora teres</i>	81
6. Etude du stade sexuée de <i>P.teres</i>	84
7. Discussion	86

Chapitre III : Diversité génétique de *P.teres*

1. Détermination et répartition des types sexuels (mating type) au sein des isolats de <i>Pyrenophora teres</i>	91
2. Diversité génétique au sein de la population de <i>P.teres</i>	93
3- Discussion	99

CHAPITRE IV : Activité antifongique de *Bacillus cereus* Sur *Pyrenophora teres* f. *teres* et *Pyrenophora teres* f. *maculata*

1. Effet <i>in vitro</i> de <i>B. cereus</i> sur la croissance mycélienne de <i>P.teres</i>	103
1.1. La confrontation directe	103
1.2. La confrontation indirecte	105
2. Effet <i>in vivo</i> de <i>B. cereus</i> sur la sévérité de la maladie (essai sur feuilles détachées).....	107
3. Discussion	109
Conclusion générale	111
Références bibliographiques	114
Annexes	

Liste des figures

Figure 1 : Centre d'origine des orges cultivées	5
Figure 2 : Plant d'orge	8
Figure 3 : La production mondiale de l'orge.....	12
Figure 4 : Symptômes de la rayure réticulée causés par <i>P.teres</i>	17
Figure 5 : Formes végétative et reproductive de <i>P. teres</i> et leurs symptômes sur les feuilles d'orge	21
Figure 6 : Sources d'infection par la rayure réticulée de l'orge, et le développement des symptômes	22
Figure 7 : Cycle de vie de <i>Pyrenophora teres</i> f. <i>teres</i> et <i>P. teres</i> f. <i>maculata</i>	23
Figure 8 : Processus infectieux causé par <i>P. teres</i> f. <i>teres</i> au niveau des plantes d'orge entre à 7 jours post inoculation	24
Figure 9 : Mécanismes d'action des agents de lutte biologique.....	34
Figure 10 : Localisation des zones d'étude	38
Figure 11 : Méthode d'isolement et d'identification de l'agent pathogène	41
Figure 12 : Migration de l'ADN sur le gel d'agarose	44
Figure 13 : Principe de l'utilisation des marqueurs ISSR	50
Figure 14 : Méthode de confrontation indirecte.....	53
Figure 15 : Fréquence des deux formes de <i>Pyrenophora teres</i> au champ	57
Figure 16 : Incidence (%) des deux formes de <i>Pyrenophora teres</i> au champ	57
Figure 17 : La rayure réticulée de l'orge	58
Figure 18 : Aspect macroscopique et microscopique de <i>P.teres</i>	59
Figure 19 : Symptômes de rhynchosporiose	60
Figure 20 : La strie foliaire de l'orge	61
Figure 21 : Tache helminthosporienne.....	62
Figure 22 : Symptômes d'oïdium.....	63
Figure 23 : Confirmation des isolats de <i>P. teres</i> par l'utilisation d'amorce PtGPD1	66
Figure 24 : Fréquence des deux formes de <i>P.teres</i> en Algérie.....	68
Figure 25 : Différent aspects de colonies de <i>P.teres</i>	72
Figure 26 : Fréquence des isolats selon le type de morphotype pour les isolats <i>Ptt</i>	73

Figure 27 : Différentes couleurs de colonies de <i>P.teres</i>	75
Figure 28 : Fréquence des isolats selon le couleur du morphotype pour <i>Ptt</i>	76
Figure 29 : Différents aspects de corémies	77
Figure 30 : Différents aspects de conidies de <i>P.teres</i>	79
Figure 31 : Agressivité des isolats de <i>P.teres</i>	82
Figure 32 : Symptômes illustrant le pouvoir pathogène des isolats de <i>P.teres</i>	83
Figure 33 : Aspect des pseudothèces de <i>P.teres</i> sur paille d'orge <i>in vitro</i>	85
Figure 34 : Identification des mating types des isolats <i>Ptm</i> par l'utilisation des amorces (SNP).....	92
Figure 35 : Diversité génétique des isolats <i>P. teres f. maculata</i> révélé par le marqueur moléculaire UBC 827.....	95
Figure 36 : Diversité génétique des isolats <i>P. teres f. teres</i> révélé par le marqueur moléculaire UBC 827.....	95
Figure 37 : Diversité génétique des isolats <i>Pyrenophora teres f. teres</i>	96
Figure 38 : Diversité génétique des isolats de <i>Pyrenophora teres f. maculata</i>	97
Figure 39 : Représentation graphique des distances par paires des isolats de <i>Pyrenophora teres f. teres</i>	98
Figure 40 : Représentation graphique des distances par paires des isolats de <i>Pyrenophora teres f maculata</i>	98
Figure 41 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation directe	104
Figure 42 : Effet inhibiteur de <i>B.cereus</i> vis-à-vis de <i>Ptt</i> en confrontation directe	104
Figure 43 : Effet inhibiteur de <i>B.cereus</i> vis-à-vis de <i>Ptm</i> en confrontation directe	105
Figure 44 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation indirecte	106
Figure 45 : Effet inhibiteur de <i>B.cereus</i> vis-à-vis de <i>Ptt</i> en confrontation indirecte.....	106
Figure 46 : Effet inhibiteur de <i>B.cereus</i> vis-à-vis de <i>Ptm</i> en confrontation indirecte.....	107
Figure 47 : Effet de <i>B.cereus</i> dans la réduction de indice de sévérité de la maladie sur feuilles détachées.....	108
Figure 48 : Effet in vivo inhibiteur de <i>Bacillus cereus</i> vis-à-vis de <i>Ptm</i>	108

Liste des tableaux

Tableau 1. Production de l'orge des dix grands pays producteurs au monde du 2014 au 2018	11
Tableau 2. Evolution de la superficie et de la production de l'orge en Algérie	13
Tableau 3. Principales maladies fongiques de l'orge	14
Tableau 4 : Origine et date de prélèvement des isolats collectés.....	45
Tableau 5 : Amorces de polymorphisme d'un seul nucléotidique utilisées au cours de cette étude.....	49
Tableau 6 : Incidence (%) et sévérité des maladies de l'orge recensées aux champs.....	55
Tableau 7 : Caractéristiques morphologiques des isolats de <i>Pyrenophora teres</i>	70
Tableau 8 : Dimensions (µm) des conidies des isolats de <i>Pyrenophora teres</i>	80
Tableau 9 : Distribution et fréquence des Mating type au sein des isolats de <i>Pyrenophora teres f.teres</i>	91
Tableau 10 : Distribution et fréquence des Mating type au sein des isolats de <i>Pyrenophora teres f. maculata</i>	92

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism

bp : paires de base

cm : centimètre

°C : degrés Celsius

CNCC : Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants

CTAB: Cetyltrimethylammonium bromide

cv: cultivar

F/R: forward / reverse

FAO: Food and Agriculture Organization.

g: gramme

h: heure

Ha: Hectare

ISSR: Inter simple sequence repeat

l/ha: litre par hectare

Mat: Mating type

Mat1-1: Mating type 1-1

Mat1-2: Mating type 1-2

min : minute

ml : millilitre

mM : micromole

mm : Millimètre

ng : nanogramme

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDA : Potato Dextrose Agar

Ptm : *Pyrenophora teres* f. *maculata*

Ptt:*Pyrenophora teres* f. *teres*

QoI : Quinone outside Inhibitor (Inhibiteur Externe de la Quinone)

QTL : Quantitative traits loci (locus des caractères quantitatifs)

Qx/ha: quintaux par hectare

RAPD: Polymorphisme d'ADN par Amplification Aléatoire

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism

s: seconde

SDHI: succinate dehydrogenase enzyme inhibitors

SNP: Single nucleotide polymorphism

SSR: simple sequence repeats

t/ha: tonnes par hectare

µl: microlitre

µm: micromètre

USA: United States America

USDA: United States Department of Agriculture

UV: ultraviolet

V: volt

Introduction

Introduction générale

Introduction générale

Les céréales occupent une place dominante dans l'agriculture de l'Algérie, elles constituent avec leurs dérivées l'épine dorsale du système alimentaire algérien. La production céréalière nationale est largement déficitaire, d'où le recours au marché international pour s'approvisionner et combler l'écart entre la consommation et la production nationale (Ammar, 2014). L'Algérie est un des principaux importateurs mondiaux de céréales. En 2017, l'Algérie a importé près de 13 millions de tonnes de céréales majoritairement du blé tendre (6,36 millions de tonnes, soit 49 % des volumes de céréales importés en 2017) et du maïs (4,14 millions de tonnes soit 32 % des volumes importés), puis du blé dur (1,72 millions de tonnes) et de l'orge (542 000 tonnes) (Bessaoud et *al.*, 2019).

L'orge (*Hordeum vulgare* L.), constitue une culture stratégique parmi les autres céréales (blé dur, blé tendre), ayant une superficie cultivée de 978114 Ha avec une production de 1213137 tonnes en 2020 (FAOSTAT, 2021). Elle était en tête des cultures en alimentation humaine jusqu'à une certaine période, après laquelle elle a été relégué par le blé. Néanmoins son rôle dans l'alimentation du bétail demeure fondamental (Rahal-Bouziane et *al.*, 2015). La rusticité de l'espèce, son aptitude à s'adapter aux aléas climatiques de notre pays et ses vertus pour la santé humaine font d'elle une culture primordiale (Rahal-Bouziane et *al.*, 2015) ; ce qui doit être pris en considération par les autorités du pays.

Cette culture est sujette à plusieurs contraintes d'ordre abiotique et biotiques, parmi lesquels les aléas climatiques précisément la sécheresse que notre pays a connu ces dernières années, les mauvaises pratiques culturales et les maladies causées par les bioagresseurs essentiellement les maladies fongiques dont l'incidence et la sévérité ont augmenté au cours de ces dernières années. A l'échelle mondiale, la rayure réticulée de l'orge causée par *Pyrenophora teres* Drechsler (anamorphe : *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.), est une maladie foliaire majeure de l'orge entraînant des pertes économiques en réduisant la quantité et la qualité du grain (Lammari, 2021 ; Backes et *al.*, 2021). Ce pathogène a la particularité d'induire des symptômes polymorphes, ils peuvent apparaître comme des stries nécrotiques longitudinales ou transversales qui apparaissent souvent comme un réseau définissant la forme réticulée ou bien sous forme de lésions elliptiques définissant la

Introduction générale

forme tache brune (Sayoud et *al.* 1999 ; Boungab, 2013 ; Lammari et *al.*, 2019). Cette maladie a connu une extension remarquable au cours de ces dernières années, elle est considérée comme la maladie la plus importante de l'orge en Algérie, malgré ça, peu d'études sont réalisées (Boungab, 2013 ; Lammari et *al.*, 2019). L'émergence de cette maladie pose un sérieux problème pouvant induire des dommages considérables sur cette culture dans notre pays. Afin qu'on puisse établir une meilleure gestion de la maladie, une bonne connaissance de la population de ce pathogène est utile.

Cette présente étude s'inscrit dans ce contexte, elle a pour buts :

Tout d'abord, d'effectuer une série de prospections dans l'est et l'ouest du pays et cela afin d'estimer la prévalence des principales maladies dont cette culture est confrontée, et d'autre part d'évaluer l'importance des maladies causées par le genre *Pyrenophora* et en particulier *Pyrenophora teres*, ainsi que l'obtention d'une collection d'isolats de *P.teres*.

Ensuite procéder à une caractérisation moléculaire de l'ensemble des isolats par la confirmation de l'identité de l'agent pathogène, et la distinction entre les deux formes de l'espèce par la technique "PCR" ; ce qui nous renseigne sur l'occurrence et la distribution des deux formes du pathogène marquée par la dominance d'une forme par rapport à l'autre. Puis établir une caractérisation phénotypique comprenant une identification morphologique et biométrique des isolats (aspect et couleur du morphotype, présence ou absence de corémies et de sclérote et présence de pigmentation), l'étude de la croissance mycélienne et la recherche d'isolats sporulant au sein de notre collection en effectuant la mensuration de leurs conidies; tout en les comparant entre les deux formes du pathogène pour déceler en cas d'existence de traits distinctifs entre ces deux formes. Par la suite évaluer l'agressivité des isolats par l'estimation de leurs pouvoirs pathogènes sur la variété la plus utilisée dans notre pays (Saida 183).

La troisième partie de ce travail était consacré pour l'identification de la fréquence des types d'idiomorphes (mating types), et l'étude de diversité génétique par l'utilisation des marqueurs moléculaires "ISSR" au sein des isolats des deux formes du pathogène séparément. En outre, la détermination du mode de

Introduction générale

reproduction dominant au sein de notre population d'isolat était également traitée. Cette étude est la première entreprise dans notre pays, elle permet de nous fournir plus de renseignements sur la possibilité d'occurrence du stade téléomorphe du champignon avec le mode de reproduction dominant et la structure de la population du pathogène (convergence ou divergence génétique); ce qui constitue un élément primordial pour une meilleure compréhension des degrés de risque surtout en cas d'émergence de nouvelles souches virulentes au futur.

La connaissance du type de reproduction et de la structure génétique d'une population pathogène permet d'établir une meilleure gestion de la maladie par la sélection des variétés résistantes ou la lutte par les fongicide (Serenius et *al.* 2005). La lutte contre cette maladie repose dans le cadre d'une lutte intégrée sur la combinaison de plusieurs méthodes de lutte qui peuvent être culturelles, génétique par l'utilisation des variétés résistantes, biologique ou bien chimique. Les pesticides par ses résidus constituent un risque sur la santé humaine et sur l'environnement sans oublier l'apparition du phénomène de résistance. La lutte biologique par l'utilisation des microorganismes antagonistes ou les plantes médicinales constitue une alternative respectueuse de l'environnement tout en assurant une meilleure protection de la culture. Pour cela en dernière partie de ce travail, nous avons tenté d'investiguer l'effet inhibiteur de 3 souches bactériennes de *Bacillus cereus* isolées à partir du sol sur *Ptt* et *Ptm* agents causaux de la forme réticulée et la forme tache brune du pathogène.

Première partie :
Synthèse
bibliographique

CHAPITRE 1 : Généralités sur la plante hôte (*Hordeum vulgare* L.)

1. Origine et aire de répartition

L'orge cultivée *Hordeum vulgare* L. est l'une des premières cultures domestiquées qui a évolué de son ancêtre sauvage *Hordeum spontaneum* (C. Koch) Thell ou *H. vulgare* ssp. *spontaneum* y a environ 10.000 ans dans le croissant fertile (Badr et al., 2000). L'ancêtre de l'orge cultivée est encore abondant dans la nature, elle a d'abord été découverte en Turquie par le botaniste allemand Carl Koch, et était décrite par lui comme une espèce distincte *Hordeum spontaneum*. Toutefois, en fonction de plusieurs critères, la forme progénitrice est aujourd'hui considérée comme sous-espèces (ssp. *spontaneum* (C. Koch) Thell.) dont la même espèce principale *H. vulgare* L. (Bothmer et al., 2003).

Le genre *Hordeum* est évidemment un ancien genre se séparant des espèces de blé y a environ 13 millions d'années (Ullrich, 2011). Il existe des preuves historiques et archéologiques considérables documentant le rôle de l'orge comme source alimentaire soutenue dans l'évolution de l'humanité ; en outre elle représentait l'une des céréales les plus importantes depuis l'antiquité jusqu'au environ du début du XXe siècle (Newman et Newman, 2008).

L'orge a une large distribution principalement dans les régions tempérées du monde et occupe une large gamme de niche écologique. Sa propagation de son lieu d'origine vers les autres régions du monde s'est probablement produite par une migration à longue distance, par les oiseaux ou par le vent (Singh et Upadhyaya, 2016). L'orge sauvage (*H. spontaneum*), est largement distribuée à travers le croissant fertile couvrant la zone géographique en Israël, Jordanie, Liban, Syrie, le sud-est de la Turquie, le nord de l'Irak et l'ouest de l'Iran (Zhou et al., 2014). L'adaptabilité de l'orge aux conditions extrêmes et marginales a conduit à une culture répandue à travers le monde. La culture de l'orge s'étend de la région méditerranéenne vers l'Afrique et vers l'Est à travers l'Iran et l'Afghanistan en Inde et en Chine (Zohary et Hopf, 2000).

Synthèse bibliographique

Cette culture est principalement considérée comme une culture alimentaire dans de nombreuses régions du globe comme les régions semi-aride d'Afrique (Maroc, Algérie, Libye, et Tunisie), le moyen orient (Arabie Saoudite, Iran, Irak et Syrie), les hauts plateaux du Népal, l'Ethiopie et le Tibet, pays Andins d'Amérique du sud (Pérou et Chili), certains pays Asiatique (chine et Corée du Nord) et l'Himalaya (Singh et Upadhyaya, 2016).



Fig. 1 : Centre d'origine des orges cultivées (Fischer, 2015)

2. Caractères taxonomiques

L'orge appartient au groupe de plantes « *Triticeae* », qui est une tribu dans la famille des « *Poaceae* ». Cette famille comporte un grand nombre d'espèces et de genres. Elle est distribuée dans le monde entier, dans toutes les régions tempérées majeures et même dans les régions subtropicales (Bothmer et al, 2003).

L'orge *Hordeum vulgare* L., appartient au genre *Hordeum* qui comporte 32 espèces et 45 taxons qui sont séparées en quatre sections (Bothmer, 1992). Les quatre sections proposées par Bothmer sont les suivantes : *Hordeum*, *Anisolepis*, *Critesion* et

Synthèse bibliographique

Stenostachys (Newman et Newman, 2008). Six espèces sont répertoriées dans la section *Hordeum*: *H. bulbosum*, *H. murinum ssp. glaucum*, *H. murinum ssp. leporinum*, *H. murinum ssp. murinum L.*, *H. vulgare ssp. vulgare*, et *H. vulgare ssp. spontaneum*. Les génomes de *H. vulgare ssp. vulgare* (l'orge cultivée) et *H. vulgare ssp. spontaneum* (l'orge sauvage), sont identiques et interfertiles. Une différence majeure entre ces deux sous-espèces est le rachis qui est dur pour l'orge cultivé et fragile pour l'orge sauvage de plus, *H. vulgare* peut avoir des épis à deux ou six rangs alors que les épis de *H. spontaneum* sont principalement à deux rangs (Newman et Newman, 2008). *Hordeum* présente un degré élevé de diversité biologique, certaines espèces sont annuelles souvent avec une endogamie plus ou moins stricte comme *H. marimum Huds.*, d'autres sont pérennes avec un système d'auto-incompatibilité comme *H. bulbosum L.* la majorité des espèces sont pérennes avec un système de reproduction varié (Bothmer et al., 2003).

L'orge est classée en fonction de la fertilité des épillets sur l'épi en deux groupes :

- ✚ Orges à six rangs : tous les épillets sont fertiles conduisant à six rangées verticales de graines sur l'épi.
- ✚ Orge à deux rangs : seul l'épillet central parmi les trois qui se trouvent au niveau de chaque nœud est fertile, ce qui produit seulement deux rangées de graines sur les côtés opposés du rachis (Katz, 2003).

On distingue également deux types d'orge, l'orge d'hiver et l'orge de printemps, l'orge d'hiver est semée en automne, vernalisé au cours de l'hiver et récolté au début de l'été, par contre l'orge de printemps est semée en printemps et récoltés à la fin de l'été (Morris et Bryce, 2000).

En commun avec d'autres céréales, la présence de pigments est une caractéristique importante dans l'identification des variétés d'orge. Les niveaux de pigments varient en intensité et peuvent être soumis à des facteurs environnementaux tels que la lumière du soleil et la sécheresse (Wrigley et al., 2016).

Synthèse bibliographique

3. Caractères botaniques et morphologiques

L'orge est autofécondée, entre vingt-cinq et soixante graines par épi sont produites (Katz, 2003). Les parties anatomiques de base d'un plant d'orge cultivé sont : les racines, les tiges, les feuilles, l'épi, l'épillet et le grain (Newman et Newman, 2008).

✚ Le système racinaire

Elle possède deux type, un système de racines primaires ou séminales composée de radicules séminales généralement autour de 5-7, qui émergent du coléorhize. Elles poussent dans le sol, ou elles s'étendent formant une masse fibreuse et ramifiée de racines dont certaines s'étendent profondément vers le bas. Il est fonctionnel de la levée au début du tallage.

Un système de racine secondaire ou adventice, il survient comme une série de verticilles irréguliers de la base de la couronne dérivé des nœuds basaux étroitement regroupés. Ils ont tendance d'être plus épais et moins ramifiés que les racines séminales, il apparaît au moment où la plante émet ses talles (Soltner, 2005).

✚ Le système aérien

Il est composé par un certain nombre d'unités biologiques ou talles, chaque talle est formée d'une tige feuillée ou chaume portant à son extrémité une inflorescence (Moule ,1971). La tige est cylindrique, elle est formée d'entre-nœuds séparés par des nœuds plus ou moins saillants. Généralement les entre-nœuds sont creux, ils sont de plus en plus longs de la base au sommet de la tige (Belaid, 1986). La feuille d'orge se compose d'une gaine, d'une ligule, d'une oreillette, et d'un limbe qui est lancéolée-linéaire ou graduellement effilée, avec une nervure centrale proéminente flanquée par 10 à 12 ou plus de nerfs latéraux parallèles (Newman et Newman, 2008). L'orge possède une ligule et des oreillettes glabres, très embarrassantes.

✚ L'inflorescence

Comprend un grand nombre de fleurs individuelles présentes dans des épillets individuels qui sont attachés au rachis. Les épillets sont attachés en groupes de trois sur les côtés opposés du rachis. Le nombre total d'épillets sur un épi varie mais atteint à la

Synthèse bibliographique

moyenne environ soixante. Les arêtes sont une caractéristique notable de l'épi dont la longueur varie considérablement selon les variétés d'orge (Katz, 2003).

✚ Le grain

Le fruit est un caryopse ayant des grains vêtus (les glumelles adhérentes au péricarpe) (Belaid, 1986). Il est de taille et de poids variable selon les espèces et les variétés. Le grain d'orge est composé de plusieurs parties : les enveloppes organisées en plusieurs assises (testa, péricarpe, glumelles), l'embryon, la couche à aleurone et l'albumen amylicé.



Fig. 2 : Plant d'orge. A gauche : racines, tige, feuilles. Centre : grain. En haut à droite : épi avec arête. En bas à droite : épillet (Newman et Newman, 2008)

Synthèse bibliographique

4. Exigences pédoclimatiques

L'orge est l'espèce céréalière la plus largement adaptée avec une bonne tolérance à la sécheresse, au froid et au sel. Elle est généralement produite dans les régions tempérées (orge d'hiver et de printemps), et les climats subtropicaux semi-arides (orge d'hiver) (Ullrich, 2011).

L'orge se développe dans des environnements très variés y compris les latitudes extrêmes ou d'autres cultures ne peuvent pas s'adapter. Elle s'étend jusqu'à l'arctique atteignant la limite supérieure de la culture en haute montagne, oasis du désert et les franges du désert. C'est une culture de saison fraîche, elle peut tolérer des températures élevées et basses si l'humidité est basse mais évite les climats chauds et humides. Elle pousse dans les hauts plateaux froids comme le Mexique, les Andes, l'Afrique de l'Est et le Tibet (Zhang, 2013).

Cette culture pousse très bien sur des sols limoneux bien drainés, avec des précipitations modérées (400 - 800 mm), ou sous irrigation et à des régimes de température modérée (15 - 30 °C) (Ullrich, 2011).

5. Importance économique de l'orge

Bien que l'orge soit considérée comme l'une des plus anciennes céréales cultivées et a été largement utilisée comme aliment dans le passé. Elle a généralement été relégué aux aliments de bétail (environ 60%), au malt (environ 30%) et aux semences (environ 7%), avec seulement une petite quantité (environ 3%) utilisée pour l'alimentation humaine dans la plupart des pays (Newman et Newman, 2008).

C'est la principale source alimentaire pour bétail ruminant et non ruminant, volaille et poisson (Singh et kumar, 2016). Elle sert d'être utilisée comme un substrat pour la production de boissons alcoolisées en particulier la bière (Katz, 2003). Elle est la céréale la plus préférée pour la récupération du malt, qui peut être utilisé pour le brassage, la distillation, les aliments pour bébés, les confiseries, les boissons au malt de cacao et les sirops médicinaux (Singh et Upadhyaya, 2016). Une multitude d'aliments à base d'orge, dont une variété de soupes d'orge, les bouillies chaudes, les pilafs, les

Synthèse bibliographique

pâtes, les collations et les pains de nombreux types peuvent être préparés à partir d'orge.

Des recherches récentes, ont confirmé les bienfaits de l'orge pour la santé humaine (Brockman et *al.*, 2013). Il a été démontré que l'orge en raison de sa teneur en fibres (β -glucanes), abaisse le taux de cholestérol sanguin, abaisse le taux de glycémie, avec des implications pour la santé cardiaque (Ullrich, 2011). Une décoction d'orge dans l'eau appelée « eau d'orge » est appréciée en médecine et utilisée pour le traitement de l'inflammation (Singh et Upadhyaya, 2016).

6. La production de l'orge dans le monde et en Algérie

L'orge est classée en quatrième position après le blé (200 million ha), le riz (120 150 million ha) et le maïs (100 à 150 million ha) (Zhang et Li, 2009). Elle est cultivée par près de 100 pays sur environ 50 millions d'hectares (Singh et kumar, 2016).

Les dix plus grands pays producteurs d'orge au monde sont : Fédération de Russie, France, Allemagne, Australie, Ukraine, Canada, Espagne, Royaume-Uni, Turquie et les Etats Unis d'Amérique (Stein et Muehlbauer, 2018). A l'heure actuelle, la Fédération de Russie représente le plus grand pays producteur en quantité, et également ayant la plus grande superficie semée d'orge (Stein et Muehlbauer, 2018). La production mondiale des principaux pays producteurs d'orge est présentée dans le **tableau1**.

Synthèse bibliographique

Tableau 1. Production de l'orge des dix grands pays producteurs au monde du 2014 au 2018 (FAO, 2020)

Pays	2014 (Production en tonne)	2015 (Production en tonne)	2016 (Production en tonne)	2017 (Production en tonne)	2018 (Production en tonne)
Fédération de Russie	20444258	17546155	17967161	20628955	16991907
France	11728556	13098234	10439229	12086796	11193034
Allemagne	11562800	11629900	10730500	10853400	9583600
Australie	9174417	8646321	8992274	13505990	9253852
Ukraine	9046060	8288380	9435710	8284890	7349140
Canada	7116800	8256600	8839400	7891300	8379700
Espagne	6983109	6705106	9176159	5785944	9129535
Royaume-Uni	6911000	7370000	6655000	7169000	6510000
Turquie	6300000	8000000	6700000	7100000	7000000
Etats Unis d'Amérique	3952610	4665770	4352610	3119070	3332970

En 2013, les exportations d'orge étaient évaluées à plus de 8,5 milliards de dollars (31 millions tonnes), avec les plus grands pays exportateurs (France, Australie, Argentine, Allemagne et Ukraine); Inversement, la valeur des importations d'orge dans le monde a dépassé un peu plus 9,4 milliards de dollars avec l'Arabie saoudite (10,5 millions de tonnes), représentant le plus grand pays importateur avec près d'un tiers du total des importations mondiales d'orge (Stein et Muehlbauer, 2018). La majorité des pertes de rendements sont due aux facteurs biotiques et abiotiques, dont la culture est sujette ; des programmes de sélection se focalisent essentiellement sur ces deux facteurs à fin d'atteindre la stabilité de la production globale (Singh et kumar, 2016).

Les prévisions de l'USDA, prévoient la production mondiale d'orge à environ 147,05 millions de tonnes métriques au cours de la campagne agricole 2021/2022, contre environ 160,53 millions de tonnes en 2020/2021 (**fig.3**).

Synthèse bibliographique

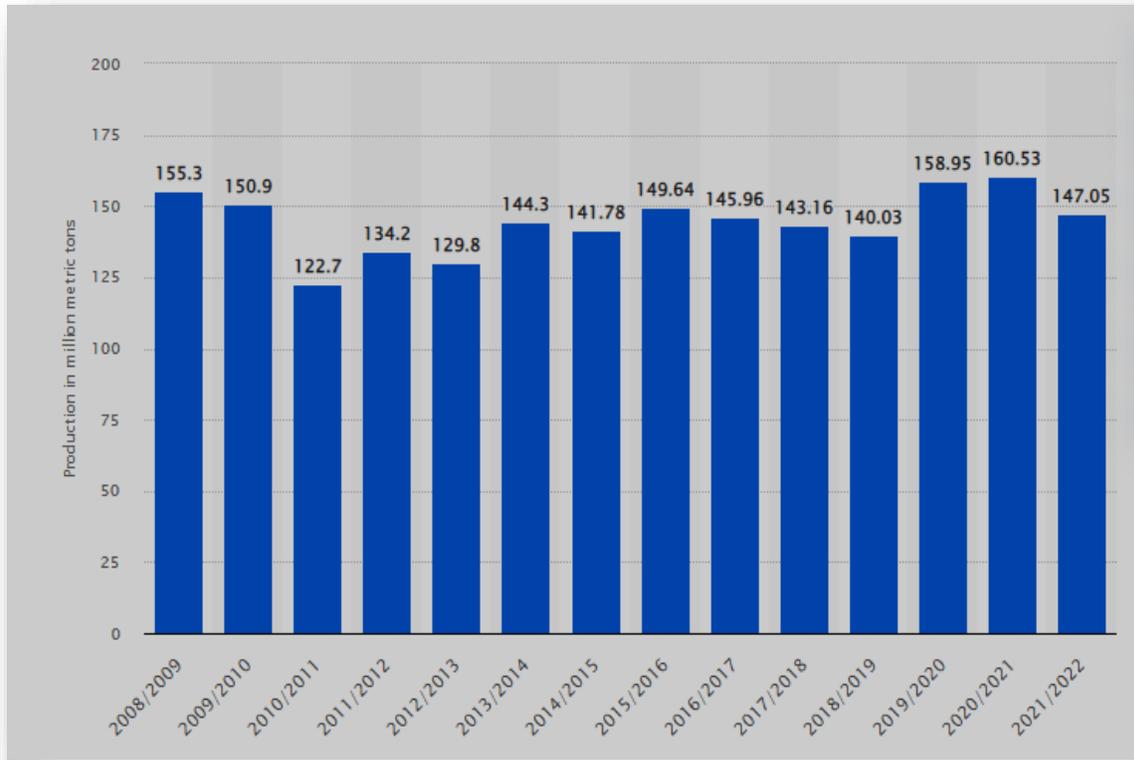


Fig.3 : La production mondiale de l'orge (Statista, 2022)

En Algérie au début du XIXe siècle, l'orge venait en tête des cultures par son importance, elle était destinée à la consommation humaine et comme complément fourrager. Actuellement, l'orge occupe la troisième position après le blé dur et le blé tendre en termes de superficie plantée et de production. Elle représente le principal aliment de bétail (Rahal-Bouziane *et al.*, 2015).

Cette culture est pratiquée dans des conditions pluviales sur les hauts plateaux, où les précipitations annuelles moyennes varient entre 250 et 450 mm (Benbelkacem, 1996). Environ 1 million d'hectares sont cultivés chaque année, et la production moyenne à long terme est estimée à 1,01 million de tonnes avec un rendement moyen de 1,3 t/ha (Reguieg *et al.*, 2013). Malgré l'existence d'une large gamme de cultivars améliorés dans le programme national d'amélioration de l'orge, les fluctuations et les faibles rendements obtenus au niveau des exploitations constituent un problème majeur. Ceci est principalement dû aux conditions climatiques difficiles et au

Synthèse bibliographique

manque ou l'utilisation inadéquate des pratiques culturelles appropriées par de nombreux agriculteurs pauvres en ressources (Reguieg et *al.*, 2013).

Bien que 21 variétés d'orge soient répertoriées dans le catalogue national des variétés des céréales (CNCC 2015), la majeure partie de la superficie cultivée en orge est plantée avec deux variétés adaptées localement, à savoir Saida et Tichedrett, qui ont été officiellement homologuées en 1995 et 1997. Les superficies semées avec ces deux variétés représentent respectivement 90% et 10% de la superficie totale en orge. La variété Saida est cultivée à l'Ouest, en particulier dans la région de Saida, tandis que Tichedrett est cultivée à l'Est du pays, en particulier dans les hautes altitudes de la région de Sétif (Reguieg et *al.*, 2013).

Tableau 2. Evolution de la superficie et de la production de l'orge en Algérie (FAO, 2020)

Année	Superficie (ha)	Production (tonne)	Rendement (qx/ha)
2014	791843	939401	11,863
2015	802336	1030556	12,844
2016	1236204	919907	7,441
2017	1303149	969696	7.441

7. Les principales maladies de l'orge

L'orge est vulnérable à de nombreuses attaques biotiques, y compris celles provoquées par les champignons, bactéries, virus, nématodes et insectes, ce qui génèrent des réductions du rendement sur le plan quantitatif et qualitatif. Les principales maladies fongiques de l'orge sont regroupées dans le **tableau 3**.

Synthèse bibliographique

Tableau 3. Principales maladies fongiques de l'orge (Sayoud et al., 1999 ; Gangwar, 2018)

Nom de la maladie	Nom du pathogène	Symptômes
Rayure réticulée	<i>Pyrenophora teres</i>	Lésions irrégulières entourées par une zone chlorotique.
Tache helminthosporienne	<i>Cochiobolus sativum</i>	bigarrures ovales ou allongées, de couleur brun clair à brun foncé qui contrastent vivement avec le vert de la feuille normale.
Strie foliaire	<i>Pyrenophora graminea</i>	Les feuilles manifestent sur toute la longueur des stries étroites jaunâtres parallèles aux nervures qui virent au brun sombre ce qui entraîne le dessèchement du limbe.
Rhynchosporiose	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Grandes taches souvent de forme ovoïde sèches au centre et entourées par des anneaux de couleur brune.
Oidium	<i>Erysiphe graminis f.sp.hordei</i>	La formation d'un duvet de couleur blanche ou gris clair sur la face supérieure des limbes des feuilles, le revêtement prend, en vieillissant, une couleur plus foncée, jaune gris tandis qu'à la face inférieure des feuilles attaquées présente des taches jaunâtres aux endroits infectés.
Rouille brune	<i>Puccinia hordei</i>	Petites pustules brunes observées sur les feuilles, qui deviennent noir à la maturité
Charbon couvert de l'orge	<i>Ustilago hordei</i>	Un amas de spores qui se forment sur l'épi recouvert par une membrane persistante.
Charbon nu de l'orge	<i>Ustilago nuda</i>	Un amas de spores qui se forment sur l'épi recouvert temporairement par une membrane qui se déchire après l'épiaison.

CHAPITRE 2 : La Rayure réticulée de l'orge

1. Importance et distribution géographique de la maladie

La rayure réticulée de l'orge causée par l'Ascomycète *Pyrenophora teres* Drechsler (anamorphe: *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker), est une maladie foliaire très commune dans la plupart des régions productrices d'orge du monde entier (Liu et *al.*, 2011). Elle se rencontre partout où cette culture est cultivée dans les régions tempérées et humides. Elle n'est devenue importante que depuis les années 1960, probablement en raison d'une intensité accrue et d'une étroite rotation des cultures d'orge, la réduction du travail du sol et les pratiques de rétention des chaume (McLean et *al.*, 2009 ; Ullrich, 2011).

Les pertes dues à cette maladie peuvent fréquemment aller de 10 à 40%, néanmoins elles peuvent avoisiner les 100% chez certains cultivars d'orge très sensibles (Mathre, 1982). Aux États-Unis, les pertes de rendement ont dépassé les 35% au cours des années épidémiques (Murray et *al.*, 2009).

Les pertes de rendement peuvent aller de 10 à 40 % dans le cas d'une infection par la forme réticulée de la rayure réticulée (Murray et Brennan, 2010). D'un autre côté, des pertes de rendement allant jusqu'à 44 % ont été signalées pour la forme tache brune de la rayure réticulée (Jayasena et *al.*, 2007).

Cette maladie a été largement diffusée en Europe occidentale dans les années 1970 et au début des années 1980, où elle a causé de graves pertes de rendement (Skou et Haahr, 1987). En France elle a révélé un caractère épidémique depuis une dizaine d'années (Bendahmane et *al.*, 1992). Une prévalence accrue de la maladie a également été dénoncé dans de nombreux pays d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient (Douiyyssi et *al.*, 1996). Au Maroc, les pertes de rendement moyennes variaient de 14 à 29% chez des variétés résistantes, produisant un rendement de 39% chez des variétés sensibles en absence de lutte contre la maladie et de 56% sous traitement fongicide (El Yousfi et Ezzahiri 2002). La rayure réticulée est considérée comme l'une des maladies les plus fréquentes en Algérie, dont les pertes de rendement peuvent atteindre les 40%, en

Synthèse bibliographique

affectant le grain par la réduction de son poids et de sa teneur en hydrate de carbone (Sayoud et *al.*,1999).

La composante du rendement la plus gravement affectée est le poids du grain, qui est communément en termes de poids à 1000 grains, ce qui explique les chutes de rendement (Arabi et *al.*, 1992).

2. Symptomatologie

Les symptômes de la maladie se manifestent sur les feuilles, les gaines foliaires, les tiges et les graines d'un plant d'orge, cependant, ceux sur feuilles définissent la maladie et ont plus d'importance économique (Liu et *al.*, 2011).

L'infection se manifeste au début sur les plantules adultes par des zones grisâtres verdâtre imbibées d'eau (phénomène de water soaking) ; par la suite, ces lésions deviendront brunes. Les tissus adjacents deviennent chlorotiques et les feuilles gravement infectées peuvent devenir complètement nécrotiques et desséchées. Ces symptômes peuvent varier selon l'isolat de l'agent pathogène, du génotype et du stade de croissance de l'hôte et de l'environnement (McLean et *al.*, 2009).

Les symptômes induits sur l'orge se produisent selon deux formes différentes : la forme réticulée causée par *Pyrenophora teres Drechs. f. teres*, produisant des stries nécrotiques longitudinales ou transversales donnant souvent l'aspect d'un motif caractéristique en forme de filet ; et la forme tache brune causée par *Pyrenophora teres Drechs. f. maculata*, qui présente des lésions elliptiques brunes bien définies (Smedegard-petersen,1977) (**Fig.4**). Les lésions qui surviennent diffèrent selon le génotype de l'orge et la souche du pathogène. Les symptômes de nécrose et de chlorose observées pour les deux formes du pathogène sont causés par des composés protéiques et des composés phytotoxiques de faible poids moléculaire (Sarpeleh et *al.* 2007). Smedegård-Petersen (1977), a isolé deux toxines, la toxine A et la toxine B, à partir de cultures de *P.teres* qui sont à l'origine de la formation des nécroses, chloroses et le water-soaking sur les feuilles d'orge. La troisième toxine C dérivée de l'aspergillomarasmine a ensuite été identifiée par Bach et *al.* (1979). L'activité de ces

Synthèse bibliographique

toxines sur l'orge dépend à la fois de la température et de la lumière (Sarpeleh et *al.*, 2008).

Des difficultés peuvent parfois se rencontrer sur le terrain afin de différencier entre les deux formes de la maladie, cela peut être attribué aux conditions environnementales et aux différentes réactions de l'hôte vis-à-vis du pathogène (Williams et *al.*, 2001).

Les symptômes de la tache brune induits par *Pyrenophora teres f. maculata* ressemblent souvent à la tache Helminthosporienne causée par *Cochliobolus sativus* ; il est indispensable d'examiner la morphologie conidienne des deux agents pathogènes pour déterminer le véritable agent causal (McLean et *al.*, 2009).

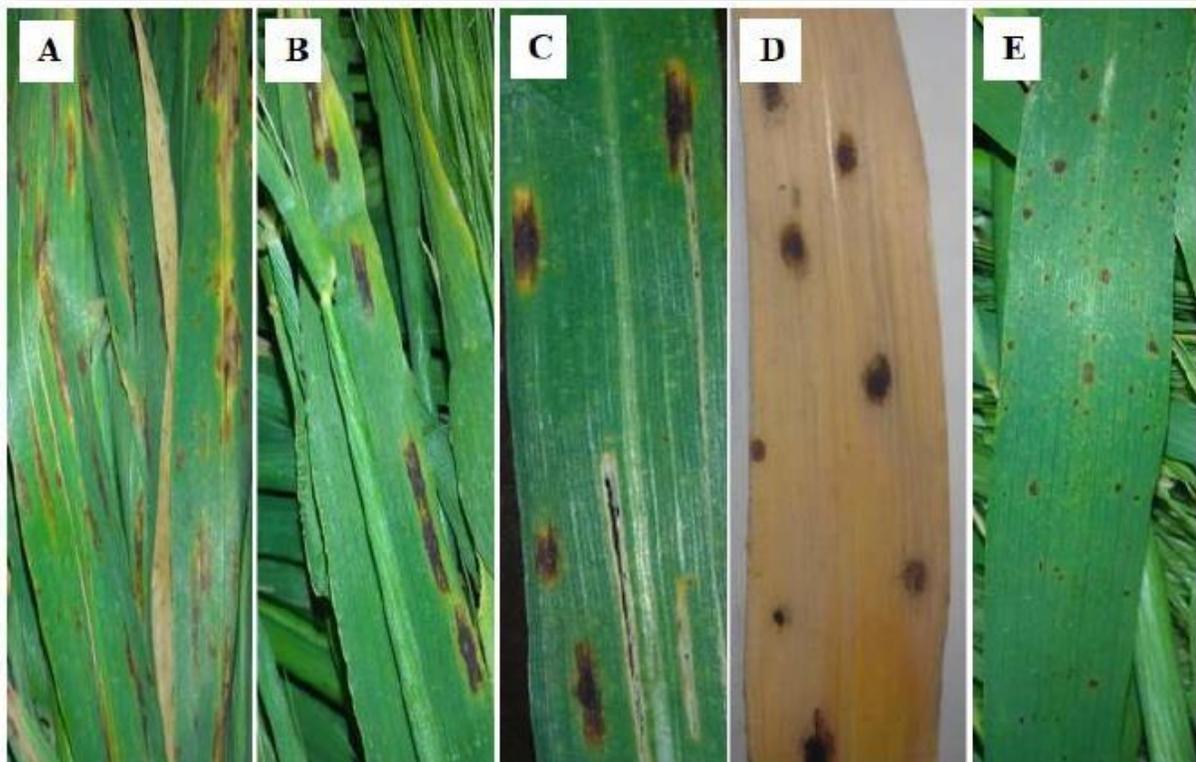


Fig4 : Symptômes de la rayure réticulée causés par *P.teres* (Mougou-Hamdane et *al.*, 2018)

A : forme réticulée, B : taches linéaires, C : rectangulaires, D : ovales, E : ponctiformes.

Synthèse bibliographique

3. L'agent pathogène : *Pyrenophora teres*

3.1. Historique et taxonomie

Pyrenophora teres est classé comme suit : (Liu *et al.*, 2011)

Règne : Fungi
Phylum : Ascomycota
Subphylum : Pezizomycotina
Classe : Dothidiomycetes
Ordre : Pleosporales
Famille : Pleosporaceae
Genre : *Pyrenophora*
Espèce : *Pyrenophora teres*

La première description de *P. teres* remonte à 1923, lorsque le stade sexué a été découvert par Drechsler (Drechsler 1923) in (Alcorn, 1988). Le stade imparfait du champignon appartenant précédemment au genre *Helminthosporium* a été assigné dans le nouveau genre *Drechslera* sur la base de ses conidies cylindriques, non courbées, germant de chaque cellule, et son association avec le téléomorphe *Pyrenophora* (Alcorn, 1988). La forme tache brune provoquée par *P.teres f. maculata* a été enregistrée pour la première fois en tant qu'une espèce différente appelée *Pyrenophora japonica*. McDonald (1967), a identifié un isolat dont la description est similaire à celle de *P. japonica*, et il a réussi à réaliser son croisement avec un isolat connu de *P. teres*.

L'inter-fertilité de *P. japonica* et *P. teres* a également été observée par Smedegård-Petersen (1971) ; qui par la suite a séparé l'espèce *Pyrenophora teres* en deux taxons intraspécifiques suivants : *Pyrenophora teres f. sp. teres* et *P. teres f. sp. maculata* pour le téléomorphe, et par conséquent, *Drechsiera teres* en *Drechsiera teres f. sp. teres* et *D. teres f. sp. maculata* pour l'anamorphe au dépend des symptômes observés sur l'orge. Campbell *et al* (1999), ont reporté l'hybridation de *P. teres f. teres* et *P. teres f. maculata* en laboratoire avec une progéniture résultante causant des lésions taches brunes, des lésions réticulées et des lésions intermédiaires entre les deux. Dans la plupart des études, *P.teres* se divise en deux groupes phylogénétiques distincts qui

Synthèse bibliographique

doivent être traités comme des agents pathogènes différents (Lehmensiek et *al.*, 2010; Akhavan et *al.*, 2016).

On distingue trois principales maladies destructives de l'orge connues depuis longtemps causées principalement par trois espèces du genre *Helminthosporium* :

- *Cochliobolus sativus* Drechs., Téléomorphe de *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (Syn. *Helminthosporium sativum*), agent responsable de la tache helminthosporienne de l'orge.
- *Pyrenophora graminea*, Téléomorphe de *Drechslera graminea* (Rab.) Shoem, (Syn. *Helminthosporium gramineum* Rab.), agent responsable de la strie foliaire de l'orge.
- *Pyrenophora teres* Drechs., Téléomorphe de *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. (Syn. *Helminthosporium teres* Sacc.), agent responsable de la rayure réticulé de l'orge (Karki, 1985).

3.2. Gamme d'hôtes

Hordeum vulgare et *H. vulgare* ssp. *Spontaneum*, sont considérés comme les principaux hôtes de *P. teres* (Liu et *al.*, 2011). *P. teres* f. sp. *maculata*, a l'aptitude d'infecter plusieurs espèces du genre *Avena*, *Bromus* et *Triticum* ; parmi lesquels L'avoine (*A. sativa*) et le blé (*T. aestivum*) (Shipton et *al.* 1973). *P. teres* f. *teres* possède une gamme d'hôte encore plus large pouvant infecter des espèces appartenant aux genres *Agropyron*, *Brachypodium*, *Elymus*, *Cynodon*, *Deschampsia*, *Hordelymus* et *Stipa* (Brown et *al.*, 1993). Les espèces sauvages d'*Hordeum* sont les plus propices à l'infection et donc les plus susceptibles de jouer un rôle dans l'épidémiologie de la maladie; Bien que d'autres espèces sauvages de graminées aient le potentiel d'hôtes alternatifs pouvant servir de source d'inoculum primaire (Liu et *al.*, 2011).

3.3. Description morphologique du pathogène

P. teres f. *teres* et *P. teres* f. *maculata*, sont morphologiquement identiques et peuvent être distinguées uniquement par les symptômes observés sur l'hôte ou bien par le biais d'une caractérisation moléculaire (Williams et *al.*, 2001 ; Leisova et *al.*, 2005). Le pathogène se reproduit à la fois sexuellement et asexuellement (Karakaya et *al.*, 2004 ; Backes et *al.*, 2021) ; on distingue :

Synthèse bibliographique

Le stade téléomorphe ou le stade parfait se produit sous forme de pseudothèces, portant des soies foncées sur les chaumes d'une culture précédemment infectée par la maladie. Au sein duquel se forment des asques bituniqués, en forme de massue avec de courtes tiges. Les ascospores sont dictyospore et légèrement rétréci au niveau des septa, jaunâtre ayant une taille de $49 \times 15 \mu\text{m}$ (Jayasena et *al.*, 2004).

Le stade anamorphe se produit sous forme de conidies qui sont cylindriques, droites, à extrémités arrondies et à paroi lisse. Elles sont pluricellulaires et les cellules sont séparées par 1 à 9 pseudocloisons (souvent 4 à 6). Elles sont généralement accompagnées par des constriction, ayant des dimensions de $50-140 \times 15-25 \mu\text{m}$ (Nasraoui, 2008).

Les pycnides se développent sur les débris de paille, les fragments de feuilles et les graines infectées. Ils mesurent 67 à $180 \mu\text{m}$, et les pycnidiospores mesurent $(1,5$ à $3,1 \times 1,2$ à $2,1 \mu\text{m})$ (Jordan, 1981).

Les sclérotés sont des fructifications subsphériques, qui peuvent être converties soit en périthèces si elles sont fécondées par des spermaties ou en sclérotés si la fécondation échoue. Ces structures peuvent rester viables pendant deux ans dans le sol (Barrault, 1989).

Synthèse bibliographique

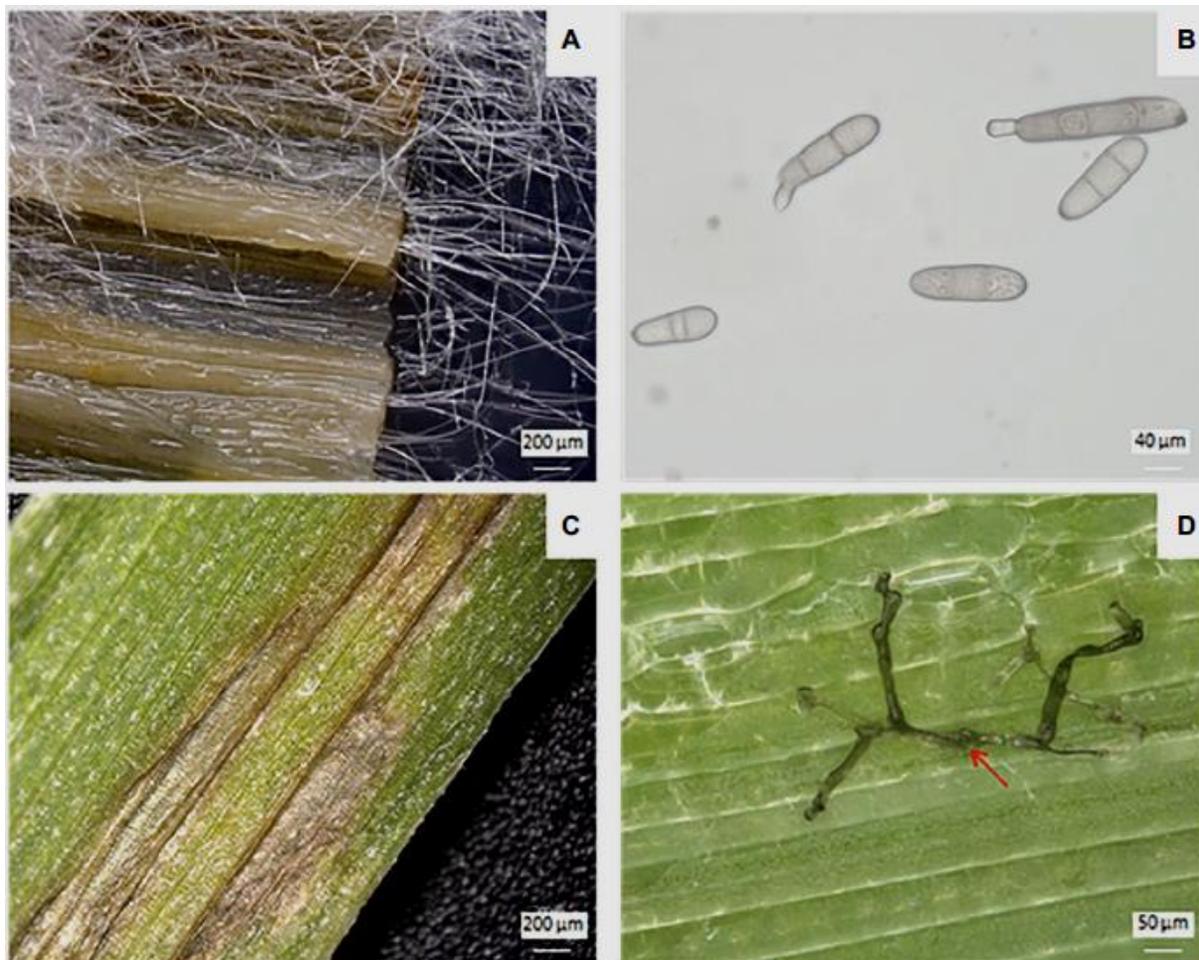


Fig.5 : Formes végétative et reproductive de *P. teres* et leurs symptômes sur les feuilles d'orge (Backes et al. 2021)

A : Mycélium de *P. teres* sur feuilles d'orge déposée sur milieu PDA
C : Symptômes de chlorose et des nécroses sur feuilles.

B : Conidies de *P.teres*.

D : Pénétration du mycélium dans la feuille

3.4. Cycle biologique du pathogène

Le cycle de vie de *P. teres* implique à la fois la phase asexuée et la phase sexuée. Les deux formes du pathogène peuvent hiverner sur les résidus de cultures infestés sous forme de mycélium et de pseudothèce, ou bien sous forme de mycélium sur les semences d'orge (Suciu et al., 2021). *P. teres* peut survivre dans la graine pour infecter les jeunes plants au cours de la prochaine saison. Bien que cela se produit plus fréquemment dans des environnements frais et humides ; les plantes hôtes alternatives peuvent également héberger le pathogène (Jordan 1981) (**fig.6**).

Synthèse bibliographique



Fig.6 : Sources d'infection par la rayure réticulée de l'orge, et le développement des symptômes (Suciu et *al.*, 2021)

La principale voie d'infection primaire de *P. teres* au début de la saison de croissance est la production de conidies asexuées et d'ascospores sexuées sur les résidus d'orge infectés (Jordan, 1981). Ces dernières sont transportées par le vent et les éclaboussures d'eau. L'infection par l'agent pathogène est favorisée par des périodes humides d'au moins 10 heures et des températures comprises entre 15 et 20°C (Gangwar et *al.*, 2018).

La voie d'infection secondaire se fait par le biais du vent et des éclaboussures de pluie qui libèrent passivement des conidies asexuées haploïdes sur les feuilles supérieures et les plantes environnantes principalement dans le même champ pendant la saison de croissance. Dans les régions où l'environnement n'est pas propice à la production du stade parfait du champignon, les conidies constitueront la source la plus importante d'inoculum primaire conduisant à l'initiation d'épidémie (Ullrich, 2011). Pendant la saison de croissance, plusieurs cycles secondaires peuvent se produire, provoquant une sévérité élevée de la maladie sur les plantes sensibles si les conditions environnementales sont favorables (Liu et *al.*, 2011). À la fin de la saison de croissance,

Synthèse bibliographique

le champignon colonise les tissus sénescents, produisant finalement des « pseudothèces », structure téléomorphe protectrice utilisée pour son hivernement (Liu et al., 2011). Lightfoot et Able (2010), ont montré que *Ptt* et *Ptm* possèdent des stratégies d'infection et de croissance distinctes au sein de la plante. Le mode de vie de *Ptm* est initialement biotrophe dans l'épiderme avant d'être nécrotrophe dans le mésophylle tandis que *Ptt* exclut complètement le stade biotrophique (Lightfoot et Able, 2010).

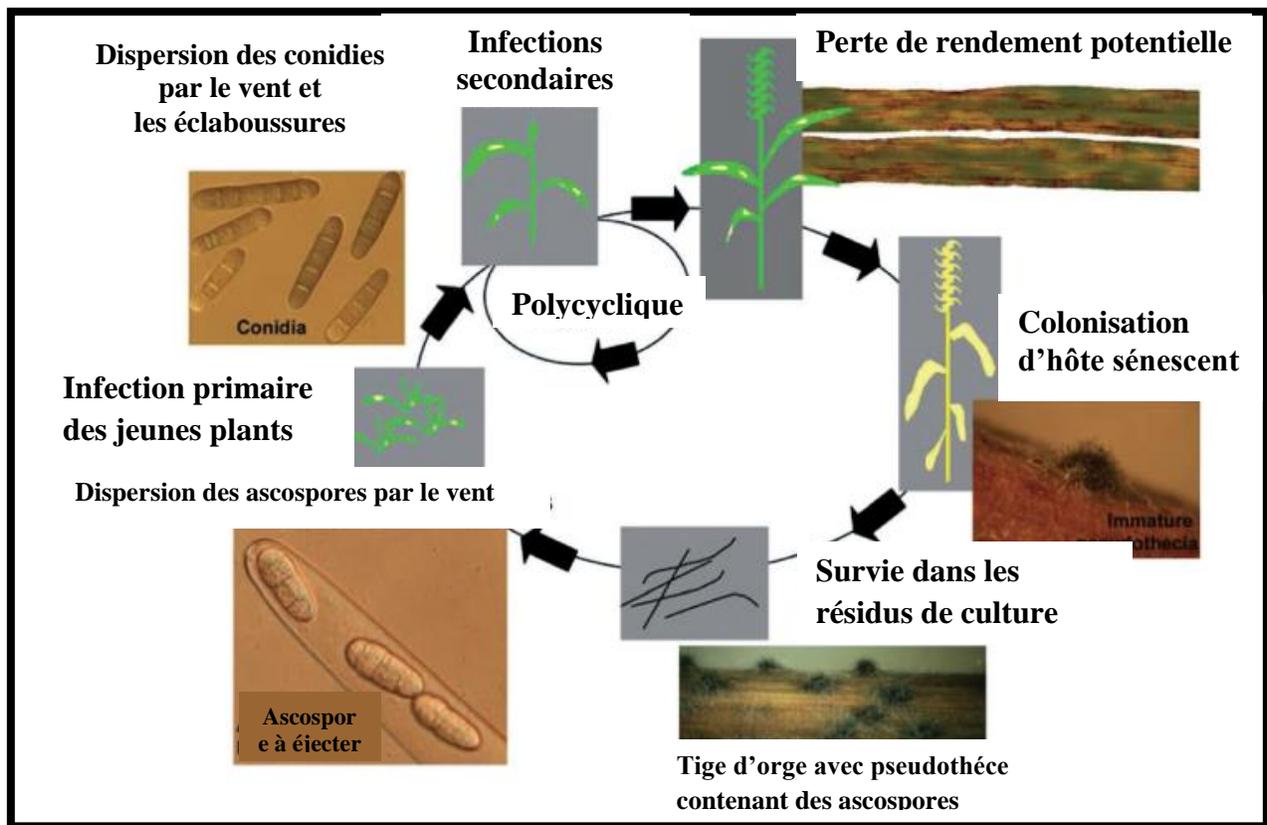


Fig.7 : Cycle de vie de *Pyrenophora teres* f. *teres* et *P. teres* f. *maculata* (Liu et al., 2011)

La pénétration des hyphes de *Ptm* qui germent à partir des conidies dans la plante se fait généralement dans les cellules épidermiques, suivie par la formation de vésicules intracellulaires. C'est une stratégie d'alimentation caractéristique des champignons biotrophes, par la suite, le champignon se propage par voie sous-épidermique puis extracellulaire dans le mésophylle ; la mort des cellules épidermiques et du mésophylle

Synthèse bibliographique

est observée dans les cellules directement adjacentes aux hyphes. En revanche, les hyphes de *Ptt* montrent une croissance prolongée à la surface des feuilles avant d'entrer dans le tissu entre les cellules épidermiques. *Ptt* pousse aussi de manière intercellulaire dans tous le mésophylle, et la croissance des hyphes s'étend couvrant une plus grande surface que les hyphes *Ptm* (Lightfoot et Able, 2010).

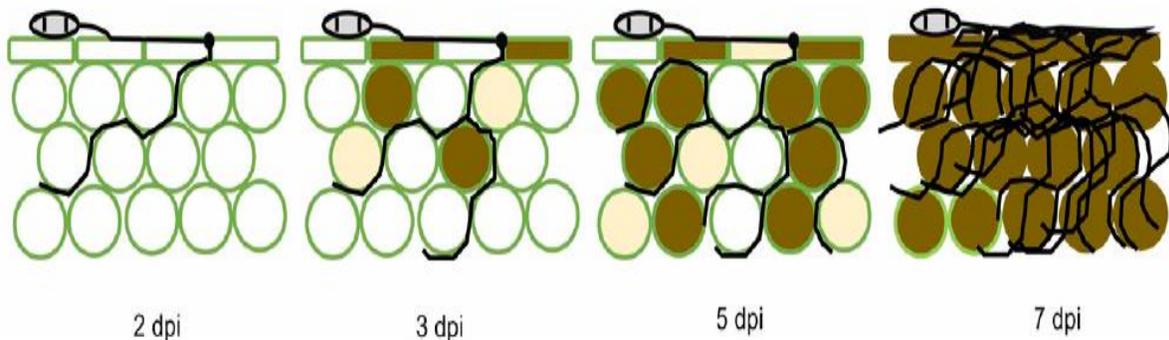


Fig.8 : Processus infectieux causé par *P. teres* f. *teres* au niveau des plantes d'orge entre 2 à 7 jours postinoculation. Les cellules colorées représentent celles qui semblent être mortes (Moolhuijzen et al., 2021)

4. Diversité phénotypique de *P. teres*

La variation des caractères morphologiques dans les milieux de culture comme la couleur, la structure du mycélium aérien et la sporulation etc, a été observée par de nombreux chercheurs (McDonald, 1967 ; Smedegard-Petersen, 1971 ; Frazzon et al., 2002 ; Baturó Ciesniewska, 2012 ; Owino, 2013 ; Boungab, 2013).

McDonald (1967), a mis au point une certaine variabilité de la couleur du mycélium des isolats de *P.teres* obtenus de différentes locations. Smedegard Petersen (1971), a reporté que de nombreux isolats de *Pyrenophora teres* f. *maculata* avaient tendance à perdre la capacité de former des touffes mycéliennes et des conidies en culture après deux ou trois transferts mycéliens. Les phénotypes apparaissent variés après des transferts mycéliens répétés (McDonald, 1967). Frazzon et al. (2002), ont révélé une variabilité morphologique au sein de huit isolats brésilien de *D. teres* , et ils les ont regroupé en trois morphotype d'après la couleur et l'aspect des colonies

Synthèse bibliographique

cultivées sur milieu (PDA). Baturo-Ciesniewska et al. (2012), ont souligné l'existence de 7 groupes morphologiques différents dans la couleur et la texture du mycélium au sein d'une population polonaise constituée de 41 isolats de *D.teres*. Owino et al (2013), ont identifié l'existence de cinq diverses morphotypes de *P.teres* en Kenya qui se distinguent par la couleur, la texture de colonies et la taille des conidies. Boungab (2013), a démontré l'existence de quatre morphotypes au sein de 60 thalles de *P.teres*.

5. Diversité pathologique de *P. teres*

La virulence des populations de *P. teres* est influencée par leurs constitution génétique, leurs profils de toxines, l'état de reproduction du pathogène, les facteurs environnementaux et le génotype de l'hôte (O'Brien, 2005). Néanmoins, la virulence demeure la caractéristique la plus pertinente des champignons phytopathogènes car elle reflète le résultat d'interactions spécifiques entre l'hôte et l'agent pathogène. La connaissance du niveau de la virulence est très importante pour les sélectionneurs des végétaux (Afanasenko et al., 2009). L'évaluation de la variation et de la répartition des isolats virulents de l'agent causal de la rayure réticulée de l'orge est nécessaire pour un programme de sélection de résistance réussi (Grünwald et al. 2003).

La variation pathogénique de *P. teres* est connue depuis 1949 (Pon, 1949). Khan et Boyd (1969) étaient les premiers à utiliser des lignées d'orge différentielles pour déterminer les races physiologiques de *D. teres*. Les populations de *Pyrenophora teres*, sont variables dans leur degré de pathogénicité; cette variabilité dans les deux formes de la population de *Pyrenophora teres* ou dans l'une d'elles a été détectée dans plusieurs régions du monde (Steffenson et Webster, 1992; Wu et al. 2003; Arabi et al., 2003; Jebbouj et El Yousf, 2010; Boungab et al, 2012; Oğuz et Karakaya, 2017).

Un ensemble de 91 isolats de *P. teres f. teres* prélevé à partir des champs d'orge infestés pendant trois années différentes en Californie était composé de 13 pathotypes distincts, et cela en se basant sur leur réaction vis-à-vis de 22 génotypes différentiels d'orge (Steffenson and Webster, 1992). Jebbouj et El Yousfi (2010), ont mis en évidence que la population marocaine comprenant 61 isolats de *Ptt* et 21 de *Ptm* était composée de 10 et 9 pathotypes respectivement. Boungab et al., 2012 ont souligné

Synthèse bibliographique

la présence de 12 pathotypes au sein de 48 isolats Algérien de *Ptt* en fonction de leurs réactions sur une gamme de 22 variété différentielles d'orge. Çelik Oğuz et Karakaya, 2017, ont identifié en Turquie 26 pathotypes à partir de 50 isolats de *Ptm* et 24 pathotype à partir de 40 isolats de *Ptt*, et cela à partir de 25 variétés différentiel d'orge.

6. Diversité génétique de *P. teres*

6.1. Hétérothallisme et mating types

La compatibilité sexuelle chez les *Ascomycètes* est déterminée par des gènes résidant dans le locus mating type (MAT). Le locus MAT a différents allèles (idiomorphes) (Turgeon and Yoder, 2000). Chez les *Ascomycètes* hétérothalliques tels que *Pyrenophora teres*, les isolats ont les idiomorphes MAT1-1 ou MAT1-2 dans leur génome haploïde et une reproduction sexuée réussie nécessite la présence de type d'accouplement opposé. En revanche, les individus d'*Ascomycètes* homothalliques contiennent à la fois les idiomorphes MAT1-1 et MAT1-2 dans leurs génomes et sont donc autofertiles (Wilken et al., 2012). L'existence de deux souches fongiques d'idiomorphe différent à proximité l'une de l'autre est une condition préalable au développement du stade téléomorphe, chaque type de mating type détecte l'autre par des phéromones produites par le type opposé (Rau et al., 2005).

Pour l'identification des Mating type de *P. teres*, plusieurs amorces ont été utilisées ; Rau et al (2005), ont développé deux paires d'amorces spécifiques sans distinguer entre les deux formes du champignon ; les amorces MAT1 forward et reverse qui génèrent un produit d'environ 1300 pb, et les amorces MAT2 F et R qui génèrent un produit d'environ 1150 bp . Lu et al (2010), ont également développé des amorces SNP, qui peuvent discriminer les deux formes et les deux types d'idiomorphes simultanément par l'amplification des produits PCR distincts. Pour que la reproduction sexuée se produit, les deux types d'accouplement doivent être présents à des fréquences statistiquement égales (Bogacki et al., 2010). Les deux mating types identifiés à des fréquences inégales sont associé à une forte probabilité de reproduction asexuée via les conidies (Sommerhalder et al., 2006).

Plusieurs études ont montré que la distribution des idiomorphes de *P. teres* était assez variable dans le monde ; Batur-Ciesniewska et al (2012), ont révélé qu'au

Synthèse bibliographique

sein des isolats polonais de *Ptt*, le rapport des deux idiomorphes était de 1 : 1 avec une certaine prévalence de MAT1. Ficsor et al (2014), ont identifié une distribution égale des deux idiomorphes au sein de la population Hongroise de *Ptt*. Akhavan et al (2015), ont déduit qu'au Canada, les deux mating type ont été observés à des fréquences égales pour les deux formes de la population de *P.teres*. Çelik oğuz et al (2018), ont souligné la présence des deux idiomorphes de *Ptm* en fréquence égale ce qui soutient l'hypothèse de la reproduction sexuée, Cependant, la population de *Ptt* en Turquie ne correspondait pas à un rapport de 1 :1 sauf pour la population d'Anatolie central. La présence des deux types d'accouplement et la recombinaison sexuelle pourraient conduire à de nouveaux génotypes du champignon ; Les nouvelles souches du champignon peuvent être plus virulentes que les souches actuelles (Çelik Oğuz et al., 2018).

6.2. Etude de la diversité génétique

La structure génétique d'une population est définie comme « la quantité et la distribution de la variation génétique au sein et entre les populations ». Elle est le résultat de l'action de l'ensemble des forces évolutives : mode de reproduction, flux de gènes, dérive génétique, mutation et sélection sur une population (McDonald et Linde 2002). La structure génétique de la population d'agents phytopathogène indique leurs capacité à s'adapter aux changements dans la constitution génétique de la population hôte et peut être utilisée pour prédire combien de temps une mesure de contrôle ou une source de résistance est susceptible d'être efficace (Campbell et al., 2002 ; Serenius et al., 2007).

P. teres possède un système de reproduction mixte et un système d'accouplement croisé, en raison de ces caractéristiques, *Ptt* et *Ptm* entrent dans la catégorie des agents pathogènes ayant une grande capacité d'adaptation aux gènes de résistance de la plante hôte ainsi qu'aux fongicides (Backes et al., 2021). La structure de la population dépendrait largement de l'importance relative de ses deux types de reproduction dans leur cycle de vie (Liu et al., 2011).

Synthèse bibliographique

La mutation joue également un rôle important dans l'élargissement de la diversité génétique de *P.terres*, car il est haploïde pendant la majeure partie de son cycle de vie (Statkeviciūtė et al., 2010; Çelik Oğuz et al., 2019). L'étude de la structure et de la diversité génétique des populations est important dans la gestion des maladies fongiques, en particulier pour le déploiement réussi de la résistance de l'hôte et l'utilisation efficace des fongicides (Liu et al., 2011). La majorité des études génétiques des populations de *P.terres* menées ces dernières années dans un large éventail de lieux géographiques à travers le monde, rapportent que ce champignon possède une grande variabilité ; indiquant un niveau significatif de reproduction sexuée sur le terrain au sein de chaque forme de *P. terres*, notamment au Canada, USA, Italy, Afrique du sud (Akhavan et al., 2015; Peever et Milgroom, 1994; Rau et al., 2003; Campbell et al. 2002).

La variation génétique au sein des populations est plus grande qu'entre elles et la différenciation génétique est généralement plus élevée entre populations éloignées qu'entre populations adjacentes (Peever et Milgroom, 1994 ; Jonsson et al., 2000 ; Campbell et al., 2002 ; Serenius et al., 2007 ; Akhavan et al., 2016). Peu d'individus d'origine sexuée par génération sont suffisants pour générer une grande diversité génétique dans une population de *P.terres* (Rau et al., 2003). Lorsqu'une grande variabilité de *P. terres* est combinée avec un potentiel de reproduction sexuée et une propagation à longue distance via les semences infectées, la capacité d'émergence de nouveaux pathotypes virulents est élevée (Çelik Oğuz et Karakaya, 2021). Des études examinant les deux formes du champignon ont rapporté que la variation et la différenciation génétique de la population de *P. terres f. terres* sont plus élevées que celle de *P. terres f. maculata*, cela peut être dû au faible taux de migration et à la présence de reproduction asexuée ou sexuée dans les populations (Serenius et al., 2007 ; Rau et al., 2007 ; Lehmensiek et al., 2010).

La structure génétique de la population d'un organisme peut être étudiée à l'aide de marqueurs génétiques, qui représentent des sites polymorphes dans le génome (Peever et Milgroom, 1994). Différents marqueurs moléculaires ont été explorés afin d'étudier la structure génétique de *P.terres* à l'échelle mondiale, majoritairement les

Synthèse bibliographique

AFLP (Rau et *al.*, 2003; Leišova et *al.*, 2005; Stefansson et *al.*, 2012), RAPD (Peever et Milgroom, 1994; Jonsson et *al.* 2000, Campbell et *al.*, 2002, Ficsor et *al.*, 2014), SSR (Bogacki et *al.*, 2010 ; Akhavan et *al.*, 2016, Vasighzadeh et *al.*, 2021) et RFLP (Wu et *al.*, 2003).

Les marqueurs moléculaires ISSR (Inter simple sequence repeat), constituent un puissant système de marqueur moléculaire d'ADN dominant utilisé pour l'analyse de la diversité, il était décrit pour la première fois par Zietkiewicz et *al.* (1994). Il a été principalement utilisé pour des études génétiques des populations végétales et animales, mais il a également été appliqué avec succès pour les champignons (Borja et *al.*, 2006 ; Armengol et *al.*, 2010). Peu d'études ont été réalisées pour *P.terres*, en utilisant les techniques ISSR (Statkevičiūtė et *al.*, 2010; Çelik Oğuz et *al.*, 2019; Dokhanchi et *al.*, 2021) en Lituanie, Turquie et Iran respectivement.

CHAPITRE 3 : Stratégie de lutte contre la rayure réticulée de l'orge

La combinaison de bonnes pratiques culturales, l'utilisation de cultivars résistants et la lutte chimique (à la fois comme traitement des semences et applications foliaires), représente actuellement la stratégie de gestion de la maladie la plus efficace (Abebe, 2021).

1. La lutte culturale

La gestion de la rayure réticulée repose principalement sur l'adoption de bonnes pratiques agricoles (Tini et *al.*, 2022). Il existe trois sources d'inoculum primaire de la maladie ; semences infectées, débris de culture et résidus de paille. L'utilisation des semences exemptes d'agents pathogènes ou traitées avec des fongicides empêcheront l'introduction accidentelle de *P.teres* dans les zones où il n'existe pas (Ullrich, 2011). La rotation des cultures aide à minimiser les niveaux d'inoculum initiaux du pathogène pour la prochaine saison (Gangwar et *al.*, 2018). L'incorporation des résidus de culture dans le sol ou les enlever complètement en les brûlant réduiront l'abondance de l'agent pathogène et la pression de la maladie (Gangwar et *al.*, 2018). les pratiques culturales minimisant le labour peuvent entraîner des pertes de rendement de plus de 30% (Platz et *al.*, 2001).

Le semis précoce de l'orge a été suggéré pour minimiser la gravité de la maladie, elle était significativement réduite en semis précoce par rapport au semis tardif (Prasad et *al.*, 2001). Le semis des cultures d'orge à une certaine distance des zones précédemment semées est recommandé pour empêcher la dispersion par le vent des ascospores ou des conidies.

Synthèse bibliographique

2. La lutte génétique

L'utilisation de lignées résistantes constitue une approche plus durable et plus respectueuse de l'environnement. La sélection des cultivars d'orge doit se faire avec diverses sources de résistance car le potentiel évolutif du champignon est élevé étant donné sa capacité à subir une recombinaison sexuée dans certaines régions (Ullrich, 2011).

De nombreuses sources de résistance ont été signalées à la fois dans le germoplasme d'orge cultivée et sauvage (Fetch et *al.*, 2003 ; Oğuz et *al.*, 2019). Des études sur le fond génétique de la résistance à la rayure réticulée, ont démontré que la résistance est contrôlée par un ou plusieurs gènes selon la source de résistance, le stade de développement de la plante et l'isolat de *P. teres* utilisé (Grewal et *al.* 2008). En utilisant les différentes techniques moléculaires, plusieurs études ont identifié les gènes de résistance à la rayure réticulée où quantitative trait loci (QTL) sur les sept chromosomes de l'orge (Clare et *al.*, 2020).

La technologie des marqueurs moléculaires fournit des outils potentiels pour cartographier les gènes de résistance aux maladies et pour la sélection génotypique (Grewal et *al.* 2008).

L'utilisation de cultivars résistants à la rayure réticulée réduit non seulement la gravité de la maladie pendant la saison de croissance, mais également la quantité d'inoculum initiale disponible pour provoquer la maladie la saison suivante.

3. La lutte chimique

La lutte chimique par l'usage de fongicides peut être pratiquée à deux niveaux, sur les semences pour réduire l'inoculum primaire ou bien sur les feuilles supérieures pour réduire la perte de tissus pendant le remplissage du grain (Liu et *al.*, 2011).

L'efficacité du contrôle à l'aide des fongicides foliaires varie en fonction de plusieurs facteurs tels que le degré de pression de la maladie, le mode d'action du

Synthèse bibliographique

principe actif, le taux d'application, le temps et le nombre d'application et la présence d'une sensibilité ou résistance réduite dans les populations d'agents pathogènes (van den Berg et Rossnagel, 1990).

Un certain nombre de fongicides foliaires se sont révélés efficaces contre la rayure réticulée. Une seule application fongicide de pyraclostrobine, époxiconazole, propiconazole et un mélange de propiconazole et iprodione, ont contrôlé efficacement *Ptm* en présence d'une pression modérée de la maladie (Jayasena et al., 2002).

Les résultats des expériences menées par Stepanović et al (2016), ont révélé qu'un mélange de fongicides contenant pyraclostrobine appartenant au groupe des inhibiteurs de la respiration mitochondriale et l'époxiconazole appartenant au groupe des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols dans les membranes cellulaires à raison de 1L/ha, entraîne une réduction de la sévérité de la maladie de 91,8% et 97,0%. Lammari et al (2020), ont révélé la sensibilité de 212 isolats algériens aux groupes fongicides QoI et SDHI et qu'aucune mutation conférant une résistance n'a été identifiée et ont également rapporté, l'efficacité *in vitro* du pyraclostrobine et de l'azoxystrobine et *in vivo* du fluxapyroxade vis-à-vis de 45 isolats algérien de *P.teres*.

Le contrôle des maladies ne doit pas s'appuyer uniquement sur l'application de fongicides, en raison du risque immanent des mutations au sein des populations d'agent phytopathogène, qui peuvent entraîner la résistance aux fongicides.

4. La lutte biologique

Le contrôle biologique des maladies des cultures repose sur l'identification des différentes approches respectueuses de l'environnement par l'utilisation des microorganismes antagonistes et des produits d'origine naturelle, afin d'atténuer les effets néfastes des infections causées par les agents pathogènes et réduire ou remplacer l'utilisation de produits chimiques synthétiques (Narayanasamy, 2013).

Les agents de biocontrôle efficaces contre les champignons phytopathogènes ont des effets inhibiteurs grâce à divers mécanismes d'action tel que l'antagonisme, la compétition pour les nutriments et les niches, la prévention de la colonisation des tissus

Synthèse bibliographique

hôtes par l'agent pathogène et l'induction d'une résistance des plantes contre ces agents pathogènes.

Les agents abiotiques provenant de diverses sources, d'origine organique et inorganique peuvent être appliqués sur le sol, les semences, les plantes et les produits récoltés pour réduire l'incidence et la gravité des maladies ; tels que les amendements organiques comme le compost et l'engrais vert qui améliorent la fertilité du sol et peuvent favoriser le développement des microorganismes antagonistes. Les extraits de plantes et les métabolites secondaires comme les huiles essentielles ont également un haut niveau d'activité suppressive de la maladie (Narayanasamy, 2013).

4.1. La lutte biologique par l'utilisation des extraits de plantes

Plusieurs travaux ont été réalisés dans ce contexte ; Taibi et al (2014), ont mis en évidence l'effet inhibiteur *in vitro* de l'extrait aqueux de la plante médicinale *Thymelaea sp* vis-à-vis de cinq isolats de *P.teres f.teres*. Taibi et al (2015), ont démontré également que *Daphne gnidium* possède un grand potentiel antagoniste vis-à-vis de *Pyrenophora teres f. teres*.

Boungab et al (2015), ont enregistré une réduction de la croissance mycélienne de *Pyrenophora teres f. teres*, avec les extraits de *Tetraclinis articulata* et *Anacyclus valentinus* à des pourcentages d'inhibition de 87.05% et 72.27% respectivement. Les mêmes auteurs ont rapporté la réduction de la sévérité de la maladie *in vivo* par l'utilisation de l'extrait de *Tetraclinis articulata* à 79.21%, et une meilleure réduction de la mycoflore des semences d'orge par l'extrait d'*Inula viscosa* à un pourcentage de 72.77%.

4.2. La lutte biologique par l'utilisation des microorganismes vivants

La lutte biologique par l'utilisation de micro-organismes antagonistes naturels est apparue comme une alternative prometteuse (Cawoy et al., 2011).

La protection conférée par un agent de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs modes d'actions. C'est une interaction directe entre deux microorganismes partageant la même

Synthèse bibliographique

niche écologique, tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme et la promotion de la croissance (**fig.9**).

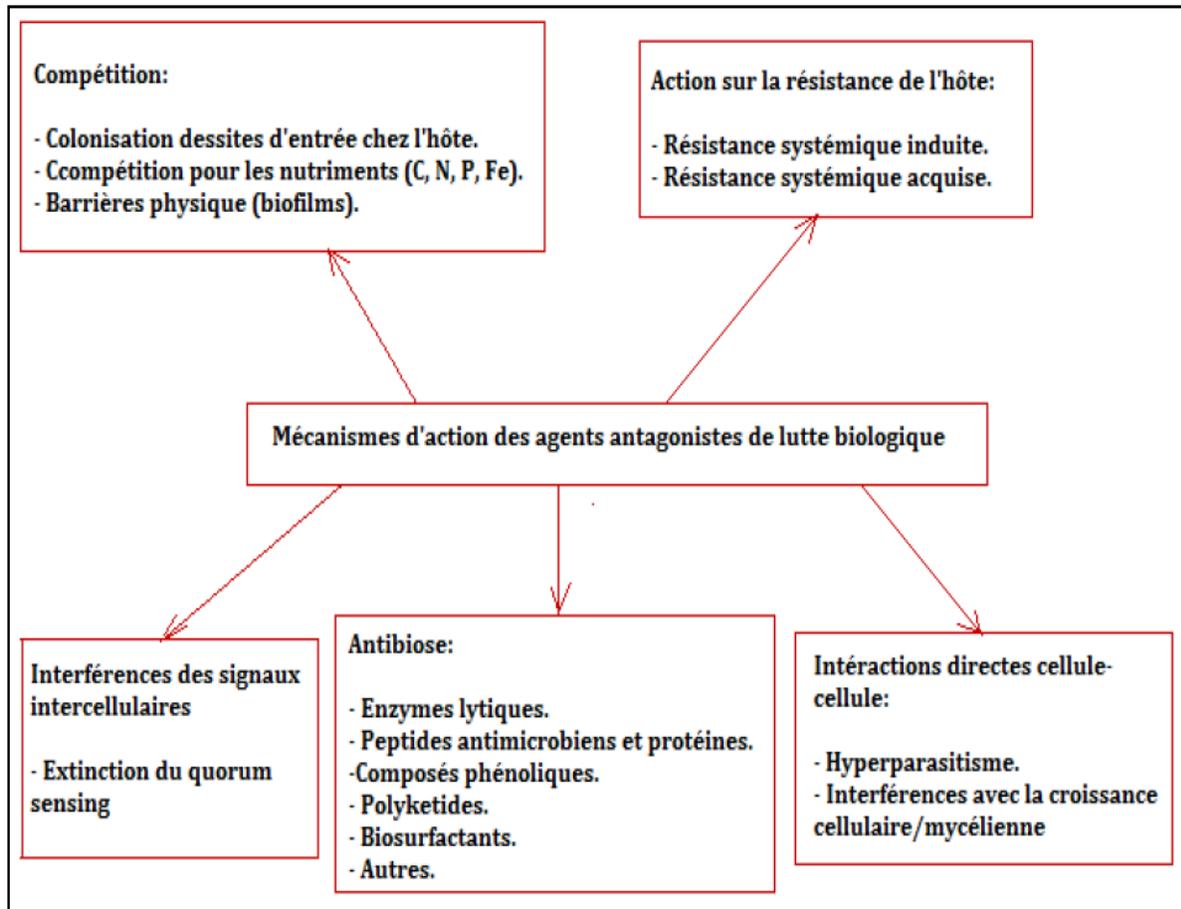


Fig. 9 : Mécanismes d'action des agents de lutte biologique (Montestinos et al., 2009)

De nombreux antagonistes microbiens ont été rapportés de posséder des activités antagonistes vis-à-vis les champignons phytopathogènes. Plusieurs recherches ont été menées en vue d'investiguer le potentiel des bactéries et des champignons pour le contrôle de la rayure réticulée ; la souche de *Pseudomonas chlororaphis* MA 342 est le seul agent de biocontrôle disponible sur le marché commercialisé sous le nom de Cedomon (BioAgri AB, Stockholm, Suède (Johnsson et al., 1998).

Khan et al (2010), ont mis en évidence le potentiel de deux souches de *P. fluorescens*, isolées à partir du sol en tant qu'agents de lutte biologique contre la maladie de la rayure réticulée de l'orge. Dans les conditions sous serre, les deux

Synthèse bibliographique

souches ont réduit les symptômes de la maladie de plus de 64% par rapport au témoin sur deux cultivars d'orge. Lors des essais effectués sur champs à petit échelle, l'application foliaire des deux souches ont réduit la maladie de 24 à 56% sur un cultivar d'orge.

Ali-Haimoud et *al* (1993), ont révélé que plusieurs souches de *Trichoderma*, *T. koningii*, *T. viride*, *T. pseudokoningii* et l'actinomycète *Micromonospora sp.* isolées à partir des pailles d'orge inhibent la formation *in vitro* d'organes sclérotioïdes sur les pailles d'orge infectés par *P. teres f. teres* et *P. teres f. maculata*.

Moya et *al* (2016), ont indiqué qu'une inhibition de *D. teres* par les deux souches C2 et C5 de l'endophyte *Chaetomium globosum*re présentait respectivement 40% et 36% avec un mécanisme d'action comprenant la compétition et le mycoparasitisme. D'un autre côté, Chemitei et *al* (2019), ont démontré l'efficacité de la bactérie *Paenibacillus polymyxa* dans le contrôle biologique de *P. teres in vitro* et *in vivo* par la réduction des symptômes de la maladie à 50% par rapport au témoin.

Il existe peu de preuves concernant l'existence d'une résistance des agents pathogènes aux agents de biocontrôle, cependant l'efficacité des agents de lutte biologique dépend fortement de leur adaptabilité aux climats locaux (Khan et *al.*, 2010).

4.2.1. La lutte biologique par l'utilisation des bactéries (*Bacillus*)

Les souches de *Bacillus spp.* sont largement distribuées ayant une tolérance thermique élevée et une croissance très rapide dans les cultures liquides. Le genre *Bacillus* comprend plusieurs espèces bactériennes telles que *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. mycoides*, *B. pastueri* et *B. sphaericus*, qui suppriment le développement de maladies affectant un large éventail de plantes cultivées (Narayanasamy, 2013).

Les principaux mécanismes d'action impliqués par ce genre bactérien sont : compétition pour espace et nutriments, antibiose, production d'enzymes lytiques, sécrétion de toxines et induction de résistance de l'hôte (Villarreal-Delgado, 2017).

Synthèse bibliographique

Bacillus spp. produit plusieurs types d'antibiotiques comprenant bacillomycine, fengycine, mycosubtiline et zwittermicine, qui sont efficaces pour le contrôle des pathogènes ciblés (Pal et Gardener, 2006). *Bacillus spp.* produisent des spores dormantes résistantes à la dessiccation, à la chaleur, à l'irradiation UV et aux solvants organiques (Narayanasamy, 2013). La propriété de formation de spores leur confère une importance primordiale dans le domaine de la lutte biologique (Shafi et *al.*, 2017). Actuellement, plusieurs formulations commerciales considèrent les souches du genre *Bacillus* comme un ingrédient actif, en raison de sa capacité à coloniser, se reproduire facilement et sa haute persistance liée à la formation d'endospores qui est une caractéristique intéressante ; lui permettant de vivre dans des conditions de stress abiotique et rendant sa production et son stockage à long terme plus facile (Villarreal-Delgado, 2017).

Bacillus cereus

Bacillus cereus est une bactérie largement distribuée dans l'environnement et dans le sol. C'est une bactérie à gram positif, aérobie ou anaérobie facultative, mobile et sporulante (Parihar, 2014). Ses spores persistent dans des conditions défavorables et peuvent croître sur une large gamme de température (8–55°C) ; mais elle n'est pas bien adaptée pour tolérer de faibles valeurs de PH (minimum 5 à 6), ou la teneur en eau (activité minimale de l'eau 0,95) (Parihar, 2014). La plupart des souches de *B. cereus* sont mobiles via des flagelles péritriches (Vilas-Boas, 2007).

Nombreuses sont les études menées en vue de démontrer son rôle autant qu'agent de biocontrôle vis-à-vis de nombreux agents phytopathogènes. Mandal et *al* (2017), ont conclu que *Bacillus cereus* indigène du sol a un effet antagoniste vis-à-vis des isolats virulents de *Ralstonia solanacearum*, responsable du flétrissement bactérien de la tomate. Les résultats obtenus par Ajilogba et *al* (2013), ont mis en évidence l'efficacité de 4 espèces de *Bacillus* : *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. pumilus* et *B. subtilis* autant qu'agent de lutte biologique contre le flétrissement fusarien de la tomate causée par *Fusarium solani* ; *B. cereus* a enregistré une inhibition de la croissance mycélienne du pathogène de 55.7% *in vitro* et un pourcentage de contrôle de la

Synthèse bibliographique

maladie *in vivo* de 81.2%. En outre *B. cereus*, a révélé un effet stimulateur de la croissance de la culture.

Deuxième partie:
Matériel et
méthodes

Matériel et Méthodes

1. Prospections et prélèvement des échantillons

Des prospections ont été effectuées au mois d'avril et mai (périodes propices au développement de la maladie) durant deux campagnes agricoles successives (2017-2018 et 2018-2019), dans des champs d'orge pris au hasard dans des localités situées dans l'ouest, l'est et le centre du pays (**Fig.10, Tableau4**). Des champs distancés de 5km étaient visités dans chaque région, dans le but d'évaluer l'importance, la distribution et la fréquence des maladies cryptogamiques dans les différentes zones agro-climatiques.

Au niveau de chaque champ prospecté, nous avons noté l'incidence (le pourcentage d'individus atteints par chaque maladie dans une population donnée), et la sévérité (le pourcentage de tissus atteints au niveau d'une plante estimée sur la base d'un échantillon jugé représentatif dans une parcelle) (Yahiaoui et *al.*, 2003). Ces deux paramètres ont conduit à établir un troisième paramètre qui est la fréquence de la maladie (nombre de champs atteints par la maladie/nombre total de champs prospectés).

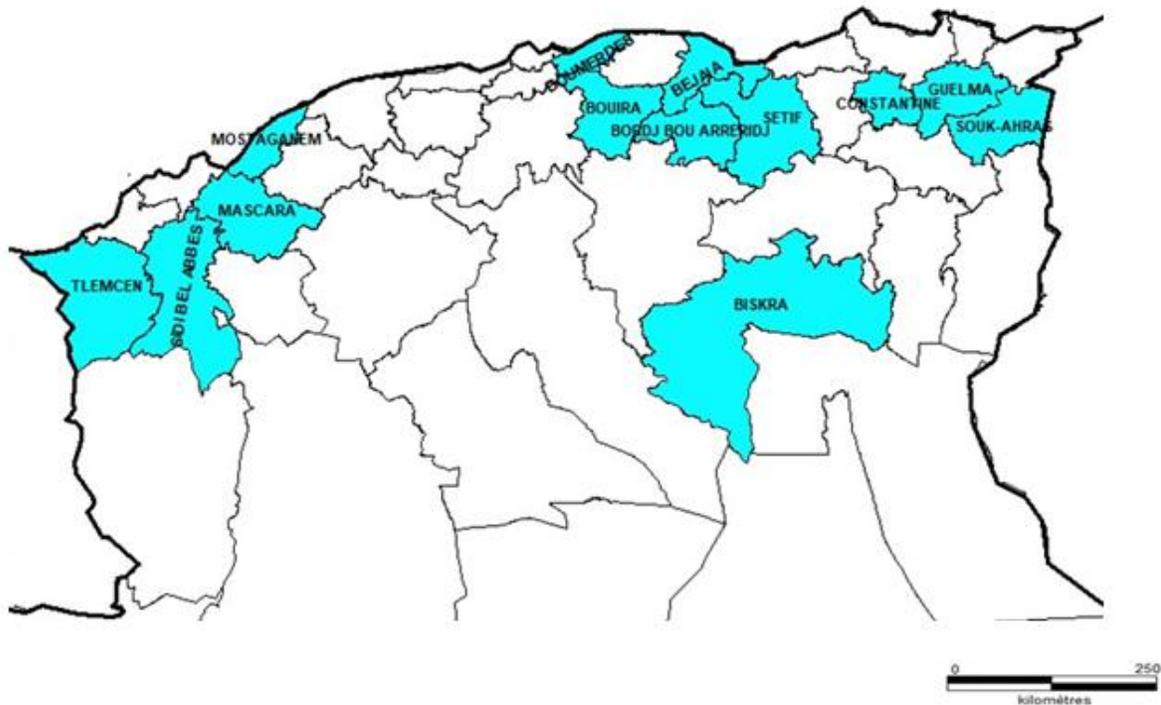


Fig.10 : Localisation des zones d'étude

Matériel et Méthodes

Des échantillons de feuilles présentant les symptômes de maladies foliaires sont prélevés d'une manière aléatoire à partir de chaque champ prospecté, et sont par la suite introduits séparément dans des sachets de papier portant des renseignements concernant le stade végétatif de la plante, les précédents culturaux, les variétés cultivées, la date du prélèvement et le site du prélèvement.

2. Isolement et purification de l'agent pathogène

Les échantillons prélevés ont été séparés en fonction des symptômes observés sur les feuilles d'orge pour la forme réticulée et la forme tache brune. Les feuilles malades ont été coupées en 2 à 3 cm de longueur, désinfectées en surface dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2% pendant 2 min, puis rincées deux fois dans de l'eau distillée stérile pendant 1 min. Les fragments ont été transférés de manière aseptique dans une chambre humide et incubés à 22°C pour induire la sporulation (Tekauz, 1990 ; Boungab et *al.*, 2012). Trois jours plus tard, à partir des fragments où la sporulation est abondante, les conidies de *P. teres* sont repérées sous la loupe binoculaire et transférées à l'aide d'une pipette pasteur sur milieu de culture ; puis incubées pendant 7 jours à 22°C. Après purification des cultures, des cultures monosporales ont été réalisées sur milieu PDA (**annexe1**).

3. Identification de *Pyrenophora teres*

3.1. Identification morphologique

L'identification morphologique d'une espèce fongique repose sur l'analyse de caractères morphologiques (macroscopiques et microscopiques). Ces méthodes d'identification peuvent être validées par une analyse moléculaire.

L'étude macroscopique consiste à observer à l'œil nu, ou à la loupe binoculaire les caractères culturaux sur milieux solide. Les divers caractères culturaux que nous avons notés pour chaque colonie fongique obtenue sont : L'aspect des colonies, taille et relief, couleur des colonies et de leurs revers, présence de pigments diffusibles dans le milieu de culture, la sporulation, et la présence ou l'absence des structures de fructification sexuée ou asexuée.

Matériel et Méthodes

L'observation microscopique d'un petit fragment d'une culture fongique âgée de 10 à 14 jours cultivée sur milieu de culture PDA dans une goutte de bleu de lactophénol (**annexe 1**), permet d'observer l'aspect du mycélium, la forme, la taille et la couleur des conidies et des conidiophores. Les dimensions des conidies sont mesurées à l'aide d'un microscope photonique muni d'un micromètre.

L'identification des espèces fongiques isolées est effectuée en utilisant les clés d'identification des champignons (Ellis, 1971 ; Chidambaram et *al.*, 1973 ; Champion, 1997 et Kiffer et Morelet, 1997).

4. Conservation des isolats fongiques

4.1. Conservation à basse température

La conservation des isolats a été effectuée dans des tubes à essai contenant de la gélose nutritive PDA. Après une incubation de 3 à 5 jours à une température de 22°C, les cultures obtenues sont maintenues à une température de 4°C (Rapilly, 1968).

4.2. Conservation en disques de gélose séchés

Des disques sont prélevés à partir d'une colonie bien développée et indemne de toutes contaminations. Ils sont déposés dans des boîtes de Pétri stériles, et laissés sous une haute à flux laminaire pendant toute la nuit afin de sécher les disques. Ces derniers sont récupérés le lendemain dans des tubes Eppendorf stériles, et conservés à -18°C. Toutes ces étapes doivent être réalisées dans des conditions d'asepsies.

4.3. Conservation sous forme d'herbier

Dans le laboratoire, les feuilles infectées sont conservées sous formes d'herbier pathologique. C'est une méthode efficace pour conserver le pouvoir pathogène des différents isolats.

Matériel et Méthodes

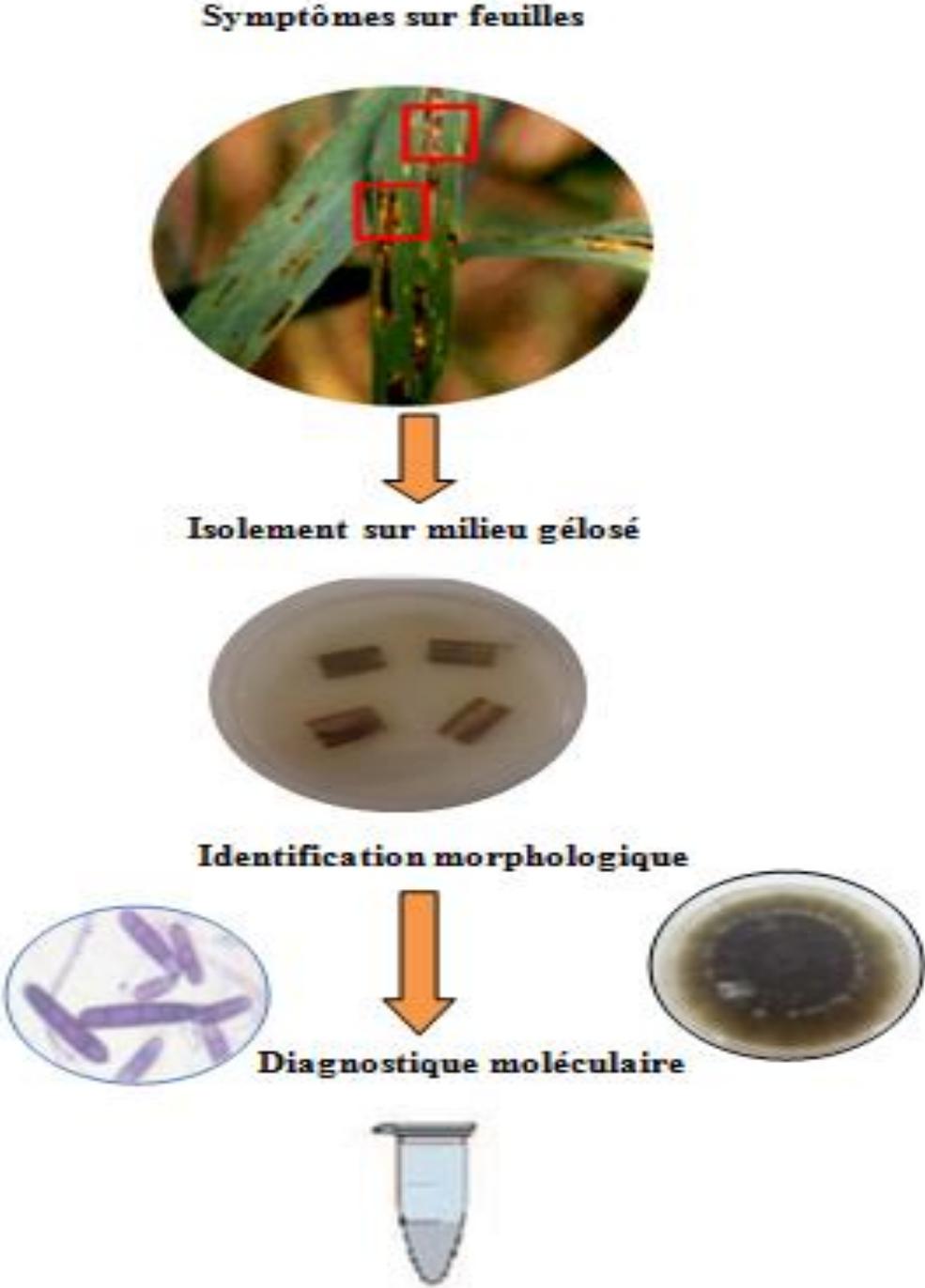


Fig.11 : Méthode d’isolement et d’identification de l’agent pathogène

Matériel et Méthodes

5. Caractérisation moléculaire, phénotypique et pathologique de *P. teres*

Le but de cette étude est de rechercher la diversité et la variabilité au sein de 61 souches représentatives des régions prospectées. La comparaison des souches en tenant compte des différents critères génétiques, morphologiques, biométriques et pathologiques.

5.1. Caractérisation moléculaire de *P.teres*

5.1.1. Extraction de l'ADN

L'étude moléculaire a été menée au Centre de Recherche en Biotechnologie de l'Institut Central de Recherche sur les Grandes Cultures Ankara, Turquie. L'ADN des isolats a été extraits à partir de colonies mycéliennes âgées de 10 jours cultivées sur milieu de culture PDA en utilisant la méthode CTAB modifiée par Allen *et al.* (2006).

Le tampon d'extraction CTAB (0.1 M Tris, pH 8. 1,4 M NaCl, 0.02 acide Methylenediaminetetra acetique (EDTA), 5 g de CTAB, 0.5–1% (v/v) de β -mercaptoethanol), a été ajouté au mycélium fongique broyé avec le lyseur MagNA (Roche, Allemagne), et a été par la suite incubé à 65 °C pendant 30 min. Après centrifugation, les échantillons ont été extraits avec un volume égal de phénol /chloroforme/alcool isoamylique (25:24:1,v/v/v). Après une seconde centrifugation, l'ADN a été précipité de la solution avec de l'isopropanol (stocké à -20 °C), puis dissous dans une solution tampon Tris–EDTA et suivi d'un traitement avec ARNase-A sans DNase à 37°C pendant 30 min. Après une série d'étapes de précipitations à l'éthanol, l'ADN a été séché à l'air. Enfin, l'ADN a été dissous dans 200 μ l d'eau pure. Tous les échantillons d'ADN ont été ajustés à une concentration finale de 50 ng μ L⁻¹ dans le tampon TE et conservés à -20 °C.

5.1.2. Mesure de la concentration et de la pureté de l'ADN

La concentration (**M1**) et la pureté d'ADN obtenus pour chaque isolat sont déterminées à l'aide de l'appareil « NANODROP ».

Le volume d'ADN nécessaire pour effectuer les essais d'identification et de caractérisation moléculaire de *P.teres* (**V1**), est calculé pour chaque échantillon pour

Matériel et Méthodes

l'obtention d'une concentration de 50 ng μL^{-1} (**M2**). Le (**M1**) représente la concentration mesurée pour chaque isolat. Le (**V2**) représente le volume d'ADN additionnée à l'eau qui est de 100 μL . Le (**V1**) est calculé comme suit :

$$\text{M1} \times \text{V1} = \text{M2} \times \text{V2}$$

Le volume (**V1**) calculé sera ajusté à 100 μL par l'addition de l'eau distillée.

5.1.3. L'analyse PCR spécifique à l'espèce

La PCR était réalisée avec une paire d'amorces PtGPD1 (contrôle) (586 pb) pour confirmer l'espèce *P. teres* (Lu et al., 2010) (**Tableau 5**). L'amplification a été effectuée dans 25 μL de mélange réactionnel, contenant 50 ng d'ADN génomique fongique, 1 μM de chaque amorce, 1 x tampon de réaction MyTaq (15 mM de MgCl_2 et 5 mM de dNTP) et 0,125 unité Taq ADN polymérase (Bioline, USA). Les échantillons ont été soumis à une étape de dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min, suivie de 35 cycles de 15 s à 95°C, 15 s à 55°C et 10 s à 72°C et une extension finale de 72°C pour 30 s. L'isolat de *Pyrenophora tritici-repentis* a été utilisé comme contrôle négatif.

5.1.3.1. Electrophorèse sur gel d'agarose

Lorsque la PCR est terminée, le produit amplifié est étudié par électrophorèse sur gel d'agarose (1%).

5.1.3.2. Migration de l'ADN et visualisation

La migration a été faite sous une tension de 100 Volts pendant 01 heure. Une fois la migration est achevée, le gel est observé sous UV. Le fragment d'ADN amplifié donne une bande sur le gel. Le BET est un cation qui s'intercale entre les bases de l'ADN, et rend le fragment fluorescent sous UV.

Matériel et Méthodes

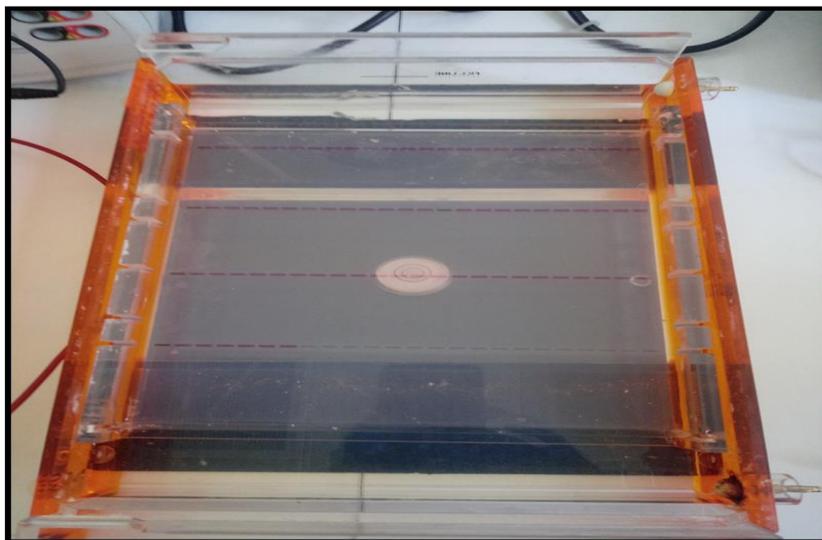


Fig. 12 : Migration de l'ADN sur le gel d'agarose

5.1.4. Différenciation des deux formes du pathogène

L'analyse PCR spécifique au mating type par l'utilisation des **amorces spécifiques (SNP)**, a permis la distinction entre les deux formes de l'espèce pour l'ensemble des isolats étudiés.

Les SNP sont des variations naturelles qui ne concernent qu'un seul nucléotide dans une séquence donnée. En les comparant à d'autres marqueurs moléculaires, les SNP présentent l'avantage d'une répartition homogène dans tout le génome et d'être excessivement nombreux.

5.2. Caractérisation phénotypique de *P. teres*

5.2.1. Origine des isolats de *P. teres*

Au total, 61 isolats ont été collectés dans des champs d'orge situés à l'est, au centre et à l'ouest du pays. Les informations sur l'origine géographique, l'année d'isolement et l'hôte d'origine de chaque isolat utilisé sont mentionnées dans le Tableau 4.

Matériel et Méthodes

Tableau 4 : Origine et date de prélèvement des isolats collectés

Code d'isolat	Wilaya	Site de prélèvement	Variété d'orge	Année d'isolement
R27, R1 R39	Mostaganem	Souaflias Sirat	Saida 183 Saida 183	2017 2017
R19, R61, R2,R38,R54 R49, R33 R24, R66 R6, R32 R41	Tlemcen	Sabra Fellawsen Chetouane Tlemcen site Hnaya	Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183	2017 2018 2018 2018 2018
R14 R4 R7, R22, R60 R3, R31 R17, R53 R52, R12 R10 R28 R55	Sidi Bel Abbès	Belarbi Belarbi Belarbi Ain Berd Sfisef Telmouni Tenira Zeroula Mcid	Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183	2017 2018 2018 2017 2018 2018 2018 2018 2018
R18, R16 R21 R63 R30, R43 R25 R34	Mascara	Mascara site Oued Taghia Froha Mhafid Matmour Ghriss	Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183	2018 2018 2017 2017 2017 2017
R13 R29 R59 R15 R20 R45 R64	Sétif	Djerman Bousselam El maouane Ain Zada Ain Youcef Sétif site Oued laadjoul	Fouara Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Saida 183 Rayhane	2017 2017 2017 2018 2018 2018 2018
R56	Biskra	Chega	Rayhane	2018
R11	Boumerdes	Zemouri	Saida 183	2017
R9 R42, R44 R23	Bouira	Ain Hjar Ain Hjar Lessnam	Saida 183 Rayhane Rayhane	2018 2018 2018
R50 R35 R37	Bejaia	Beni maouche Amizour Feroun 2	Saida 183 Saida 183 Rayhane	2018 2018 2018
R40 R36	Constantine	Lekhroub Ain abid	Rayhane Rayhane	2017 2018
R8 R65	Guelma	Oued znati Temelouka	Tichedrett Tichedrett	2018 2018
R57 R58	Souk Ahras	Sedrata ‘ Taoura	Fouara Rayhane	2018 2018

Matériel et Méthodes

5.2.2. Détermination des morphotypes, de la pigmentation et de la croissance mycélienne

Les caractères cultureux des isolats de *P. teres* (couleur des colonies, aspect du mycélium, formation des corémies et présence ou l'absence des sclérotés), ont été déterminés sur le milieu PDA en boîte de Pétri. Le milieu est ensemencé avec un implant fongique circulaire de 5mm de diamètre, prélevé aseptiquement à l'aide d'un emporte-pièce à partir d'une culture âgée de 7 jours. Les cultures sont incubées à 22°C pendant 7 jours. Après sept jours d'incubation, la croissance diamétrale des différents isolats a été évaluée par la moyenne de deux diamètres perpendiculaires.

5.2. 3. Etude biométrique des conidies

Des colonies âgées de 14 jours et incubées à 22°C sur milieu de culture PDA ont été observées sous loupe binoculaire, pour détecter une éventuelle sporulation. Les isolats sont divisés en deux groupes sporulant et non sporulant. La longueur et la largeur des conidies de *P. teres* sont mesurées à l'aide d'un microscope photonique étalonné et muni d'un micromètre avec un grossissement Gx40.

5.3. Caractérisation pathologique de *P.teres*

5.3.1. Etude du pouvoir pathogène

La pathogénicité des isolats de *P.teres* obtenus au cours de cette étude a été confirmée, en testant leurs pouvoir pathogène sur une variété d'orge sensible à la maladie (Saida 183). Les semences de cette variété nous ont été fournies par CNCC de Sidi-Bel-Abbès.

5.3.2. Obtention des plantules d'orge

Les semences ont été désinfectées par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5 %, suivi de trois rinçages à l'eau distillée stérilisée. Les graines sont ensuite déposées directement dans des pots contenant un mélange stérilisé de 2 /3 de sable et 1/3 de tourbe.

Les semis en pots ont été maintenus à une température de 20 à 22°C, et une photopériode de 12 heures. Ils ont été arrosés tous les trois jours avec la solution

Matériel et Méthodes

nutritive KNOP (**Annexe 1**), jusqu'à l'apparition de trois feuilles par plantule, stade favorable pour leurs inoculations avec le champignon.

5.3.3. Préparation de l'inoculum

L'inoculum de chaque isolat a été préparé à partir d'une culture âgée de 10 jours cultivée sur PDA. La surface des colonies était raclée stérilement à l'aide d'une spatule métallique, et mise en suspension dans de l'eau distillée stérile de façon à avoir une concentration finale de 1.5 à 2.0×10^5 mycélium/ml (Çelik oğuz et Karakaya, 2017). Une goutte de Tween 20 a été ajoutée à chaque 100 ml de suspension d'inoculum (Aktaş, 1995 ; Çelik oğuz et Karakaya, 2017).

5.3.4. Inoculation et évaluation des symptômes de la maladie

Les plantules ont été inoculées au stade de deux à trois feuilles, par la pulvérisation des suspensions mycéliennes des différents isolats testés. Puis elles ont été placées pendant 48 h sous des couvercles en plastique transparents, afin de maintenir une humidité relative élevée favorable à l'infection. À la fin de cette période, les plantules inoculées ont été placées sous serre pour le développement des symptômes (Boungab et *al.*, 2012 ; Çelik oğuz et Karakaya, 2017). La température de la serre était de $18-23 \pm 1^\circ\text{C}$, avec un régime de lumière obscurité 14h/10h. Au bout de 7 jours, la sévérité de la maladie était évaluée sur les plants à l'aide de l'échelle de notation pour les deux formes de la rayure réticulée décrit par Tekauz (1985) (**Annexe 2**).

5.3.5. Réisolement de l'agent pathogène

Pour confirmer la virulence des isolats inoculés, les plantules utilisées dans le test du pouvoir pathogène ont été récupérées pour effectuer un réisolement de l'agent pathogène et vérifier le postulat de Koch, qui établit la relation de cause à effet liant un microbe et une maladie. Le réisolement a été réalisé par repiquage d'un fragment de deux centimètres des feuilles infectées sur le milieu de culture PDA. Les cultures fongiques obtenues après incubation ont été comparées à leurs cultures mères (postulat de Koch).

Matériel et Méthodes

6. Production *in vitro* du stade téléomorphe de *P. teres*

On a tenté de produire le stade sexué de *P.teres in vitro* en utilisant un isolat de notre collection (R44). Des segments de paille (4cm) ont été stérilisés, immergés dans une suspension de spores (1,350 spores/ml) et placés dans des boîtes contenant de l'eau gélosée (2%) (**annexe 1**). Les boîtes ont été incubées à 18°C dans l'obscurité pendant 2 semaines puis à 4°C en lumière continue pendant 7 semaines (Benslimane, 2014).

7. Etude de la diversité génétique de *Pyrenophora teres*

7.1. Détermination des types sexuels (mating type)

Une analyse PCR spécifique aux formes et mating type a été optimisée pour tous les isolats de *P.teres*, en utilisant les amorces spécifiques au mating type : *Ptt* MAT1-1 F/R, *Ptt* MAT1-2 F/R, *Ptm* MAT1-1 F/R et *Ptm* MAT1-2 F/R comme décrit par Lu et al. (2010) (**Table 5**). *Ptt* MAT1-1 et *Ptt* MAT1-2 amplifient (1143 bp) et (1421 bp) ; *Ptm* MAT1-1 et *Ptm* MAT1-2 amplifient (194 pb) et (939 pb) respectivement.

Les tests PCR ont été effectués dans un mélange réactionnel comprenant la même composition que celle décrite pour l'analyse PCR spécifique à l'espèce. Les conditions de réaction étaient également identiques à celles de l'essai précédent à l'exception de la température de recuit qui était de 59°C. Cette analyse permet non seulement de distinguer les deux mating type de *P.teres*, mais également de différencier les deux formes du pathogène *Ptt* et *Ptm*.

Les produits d'amplification des deux analyses ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (1% agarose, 0,5X TBE) et colorés au bromure d'éthidium. Le gel a été visualisé sous lumière UV (QuantumST4, Montreal Biotech, Canada).

Matériel et Méthodes

Tableau 5 : Amorces de polymorphisme d'un seul nucléotide utilisées au cours de cette étude

Nom de l'amorce	Séquence de l'amorce	Taille de l'amplicon
PtGPD1-F PtGPD1-R	CGTATCGTCTTCCGCAAC TTGGAGAGCACCTCAATGT	586 bp
Ptt MAT1-1 F Ptt MAT1-1 R	ATGAGACGCTAGTTCAGAGTCT GATGCCAGCCAAGGACAA	1143 bp
Ptt MAT1-2 F Ptt MAT1-2 R	TACGTTGATGCAGCTTTCTCAAT AACACCGTCCAAAGCACCT	1421 bp
Ptm MAT1-1 F Ptm MAT1-1 R	TGTTAGAGACCCACCCAGCGT CAGCTTTCTTGGCCTTCTGAA	194 bp
Ptm MAT1-2 F Ptm MAT1-2 R	ACGCAAGGTA CTCTGTACGCA GACGTTCGAGGGAGTCCATT	939 bp

7.2. Analyse de la diversité génétique de *P. teres* par les marqueurs ISSR

Principe

Les marqueurs ISSR permettent l'amplification par PCR des régions du génome du champignon situées entre deux microsatellites voisins, en position inversée (**fig.13**). Dès lors, une seule amorce constituée du motif du microsatellite complétée par des oligonucléotides dégénérés peut s'hybrider avec les microsatellites cibles, et amplifier la région comprise entre ces derniers. Ainsi, les marqueurs ISSR génèrent des profils d'amplification par PCR, qui une fois séparés sur gel et révélés, se caractérisent par des bandes multiples de tailles généralement comprises entre 250 et 2000 pb (Zietkiewicz et *al.*, 1994). Le nombre et la disposition des bandes visibles permettent de différencier pour chaque ISSR de nombreux profils. Cela permet en comparant les profils de plusieurs souches à regrouper celles présentant un même profil au sein des populations étudiées ; ce qui rend possible d'évaluer leur similarité.

Matériel et Méthodes

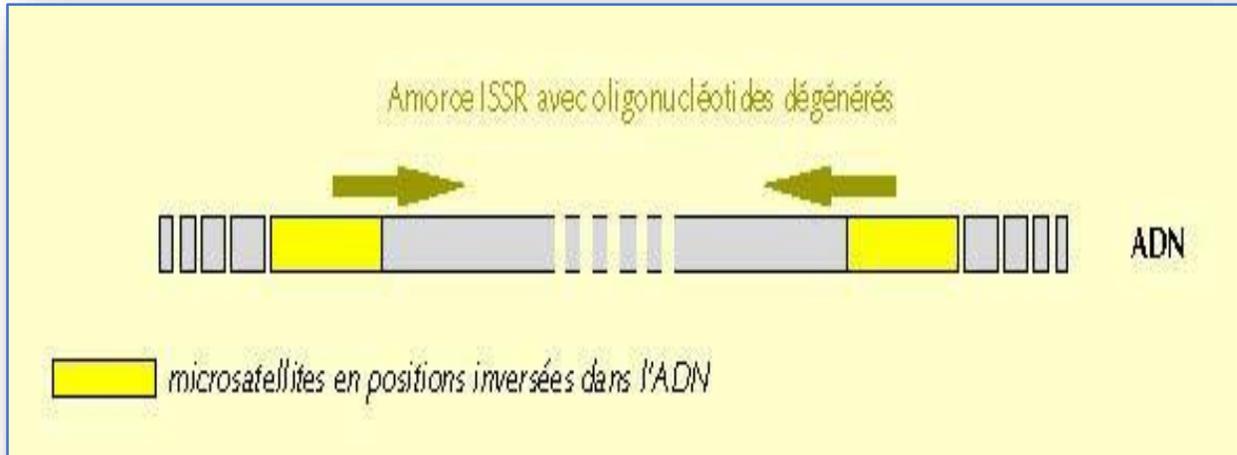


Fig.13 : Principe de l'utilisation des marqueurs ISSR

L'amorce ISSR s'hybride avec deux microsatellites en position répétée inversée, ce qui permet l'amplification par PCR de la région intermédiaire (Zietkiewicz *et al.*, 1994)

✚ Mise au point de la réaction PCR/ISSR

Pour la sélection des amorces ISSR, 5 isolats de chaque population ayant différents mating type ont été testés avec 70 amorces ISSR. Onze amorces ISSR se sont avérées polymorphe pour la population *Ptt* (UBC827, UBC807, UBC811, UBC825, UBC 866, UBC861, UBC867, UBC885, UBC840, UBC884, UBC886), tandis que pour la population *Ptm*, dix amorces ISSR se sont avérées polymorphes. Sept de ces amorces qui ont produit des bandes de bonnes intensités, ont été utilisées dans l'étude génétique de *Ptm* (UBC827, UBC807, 105H, G11, UBC825, UBC 866, UBC811); dont certaines ont déjà été explorées pour évaluer la diversité génétique des isolats lituaniens de *P.teres* (Statkeviciute *et al.*, 2010) et des isolats turcs de *P.teres* (Çelik Oğuz *et al.*, 2019).

Ces amorces polymorphes sont utilisées pour un profilage ISSR des deux populations en vue d'étudier leur diversité génétique.

Le mélange réactionnel PCR a été réalisé avec 25 μ L de volume total contenant 50 ng d'ADN génomique fongique, 0,25 μ M d'amorce, 1 x tampon de réaction Mytaq (15 mM MgCl₂ et 5 mM

Matériel et Méthodes

dNTP) et 0,125 unités de Taq ADN Polymérase (Bioline, USA). Les échantillons ont été soumis à une dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min, suivie de 35 cycles de 15 s à 95 °C, 15 s à 50 °C et 10s à 72°C avec une extension finale de 30s à 72 °C.

Les produits PCR ont été séparés par électrophorèse sur des gels d'agarose à 2,5% contenant du bromure d'éthidium à une concentration de 0,1 µg mL⁻¹, et soumis à une électrophorèse dans 0,5 × Tris-borate-EDTA (TBE) pendant 3 h à 100 V. Les gels ont été visualisés sous lumière UV (Quantum ST4, Montreal Biotech, Canada). La taille des fragments dans le gel a été comparée à GeneRuler 100 bp DNA ladder Plus (MBI Fermentas, USA).

Les données moléculaires de l'ISSR ont été exploitées par la notification des bandes amplifiées obtenues pour chaque amorce. Le système binaire (1-0) représente la présence/absence respectivement a été adopté pour former la matrice de chaque amorce.

7.3. Génération de dendrogrammes et calcul d'indice de similarité de Jaccard

L'ensemble des programmes du système de taxonomie numérique et d'analyse multivariée (NTSYSpc v. 2.0) (Rohlf, 1998), fondé sur le coefficient de similitude Dice et une analyse par regroupement de la matrice de similitude génétique avec la méthode des groupes non pondérés avec une moyenne arithmétique (UPGMA), ont été utilisées pour estimer les indices de similitude génétique et générer les dendrogrammes.

Afin d'évaluer le mode de reproduction (sexué ou asexué) qui caractérise les deux populations de *P.teres*, nous avons calculé chaque indice de similarité de Jaccard par paire (S_j) et nous avons tracé les occurrences des valeurs S_j . Notre hypothèse était qu'une distribution unimodale des fréquences S_j avec un pic autour de 0,5 serait indicative d'une reproduction sexuée en cours dans une population, tandis qu'une distribution unimodale avec un pic proche de 1 serait indicative de la présence d'une reproduction asexuée. Une courbe à deux pics suggérerait les deux types de reproduction, avec la hauteur de chaque pic étant représentative de la fréquence de chaque mode de reproduction (Linzer et al., 2009).

Matériel et Méthodes

8. Evaluation de l'effet antifongique de *Bacillus cereus* vis-à-vis de *Pyrenophora teres*

8.1. Agents antagonistes

Trois souches bactériennes de *Bacillus cereus* (S10C1, S13C1 et S13C3), ont été utilisées dans le test d'antagonisme vis-à-vis de *Pyrenophora teres* f. *teres* et *Pyrenophora teres* f. *maculata*. Ces échantillons bactériens nous ont été fournis par Dr. Nacer (Laboratoire des Matériaux Avancés et de Physico-chimie pour l'Environnement et Santé, Faculté des Sciences Exactes, université Djillali Liabes. Sidi Bel Abbes). Elles ont été isolées à partir des sols situés dans la région de Sidi Bel Abbes (Nacer et *al.*, 2021). Les résultats obtenus par Nacer et *al* (2021), ont démontré que ces bactéries indigènes de *Bacillus cereus* ont révélé une grande capacité de résistance et de réduction du chrome dans des conditions extrêmes comme un pH très bas, une température élevée et un temps relativement court ; leurs procurant un meilleur potentiel de bioremédiation du chrome dans les sites pollués. Les trois souches testées ont été identifiées comme *Bacillus cereus* par les analyses MALDI-TOF/MS BIOTYPER.

8.2. L'agent pathogène

L'activité antifongique de *B.cereus* a été testée sur deux souches fongiques virulentes au sein de notre collection, l'une représentant la forme réticulée *Ptt* (R49) originaire de Tlemcen et l'autre la forme tache brune *Ptm* originaire de Bejaia (R50). Elles ont déjà été identifiées par PCR.

8.3. Tests antifongiques

L'évaluation de l'activité antifongique des trois souches bactériennes envers les deux formes de *Pyrenophora teres* a été effectuée par trois méthodes :

8.3.1. Confrontation directe

La bactérie testée a été étalée sous forme d'une ligne droite passant par le centre d'une boîte de pétri contenant le milieu PDA. Un disque de 5mm de diamètre a été prélevé à partir du front de croissance d'une culture fongique âgée de 7 jours. Ce disque

Matériel et Méthodes

a été par la suite placé à une distance de 3cm de la bactérie. Dans la boîte témoin, aucun isolat bactérien n'a été inoculé. Les boîtes ont été scellées avec du parafilm et incubées à 28°C pendant 7 jours jusqu'à ce que le mycélium fongique atteint le bord de la boîte témoin. L'inhibition de la croissance mycélienne vers la direction de l'isolat bactérien était indicative d'une activité antagoniste (Islam et *al.*, 2018). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche.

8.3.2. Confrontation indirecte (Antagonisme dû aux composées volatiles)

Cette méthode consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées. Par la suite, un assemblage est réalisé par superposition des deux boîtes, l'antagoniste en bas et L'agent pathogène en haut. La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles. Une boîte contenant du PDA avec le pathogène et sans antagoniste est utilisée comme témoin (Islam et *al.*, 2018). Les conditions de culture sont identiques à celles de la confrontation par contact direct sur milieu de culture.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été calculé comme suite (Ji et *al.*, 2013)

Taux d'inhibition (%) = (Diamètre du témoin – Diamètre du test) / Diamètre du témoin X 100.

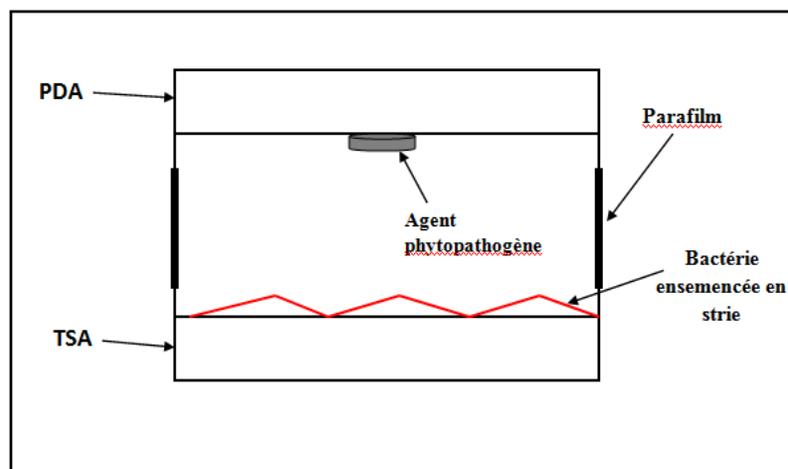


Fig.14 : Méthode de confrontation indirecte

Matériel et Méthodes

8.3.3. L'évaluation de l'effet antagoniste sur feuilles détachées

Au stade de l'extension de la troisième feuille de l'orge, des segments de feuilles de 3,5 cm de long ont été prélevés à partir de la deuxième feuille. Ces échantillons ont été désinfectés à l'hypochlorite de sodium à 5%, rincés à l'eau distillée stérilisée, séchés entre deux feuilles de papier filtre, puis placés dans des boîtes de Pétri contenant une solution d'eau gélosé à 0,5% amandée avec 0,05g de Benzimidazole. Trois segments de feuilles ont été placés sur chaque plaque. 10µl d'une suspension de spore de *Pyrenophora teres* contenant 0,2% de Tween 20 a été placée au centre des segments des feuilles. Au bout de 2 h, une fois la gouttelette s'est évaporée, une gouttelette de 10µl de la suspension bactérienne a été appliquée à la même position au centre des segments des feuilles. Des segments des feuilles non inoculées, et d'autres inoculés seulement par les agents pathogènes servent comme témoins. Les boîtes ont été incubées à 22°C dans un environnement contrôlé avec 12h de lumière et 12h d'obscurité. La maladie a été évaluée 3, 4 et 5 jours après l'inoculation (Khan et al.,2010), en utilisant l'échelle de notation de 1 à 4 développé par Afanasenko (1977) (annexe 2).

9. Analyse statistique

9.1. Analyse de la variance et détermination des groupes homogènes

Les résultats des mesures de la croissance mycélienne, les pourcentages du pouvoir pathogène, ainsi que les mesures d'inhibition de *P.teres* par les bactéries de *Bacillus cereus* (Confrontation directe, Confrontation indirecte et effet antagoniste sur feuilles détachées), sont soumis à des analyses de variance en utilisant la méthode de Newman et Keuls. Cette méthode est basée sur la comparaison des amplitudes observées pour les groupes de deux, trois, ect...*p* moyenne, avec l'amplitude maximale attendue à un niveau de signification donnée. Le traitement statistique a été effectué à l'aide du logiciel informatique Statistica.

Troisième partie :
Résultats et
discussions

CHAPITRE 1

Principales maladies cryptogamiques de la culture d'orge

1. Recensement des principales maladies foliaires de l'orge

Les prospections effectuées en plein saison végétative dans l'est et l'ouest du pays ont permis de déterminer plusieurs maladies foliaires affectant l'orge dans tous les champs visités, dont la plupart sont provoquées par le genre *Pyrenophora*.

Les agents pathogènes mis en causes ont été diagnostiqués *in vivo* en fonction de leurs symptômes caractéristiques et confirmé *in vitro*. Parmi les maladies les plus rencontrées on a la rayure réticulée, la strie foliaire, la tache helminthosporienne, la rhynchosporiose et l'oïdium.

Tableau 06 : Incidence (%) et sévérité des maladies fongiques de l'orge recensées aux champs.

		Zones/ Wilayates					
		Plaines intérieures		Plaines côtières	Hauts Plateaux		
		Sidi Bel Abbes	Mascara	Tlemcen	Bouira	Sétif	Bourj Bou arreridj
Nombre de champs prospectés		18	14	13	06	06	06
maladies fongiques	RR	70,83 M	60 M	54,61 M	61,66 M	47,5 M	52,5 M
	SF	1,38 F	4,28 F	0	2,5 M	47,5 S	45,83 S
	TH	15,27 M	15,71 M	27,30 M	21,66 M	5 M	1,66 M
	RYN	35,55 M	15 F	9,61 F	46,66 S	21,66 M	30 M
	OI	20,55 M	14,28 M	12,30 M	40,8 S	40 M	0

- Les chiffres représentent les moyennes d'incidence et les lettres la sévérité
- **RR** : Rayure réticulée - **SF** : Strie foliaire- **TH** : tache helminthosporienne- **RYN** :Rhynchosporiose - **OI** : Oïdium
F : Faible, M : Moyenne et S : Sévère

1.1. La rayure réticulée de l'orge

1.1.1. Prévalence de la maladie

Cette maladie cryptogamique était présente dans tous les champs d'orge prospectés, avec un pourcentage d'infestation variant de 47,5% à 70,83% et une moyenne de 57,85%. Dans les 63 champs prospectés, nous avons noté la présence de

Résultats et Discussion

la rayure réticulée chez 65,41%, 54,61% et 53,88% des plants d'orge cultivés dans les plaines intérieures, les plaines côtières et les hauts plateaux respectivement. Les prospections effectuées dans 18 champs au niveau des hauts plateaux, ont révélé que l'incidence de la maladie a varié de 61,66%, 47,5% et 52,5% pour les wilayas de Bouira, Sétif et Bourj Bou Arreridj respectivement.

Pour les plaines côtières dont 13 champs visités au niveau de la wilaya de Tlemcen, l'infestation par la maladie était de 54,61%. Pour les 32 champs prospectés au niveau des plaines intérieures, nous avons enregistré l'incidence la plus élevée de la maladie de l'ordre de 70,83% au niveau de la wilaya de Sidi Bel Abbès avec une sévérité allant jusqu'à 90% dans certains sites ; alors que le degré d'attaque par le pathogène était estimé à 60% pour Mascara (**Tableau 06**).

Au niveau de chaque site prospecté, nous avons noté l'incidence des deux formes de la maladie en se basant sur l'observation des deux symptômes typiques : Type réseau, provoqué par *P. teres* f. *teres* (*Ptt*), et type tache brune, provoqué par *P. teres* f. *maculata* (*Ptm*). Cette présente investigation a permis de mettre en évidence l'occurrence des deux formes de la maladie dans les 63 champs prospectés avec une légère dominance pour la forme tache brune (53,01%).

Nous avons constaté la prévalence de la forme tache brune dans les deux régions de Bouira et Setif avec une fréquence de 71.66% et 75% respectivement, tandis que la forme réticulée était dominante dans la région de Bourj Bou Arreridj avec une fréquence de 67.5%. Pour les plaines intérieures, la région de Sidi Bel Abbès a révélé une dominance de la forme tache réticulée avec une fréquence de 58.61%, alors que la région de Mascara a enregistré une prépondérance de la forme tache brune avec une fréquence de 55.71% ; en revanche pour les plaines côtière, la forme tache brune était la plus rencontrée dans la wilaya de Tlemcen avec une fréquence de 52.30%.

Résultats et Discussion

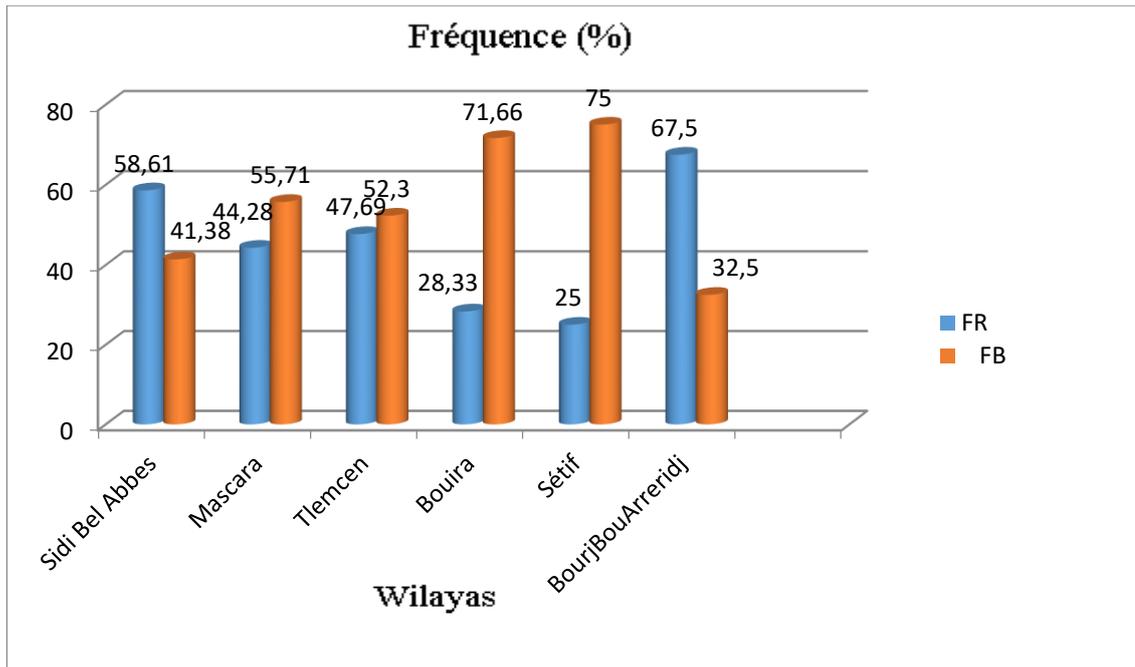


Figure 15 : Fréquence (%) des deux formes de *Pyrenophora teres* au champ

FR : Forme réticulée ; FB : Forme tache brune

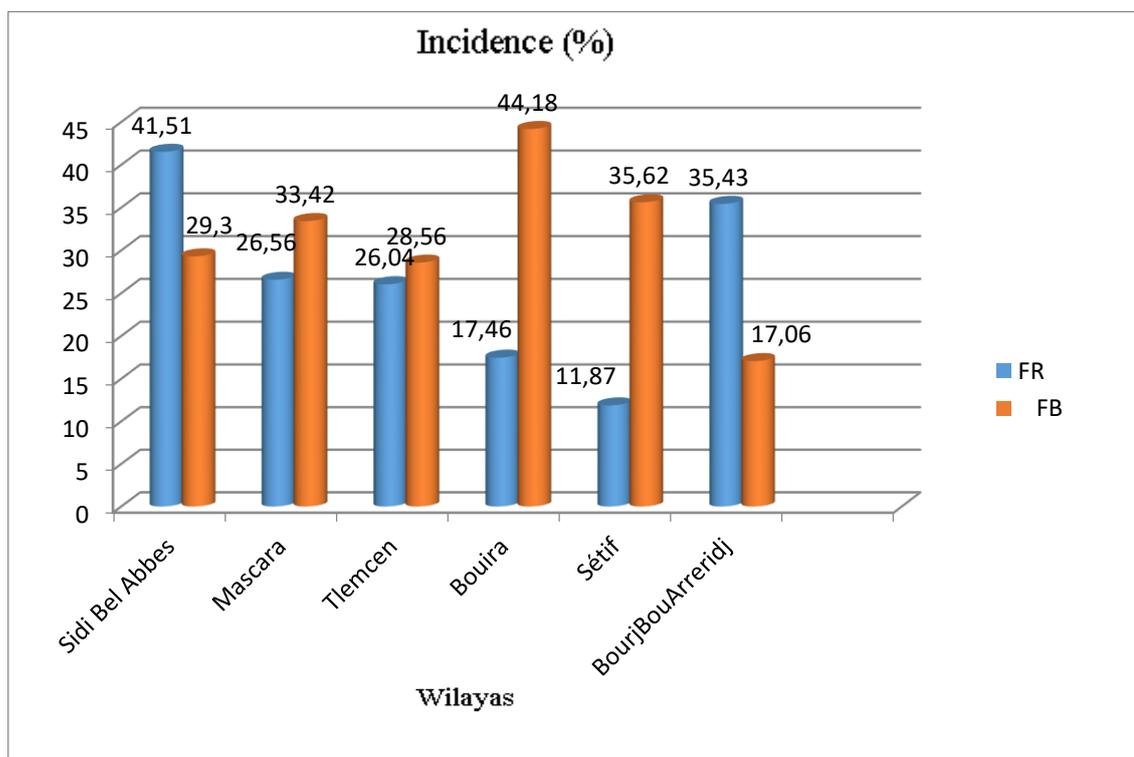


Figure 16 : Incidence (%) des deux formes de *Pyrenophora teres* au champ

FR : Forme réticulée ; FB : Forme tache brune

Résultats et Discussion

1.1.2. Description des symptômes de la maladie

a) **Forme réticulée** : se développe sur les feuilles sous forme de lésions irrégulières, constituées par des stries longitudinales et transversales de couleur brun foncé formant un réseau, qui peut être entouré d'une zone chlorotique. Une attaque sévère peut entraîner la mort des feuilles (**fig. 17**).

b) **Forme tache brune** : se développe sur les feuilles sous forme de :

- ❖ Lésions nécrotiques brunes foncées ponctuelles qui n'augmentent pas en taille mais peuvent développer un petit halo chlorotique.
- ❖ Lésions nécrotiques elliptiques, fusiformes, circulaire, ou irrégulières pouvant être entourées d'une zone chlorotique de largeur variable qui peut s'étendre et fusionner pour détruire toute la feuille.



Figure 17 : La rayure réticulée de l'orge

a- Symptômes en réseau **b-** Symptômes taches brunes

Résultats et Discussion

1.1.3. Identification morphologique de l'agent pathogène

La morphologie des colonies de *Pyrenophora teres*, anamorphe : *Drechslera teres* est variable. Sur milieu PDA, le mycélium est vert foncé, des touffes blanches de mycélium aérien sont produites. La culture de quelques isolats de *P.teres* sur PDA entraîne la sécrétion de pigments orange (appelés anthroquinones).

Les conidiophores sont brun clair et apparaissent seuls ou en petits groupes de deux à trois. Chaque conidiophore produit plusieurs conidies, qui sont de couleur brun clair, droites, cylindriques, arrondies aux extrémités et présentant une légère constriction au niveau des cloisons transversales ; dont le nombre est généralement de 4 à 5, parfois jusqu'à 7. Elles mesurent entre 65-125x11-20µm.

Nous avons également noté la présence de sclérotes qui sont des structures de conservation du champignon de forme sphérique et de couleur noir dispersées sur le milieu.

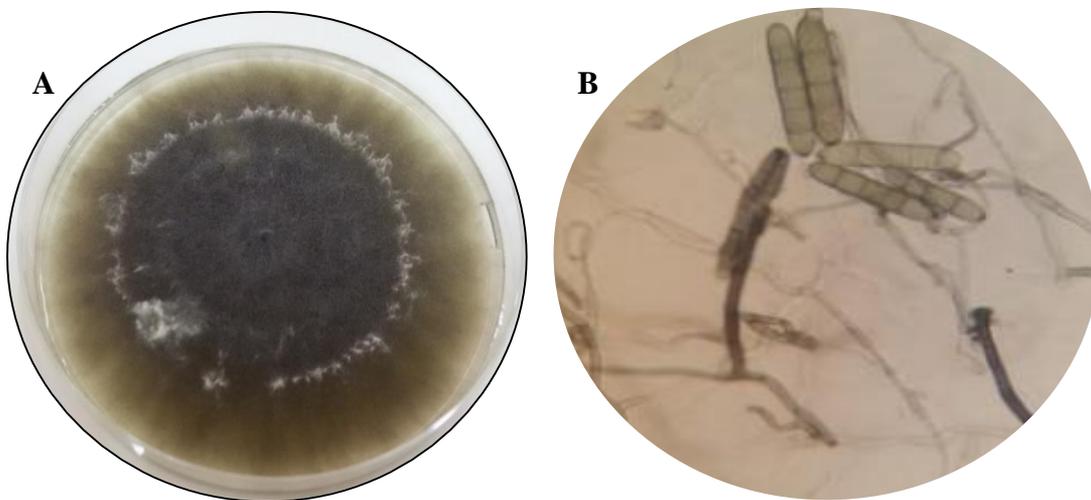


Figure 18 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de *P.teres*

1.2. La rhynchosporiose

Les symptômes de la maladie étaient présents dans 54 champs et étaient répandus dans les hauts plateaux puis les plaines intérieures avec des

Résultats et Discussion

incidences moyennes de 32,77% et 25,27% respectivement, tandis que les plaines côtières avaient eu une faible infestation de 9,61%.

Les symptômes se caractérisent par de grandes taches souvent de forme ovoïde entourées par des anneaux de couleur brune, leurs centres se dessèchent et se décolorent pour avoir à la fin une couleur brun clair (**figure 19**).

Le mycélium est hyalin à gris clair. Les conidies sont hyalines, cylindriques à ovales possédant un septa et elles mesurent (2-4 x 12-20 μm).



Figure 19 : Symptômes de rhynchosporiose

1.3. La strie foliaire

Les symptômes de la maladie étaient présents uniquement dans 22 champs inspectés. Au niveau des plaines intérieures, nous avons enregistré une faible incidence de 2,83%, en revanche nous avons noté un degré d'attaque élevé dans les hauts plateaux de 31,94% ; tandis que pour les plaines côtières, la maladie était totalement absente dans la wilaya de Tlemcen.

Les symptômes de la maladie apparaissent sur les feuilles, sous forme de stries parallèles aux nervures de couleur jaunâtres s'étendant sur toute la longueur du limbe foliaire. Au fur et à mesure que la maladie progresse, ces stries prennent une couleur brune engendrant le dessèchement du limbe.

Les colonies de *Pyrenophora graminea* (anamorphe *Drechslera graminea*) sont de couleur vert foncé avec une légère pigmentation orange souvent observée dans le milieu

Résultats et Discussion

(figure 20). Les conidiophores apparaissent en groupe de deux à six de couleur pale ou faiblement coloré. Les conidies dotées d'une couleur brune dorée sont droites, cylindriques, légèrement effilées et ayant des extrémités arrondies ; elles mesurent généralement 60-90 μm x 15-18 μm avec 3 à 6 cloisons transversales.

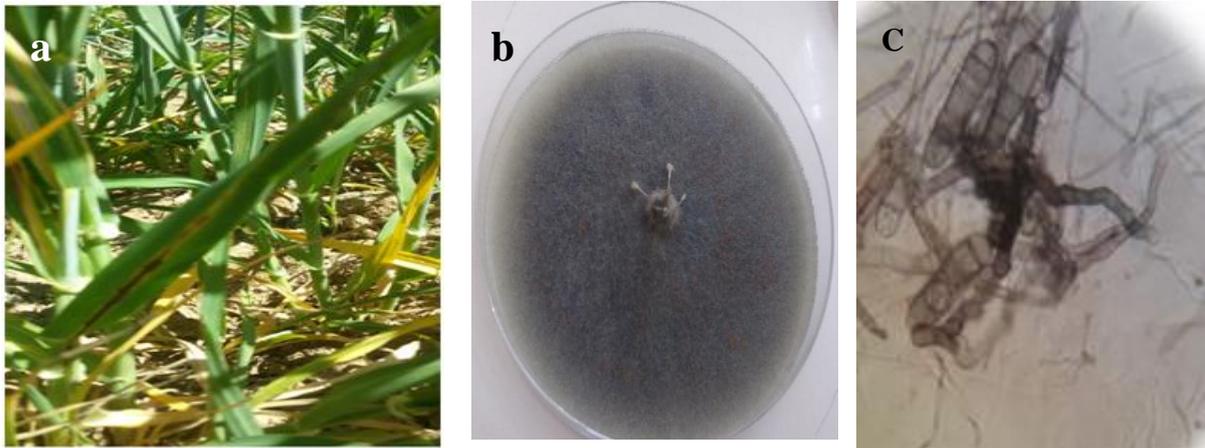


Figure 20 : La strie foliaire de l'orge

a- Symptômes sur feuilles

b- Culture de *Drechslera graminea* sur PDA

c- Conidies de *Drechslera graminea*

1.4. La tache helminthosporienne

Les résultats d'inspection ont mis en œuvre la présence de la maladie dans 45 champs. Les plaines intérieures et les plaines côtières ayant enregistré une incidence moyenne de 15,49% et 27,30% respectivement ; en revanche les hauts plateaux ont enregistré une faible incidence de 9,44% marquée par une faible infestation de 1,66% à Bourj Bou Arreridj.

Les symptômes comprennent des lésions elliptiques brunes d'une longueur variable, avec une marge foncée bien définie. Elles sont délimitées ou non par un halo jaune. Les taches sont parfois longitudinales et délimitées par les nervures, mais ne forment jamais de réseau. Cette maladie est souvent confondue avec la forme tache brune de la rayure réticulée, dont le recours à une observation microscopique est essentiel pour confirmer le diagnostic.

Les colonies de *Helminthosporium sativum* (*Bipolaris sorokiniana*) sont de couleur vert foncé à noirâtres (figure 21). Les conidies sont de forme elliptique et

Résultats et Discussion

peuvent être droites ou légèrement incurvées, de couleur brune olive foncée et ayant généralement cinq à neuf cloisons transversales (**fig.21**). Elles mesurent 60-120 μm x 12-20 μm .

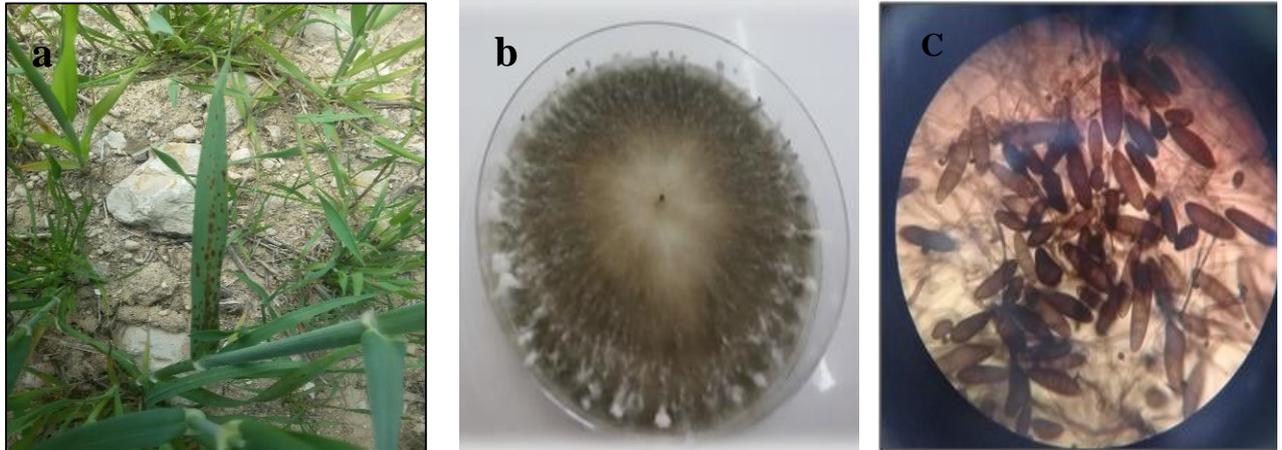


Figure 21: Tache helminthosporienne

a –Symptômes sur feuilles b-colonie de *Bipolaris sorokiniana*
c- conidie de *Bipolaris sorokiniana*

1.5. L'oïdium

Les symptômes de la maladie sont présents dans 38 champs prospectés avec un degré d'attaque plus élevé dans les hauts plateaux essentiellement les deux régions de Bouira et Sétif, avec une incidence de 40,8% et 40% respectivement. Par contre la région de Bourj Bou Arreridj, un degré d'attaque nul est enregistré.

Les symptômes apparaissent sur les feuilles sous forme d'un feutrage blanc assez dense formé par des amas de mycélium. A un stade de développement avancé de la maladie, des fructifications sous forme de points noirs (cleistothèces) apparaissent au sein du feutrage (**Fig.22**).

Résultats et Discussion

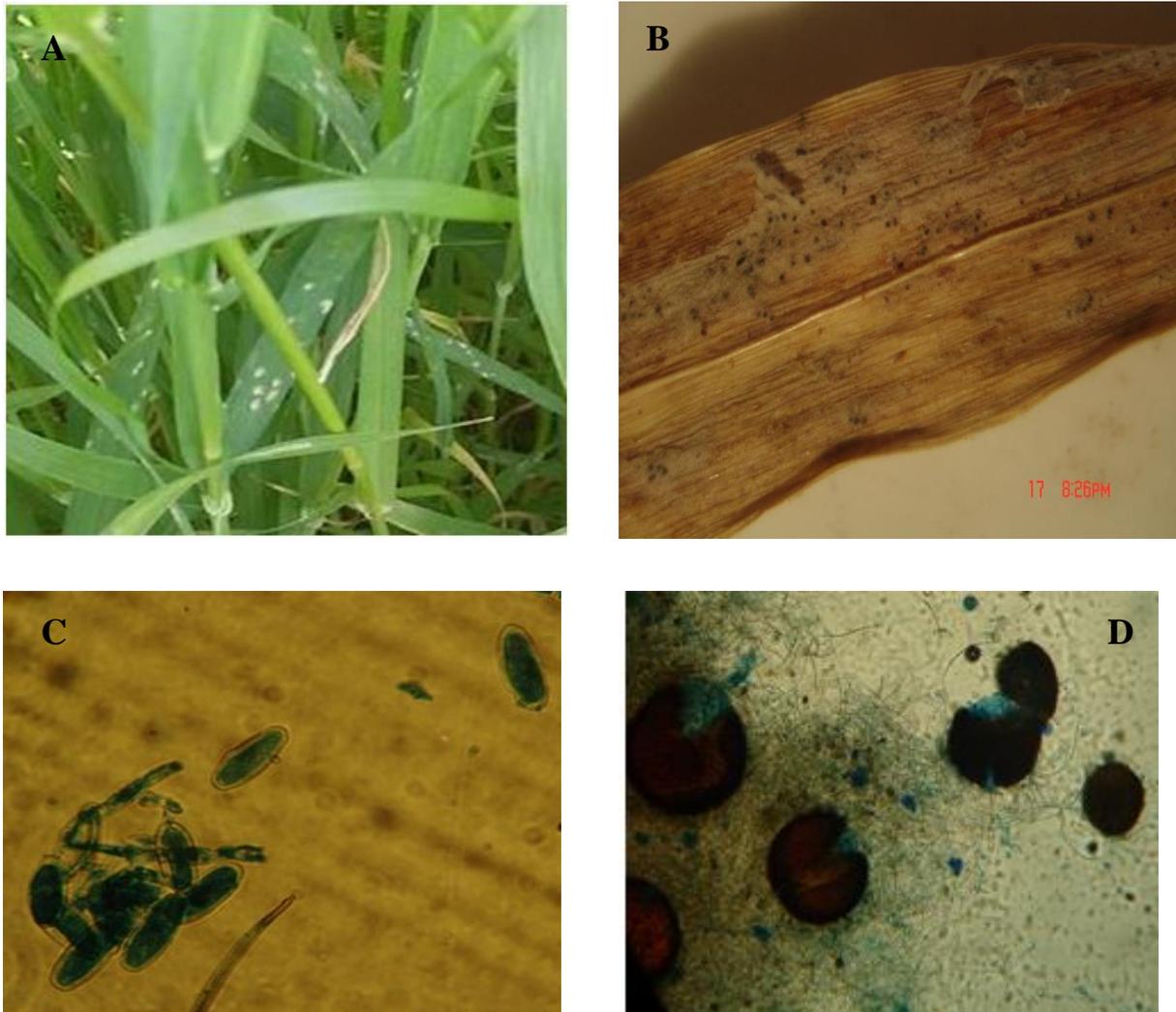


Figure 22 : Symptômes d'oïdium

A : Symptômes sur feuilles

B : cleistothèces sur paille

C: Aspect microscopique des Oïdies

D: Aspect microscopique des cleistothèces

2. Discussion

Au cours de cette étude, 63 champs d'orge appartenant aux différentes zones céréalières du pays ont été inspectés durant les deux campagnes agricoles (2016/2017 ; 2017/2018). Nous avons mis en œuvre la présence de nombreuses maladies cryptogamiques sur cette culture notamment les maladies foliaires. Nous avons noté que la rayure réticulée représente la maladie la plus courante suivie de la rhynchosporiose, l'oïdium, la strie foliaire et la tache helminthosporienne. Cette étude a confirmé une étude précédente menée par Boungab (2013), qui a souligné que les maladies foliaires constituent les principales contraintes biotiques de la culture

Résultats et Discussion

d'orge dans le nord-ouest algérien, dont la rayure réticulée était la maladie la plus rencontrée suivie de l'oïdium, la strie foliaire et la rhynchosporiose. Ertürk et *al* (2018), ont souligné la prépondérance de la rayure réticulée suivie par la rhynchosporiose, la strie foliaire et l'oïdium dans la région Bala, Ankara, Turquie. Les résultats obtenus par McLean et *al* (2010), ont signalé la prédominance de la tache brune de la rayure réticulée suivie par la rhynchosporiose, la rouille brune et l'oïdium en Australie pendant les deux saisons végétatives 2007 et 2008.

Au cours de cette étude, l'incidence de la rayure réticulée variait de 47,5% à 70,83%. Sayoud et Benbelkacem (1996), ont reporté que l'incidence de la rayure réticulée variait en Algérie pendant les campagnes agricoles 1989 à 1993 de 11 à 80%. Boungab (2013), a également évalué l'incidence de la maladie, qui variait de 64.84% à 83.16% durant trois campagnes agricoles successives (2007-2008 ; 2008-2009 et 2009- 2010) dans le Nord-Ouest Algérien.

La prédominance de la rayure réticulée par rapport aux autres maladies foliaires en Algérie peut avoir plusieurs causes, parmi lesquelles les pratiques culturales orientées vers une rétention des chaumes, l'utilisation restreinte des variétés sensibles à la maladie. Reguieg et *al* (2015), ont souligné l'utilisation de deux variétés locales saida 183 à l'ouest et Tichedrett à l'est du pays. La distribution anarchique des semences aux profils des agriculteurs sans le recours à aucune certification sanitaire et la négligence de cette culture au détriment du blé par le fait que les agriculteurs ne procèdent pas aux traitements fongicides.

Lors de nos inspections, nous avons noté une légère hausse de l'occurrence de *Ptm* par rapport à *Ptt* avec une fréquence moyenne de 53,52% et 46,46% respectivement. Boungab et *al* (2009), ont reporté en se basant sur l'identification symptomatologique la prédominance de *Ptt* par rapport à *Ptm* dans le Nord-ouest Algérien ; Lammari et *al* (2019), en se basant sur l'identification PCR, ont souligné que la forme *Ptt* est la forme la plus répandue de la rayure réticulée en Algérie. Les deux formes sont réparties assez différemment dans le monde entier ; la prévalence de la forme réticulée était signalée dans plusieurs pays Finlande, Hongrie, Maroc, Canada (Serenius et *al.*, 2005 ; Ficsor et *al.*, 2014 ; El Yousfi et Ezzahiri, 2001 ; Akhavan et *al.* 2015). En revanche, dans les régions du sud-est de l'Australie, l'Éthiopie et la Turquie, la forme tache brune était la plus courante (McLean et *al.*,

Résultats et Discussion

2010; Teferi et *al.*, 2015; ÇelikOğuz et *al.*, 2018). Statkevičiūtė et *al.* (2010), ont conclu que la différence d'occurrence et de prévalence de *Ptt* et *Ptm* peuvent être associées à la popularité de certaines variétés d'orge dans différentes régions et pays. Elles peuvent être variable entre les régions d'un même pays et peuvent changer dans le temps (Lammari et *al.*, 2019). L'émergence et l'extension de cette maladie et d'autres maladies foliaires tirent la sonnette d'alarme ; des mesures sanitaires strictes doivent être mises en place afin de limiter la propagation de ces parasites qui peuvent entraîner des dégâts considérables sur le plan quantitatif et qualitatif.

CHAPITRE 2

Caractérisation moléculaire, phénotypique et pathologique de *P.teres*

1. Caractérisation moléculaire de *Pyrenophora teres*

La présente étude s'est focalisée sur 61 isolats obtenus à partir de différentes régions céréalières du pays pendant les deux saisons végétatives 2016/2017 et 2017/2018.

1.1. Mesure de la concentration et de la pureté d'ADN des isolats de *P. teres*

La pureté et la concentration d'ADN extrait à partir de chaque isolat ont été mesurées à l'aide de l'appareil « NANODROP » (Annexe 2). Tous les échantillons d'ADN ont été ajustés à une concentration finale de 50 ng μL^{-1} dans du tampon TE et conservés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

1. 2. Identification moléculaire et répartition des deux formes de l'agent pathogène

L'analyse des produits amplifiés de 61 isolats par électrophorèse sur gel d'agarose, a mis en évidence la présence de fragments d'ADN de taille (586 pb) (Fig.23), confirmant la présence de l'espèce *Pyrenophora teres*.

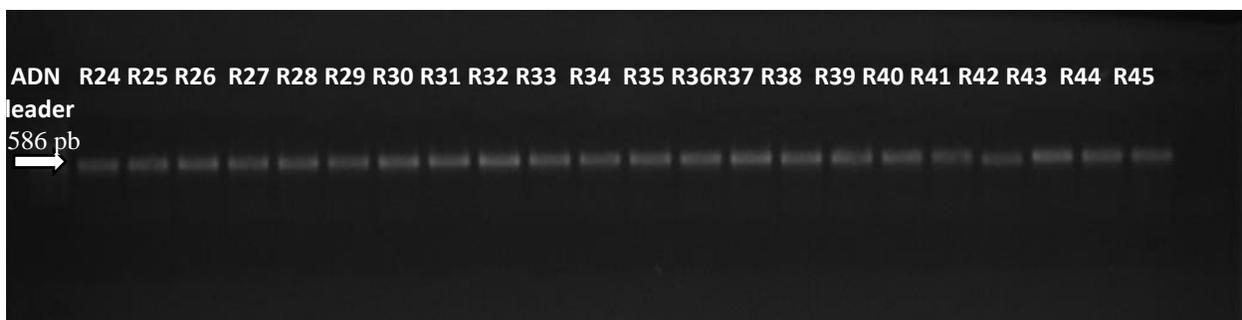


Fig.23: Confirmation des isolats de *P.teres* par l'utilisation d'amorce PtGPD1

L'utilisation d'amorces appropriées SNP spécifiques, a mis en évidence la présence des deux formes réticulée et tache brune au sein de notre collection d'isolats de *P.teres*. *Ptm* était la forme dominante, elle était présente chez 35 isolats avec un

Résultats et Discussion

pourcentage de 57,37%, tandis que *Ptt* était moins fréquemment présente, elle était observée chez 26 isolats enregistrant un pourcentage de 42,62% (**Tableau 7**).

La distribution des deux formes de *P. teres* dans les différentes wilayas a indiqué que l'ouest du pays (Mostaganem, Tlemcen, Sidi Bel Abbes, Mascara), a enregistré une forte occurrence de *Ptm* avec un pourcentage de 64,86% , principalement dans Sidi Bel Abbes et Mascara et un pourcentage de 35,13% pour *Ptt* ; tandis que dans l'est du pays (Sétif, Bouira, Constantine, Bejaia, Guelma, Bordj Bou Arreridj, Souk Ahras et Biskra), nous avons noté une prédominance de la forme *Ptt* à un pourcentage de 52,17% avec une fréquence élevée dans la wilaya de Sétif et un pourcentage de 47,82% pour *Ptm*. Le centre du pays comportait un seul isolat de forme réticulée provenant de Boumerdes (**Fig.24**).

La présence et la distribution de chacune de ces formes ont varié au cours des deux années expérimentales. Les deux formes de l'agent pathogène ont été isolées pendant les deux saisons végétatives (2016/2017, 2017/2018), sauf dans certaines wilayas de l'est (Constantine, Souk Ahras, Biskra), seule la forme *Ptm* était isolée.

En se basant sur les symptômes visuels, les deux formes de la maladie étaient prélevées du même champ et les amorces spécifiques employées ont confirmé l'occurrence des deux formes du pathogène dans le même champ, comme c'était le cas pour certains isolats de Tlemcen (**R19, R2**) et Bouira (**R42, R44**) (**Tableau7**).

Résultats et Discussion

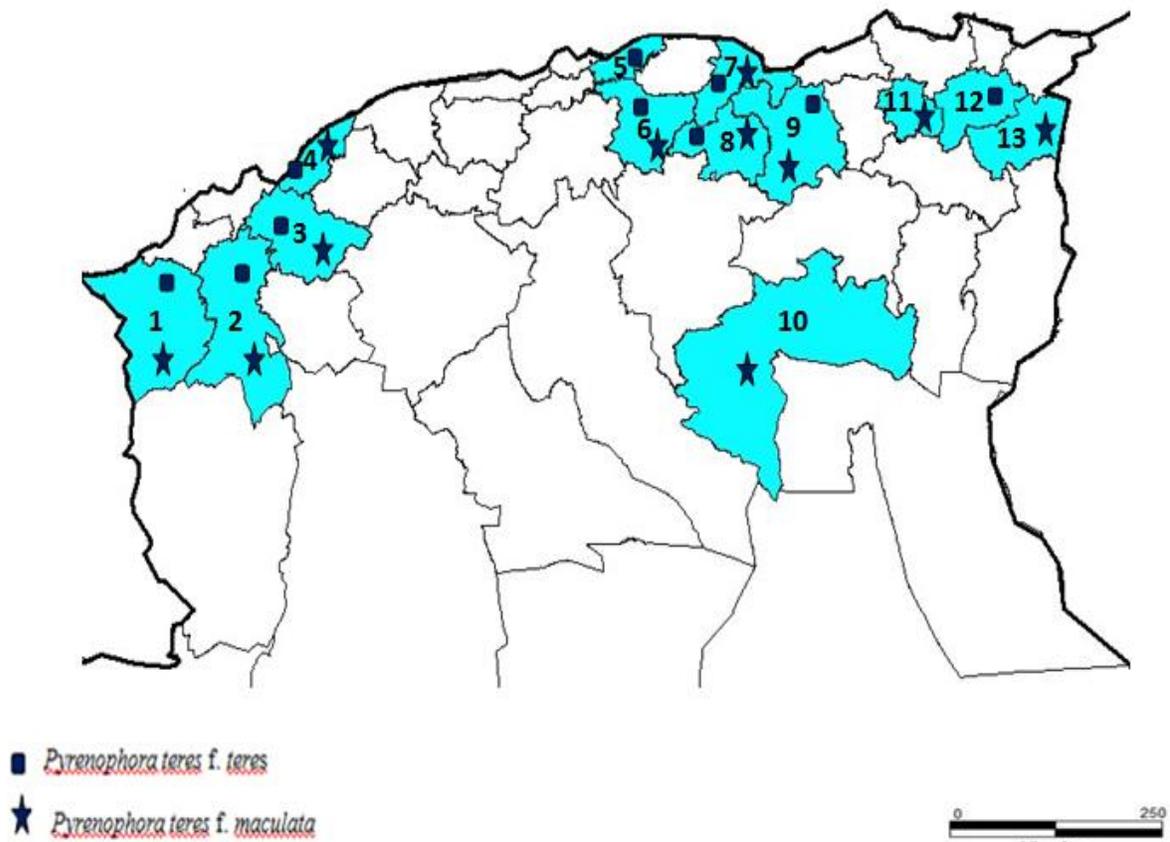


Fig. 24 : Fréquence des deux formes de *P.teres* en Algérie

1, Tlemcen ; 2, Sidi bel Abbas ; 3, Mascara ; 4, Mostaganem ; 5, Boumerdes ; 6, Bouira ; 7, Bejaia ;
8, Bordj Bou Arreridj ; 9, Sétif ; 10, Biskra ; 11, Constantine ; 12, Guelma ; 13, SoukAhras

Résultats et Discussion

2. Caractérisation phénotypique des isolats de *P.teres*

2.1. Caractérisation morphologique

L'observation macroscopique des colonies de 61 isolats de *P.teres* sur milieu PDA, a mis en évidence une variabilité des caractères morphologiques notamment le type et la couleur des colonies, la formation de corémies, la présence ou l'absence de sclérotas et la présence ou l'absence de pigmentation (**Tableau7**).

2.1.1. Type des morphotypes rencontrés

L'ensemble des isolats cultivé sur milieu PDA, ont révélé différents types de morphotype (aérien cotonneux, aérien pelucheux, ras, rayonnant et zonant). Le type aérien cotonneux était le plus dominant, il était présent chez 59,01% de notre population notamment à Sidi Bel Abbes (76,92%) et à Sétif (71,42%). Le type aérien pelucheux a caractérisé deux isolats des deux régions de Mostaganem (R39) et Constantine (R40). Le type ras était présent chez 29,5 % de la population, notamment dans la région de Mascara (66,66%), tandis que le type rayonnant a caractérisé uniquement 2 isolats appartenant aux deux régions : Mascara (R43) et Boumerdes (R11). Nous avons noté également que le type zonant était rare, uniquement 3 isolats de 3 régions différentes à savoir Bouira (R3), Bourdj Bou Arreridj (R42) et Sidi Bel Abbes (R51) étaient distinguées par cet aspect de mycélium.

Le morphotype aérien cotonneux était dominant dans l'ouest du pays (Sidi Bel Abbes, Mostaganem, Tlemcen, Mascara), avec un pourcentage de 51,35%. Nous avons enregistré un pourcentage de 40,54% pour l'aspect ras, tandis que les isolats de ces régions ont révélé une faible présence pour les morphotypes aériens pelucheux, rayonnant et zonant avec un pourcentage de 2,70%

Dans l'est du pays (Bouira, Setif, Guelma, Souk Ahras, Biskra, Bejaia, Bourdj Bou Arreridj, Constantine), 73,91% des isolats ont montré un aspect de mycélium de type aérien cotonneux, 13,04% de type ras, 8,69% de type zonant et 4,34 % de type aérien pelucheux. Nous avons enregistré l'absence du morphotype rayonnant.

Résultats et Discussion

Tableau 7 : Caractéristiques morphologiques des isolats de *Pyrenophora teres*

Isolat	Wilaya	Morphotype	Couleur de la colonie	Présence de pigment	Croissance (cm)	Formation de corémies	Formation de sclérotés	Forme
R01	Mostaganem	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,03	+	+	S
R02	Tlemcen	Ras	Vert olive	Absence	6,9	-	-	S
R03	Sidi Bel Abbès	Zonant	Vert olive	Absence	6,85	-	+++	S
R04	Sidi Bel Abbès	Aérien-Cotonneux	Grisâtre	Absence	7,85	-	-	N
R06	Tlemcen	ras	Vert olive	Présence (orange)	7,86	-	++	N
R07	Sidi Bel Abbès	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,5	-	++	S
R08	Guelma	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7.65	+++	-	N
R09	Bouira	Aérien-cotonneux	Vert olive	Absence	7,45	++	+	N
R10	Sidi Bel Abbès	Ras	Vert foncé	Absence	7,6	-	-	S
R11	Boumerdes	Rayonnant	Vert olive	Absence	6,9	-	+	N
R12	Sidi Bel Abbès	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Présence (orange)	7,71	+	++	S
R13	Sétif	Ras	Vert olive	Absence	7,26	-	+	S
R14	Sidi Bel abbès	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	7,53	-	+	S
R15	Sétif	Aérien-Cotonneux	Grisâtre	Absence	6,45	-	-	S
R16	Mascara	Aérien-Cotonneux	Blanchâtre	Absence	6,96	+++	-	S
R17	Sidi Bel Abbès	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	7,43	-	++	N
R18	Mascara	Ras	Vert olive	Absence	7,37	-	++	N
R19	Tlemcen	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,03	++	+	N
R20	Tlemcen	Aérien-Cotonneux	Grisâtre	Absence	7.85	-	-	S
R21	Mascara	Ras	Vert olive	Présence (orange)	7,6	-	++	S
R22	Sidi Bel Abbès	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	6,86	-	-	S
R23	Bouira	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,18	++	+	N
R24	Tlemcen	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	7,45	+	+	N
R25	Mascara	Ras	Vert olive	Absence	7,85	-	+	S
R26	Bordj Bou Arreridj	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,6	-	-	S
R27	Mostaganem	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	7, 3	++	+	N
R28	Sidi Bel Abbès	Aérien-cotonneux	Vert foncé	Présence (orange)	6,2	-	+	S
R29	Sétif	Ras	Vert olive	Absence	7,73	-	-	N
R30	Mascara	Ras	Vert olive	Absence	6,95	-	++	S
R31	Sidi Bel Abbès	Ras	Vert olive	Absence	7,1	-	++	S
R32	Tlemcen	Ras	Grisâtre	Absence	7.65	-	-	S
R33	Tlemcen	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Présence (orange)	7,15	-	+++	S

Résultats et Discussion

R34	Mascara	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	6,86	+++	++	N
R35	Bejaia	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Présence (orange)	6,1	+	+	N
R36	Constantine	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Présence (orange)	7,9	-	+++	S
R37	Bejaia	Aérien-Cotonneux	Grisâtre	Absence	6,9	-	++	N
R38	Tlemcen	ras	Vert foncé	Absence	6,86	-	++	S
R39	Mostaganem	Pelucheux	Grisâtre	Absence	6,76	+++	-	S
R40	Constantine	Pelucheux	Blanchâtre	Absence	6,86	+++	-	S
R41	Tlemcen	ras	Vert olive	Absence	7,5	+	+	N
R42	Bouira	Zonant	Vert olive	Absence	7,9	-	++	N
R43	Mascara	Rayonnant	Vert olive	Absence	7,25	-	-	S
R44	Bouira	Aérien-cotonneux	Grisâtre	absence	7,85	-	++	S
R45	Sétif	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	6,45	-	++	N
R49	Tlemcen	ras	Vert olive	Presence(rose)	7	-	+	N
R50	Bejaia	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,3	+	++	S
R51	Bourdj Bou Arrerirdj	Zonant	Vert olive	Absence	7,71	-	-	N
R52	Sidi Bel Abbes	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Présence (orange)	5,9	-	+	N
R53	Sidi Bel Abbes	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Présence (orange)	7,45	+	+	S
R54	Tlemcen	ras	Vert olive	Absence	7,03	-	++	S
R55	Mascara	Ras	Vert olive	Absence	7,25	-	++	S
R56	Biscra	Ras	Vert olive	Absence	7,4	-	-	S
R57	Souk Ahres	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,8	-	++	S
R58	Souk Ahres	Aérien-cotonneux	Vert olive	Absence	7,65	-	-	S
R59	Sétif	Aérien-Cotonneux	Grisâtre	Absence	6,9	-	+	N
R60	Sidi Bel Abbes	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,1	+	++	S
R61	Tlemcen	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	7,53	++	-	N
R63	Mascara	Ras	Vert olive	Absence	6,96	+	++	S
R64	Sétif	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Absence	7,65	-	+++	N
R65	Guelma	Aérien-Cotonneux	Vert olive	Absence	7,85	++	+	N
R66	Tlemcen	Aérien-Cotonneux	Vert foncé	Présence (orange)	7,15	+	+	N

N : *P.teres f.teres* S : *P.teres f. maculata*

+++ : très abondante

++ : abondante

+ : peu abondante

- : Absence

Résultats et Discussion

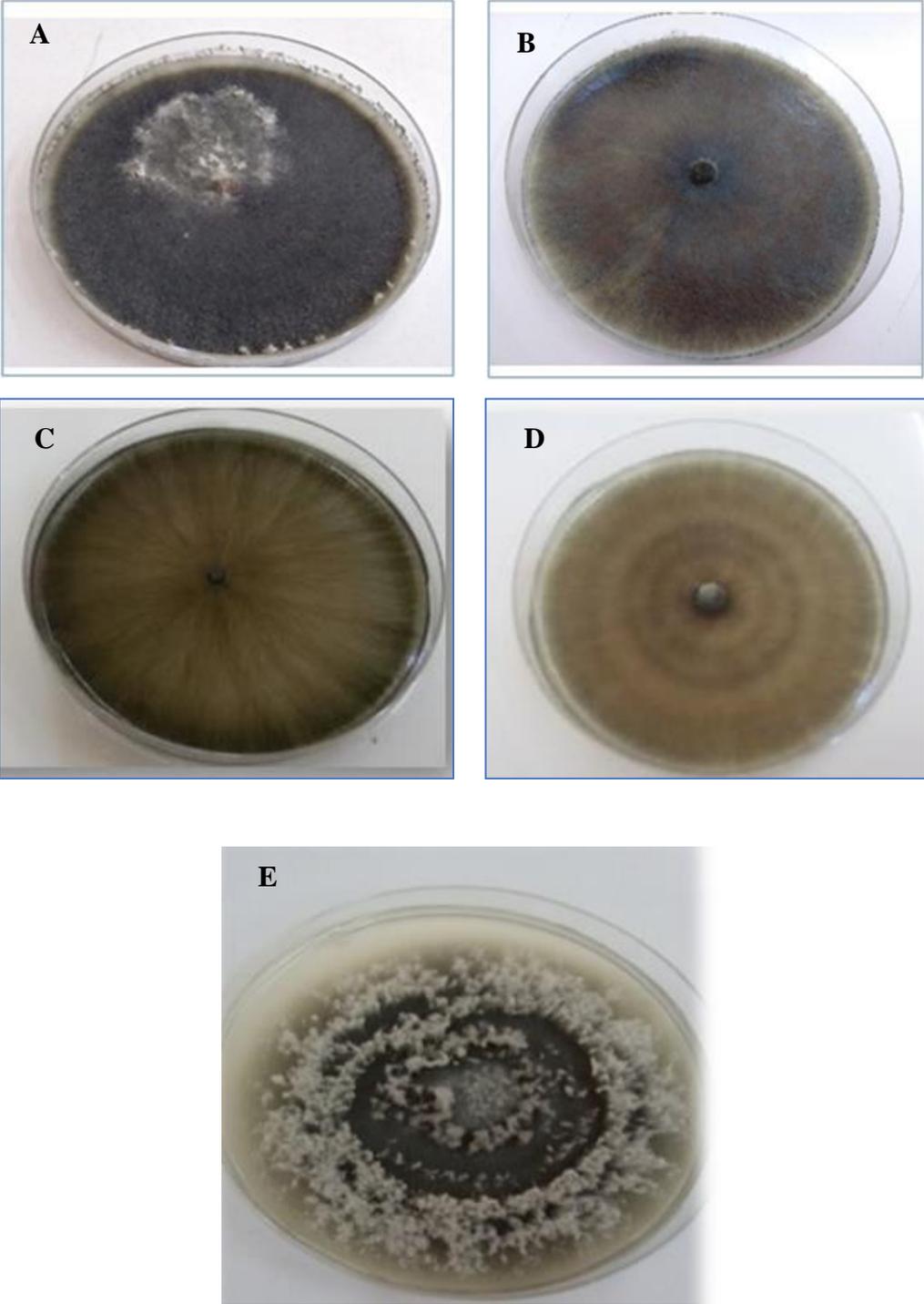


Fig.25 : Différent aspects de colonies de *P.teres*
A- Cotonneux ; B- Ras ; C- Rayonnant ; D-Zonant ; E-Pelucheux

Résultats et Discussion

Les observations effectuées ont également indiqué la dominance du morphotype aérien cotonneux chez les isolats *Ptm* avec un pourcentage de 51,42%, alors que le morphotype aérien pelucheux était présent à un pourcentage de 5,71%. Le morphotype ras était rencontré chez 37,14 % des isolats. Les 2 morphotypes rayonnant et zonant ont été enregistré uniquement chez un seul isolat avec un pourcentage de 2,85 % (**fig.26**).

Nous avons noté également la prépondérance du morphotype aérien cotonneux chez les isolats *Ptt*, avec un pourcentage de 69,23% et l'absence du morphotype aérien pelucheux ; le type ras était moins présent avec un pourcentage de 19,23%. Nous avons également souligné la faible présence du morphotype de type rayonnant et zonant comme nous l'avons déjà signalé pour les isolats *Ptm*, avec des pourcentages de 3,84% et 7,69% respectivement (**fig.26**).

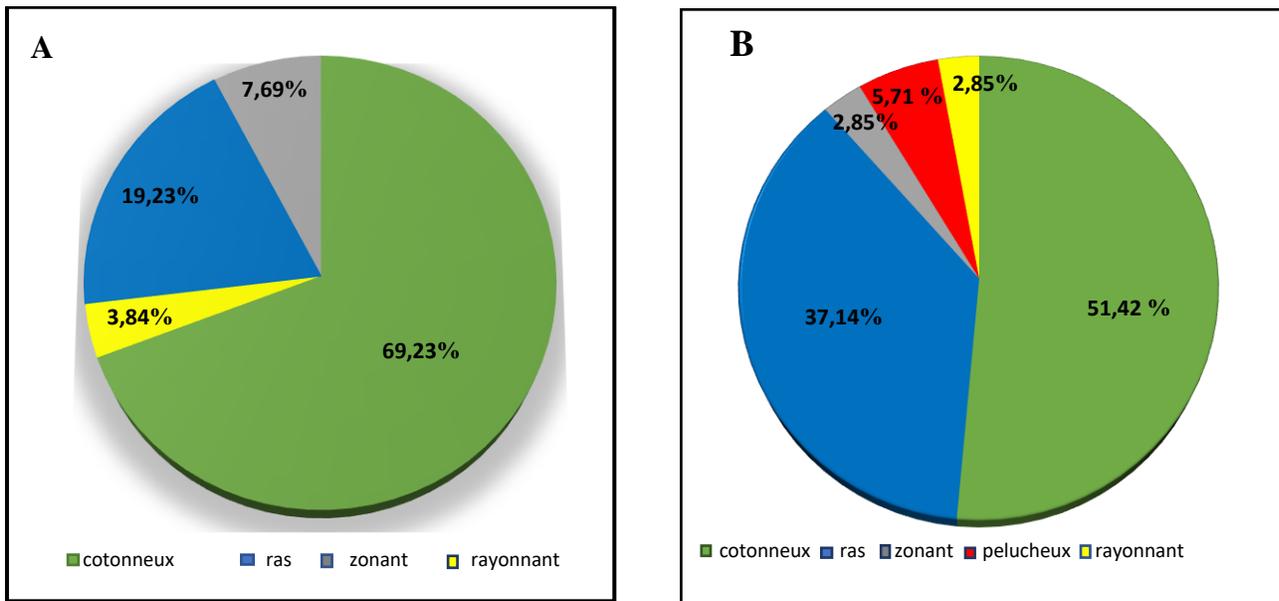


Fig.26 : Fréquence des isolats selon le type de morphotype pour les isolats *Ptt* (A), *Ptm* (B)

2.1. 2. Couleur des morphotypes rencontrés

Les observations réalisées sur l'ensemble des colonies des isolats étudiés après 7 jours d'incubation, ont indiqué la prépondérance de la couleur verte olive sur 34 isolats soit (55,73%), suivi par la couleur verte foncée, étant présente sur 17 isolats soit à

Résultats et Discussion

(27,86%), tandis qu'uniquement 8 isolats ont révélé une couleur grisâtre (13,11%), et 2 isolats seulement sont d'une couleur blanchâtre (3,27%).

L'analyse de la couleur des isolats au dépend de leurs origines géographiques a indiqué la prédominance de la couleur verte olive dans la région ouest du pays (Sidi Bel Abbes, Mascara, Tlemcen, Mostaganem), avec un pourcentage de 59,45%, suivie par la couleur verte foncée avec un pourcentage de 29,72%, et la couleur grisâtre avec un pourcentage de 8,10% ; tandis que la couleur blanchâtre a caractérisé uniquement un seul isolat de Mascara appartenant à la forme *P. teres f. maculata* (R16).

Pour les isolats de la région est, la couleur verte olive était également la plus dominante, avec un pourcentage de 47,82 %. La couleur verte foncée s'est révélée chez 26,08% des isolats. Nous avons noté la présence de la pigmentation grisâtre chez 21,73 %, alors que la couleur blanchâtre n'était présente que chez un seul isolat de Constantine (4,34%) appartenant à la forme *P. teres f. maculata* (R40).

Lors des observations effectuées, nous avons également mis au point ce critère de couleur pour les deux formes du pathogène séparément. Pour les isolats *Ptm*, nous avons enregistré la prédominance de la couleur verte olive avec un pourcentage de 48,57%, suivie par la couleur verte foncé d'un pourcentage de 31,42%. 14,28% des isolats ont montré une pigmentation grisâtre, tandis que la pigmentation blanchâtre ne s'est avérée présente que chez deux isolats (R16, R40) à un pourcentage de 5,71% (**Fig.27**).

Pour les isolats *Ptt*, la couleur verte olive était également fortement présente enregistrant un pourcentage de 65,38%, suivie par la couleur verte foncé à un pourcentage de 23,07%, ainsi que par la pigmentation grisâtre à un pourcentage de 11,58%. Nous avons noté l'absence de pigmentation blanchâtre (**Fig.27**).

Les résultats obtenus ont indiqué que le type et la couleur du morphotype chez l'ensemble des isolats *Ptt* et *Ptm* étudié, n'ont présenté aucune corrélation avec leur origine géographique. Nous avons également mis en évidence l'apparition d'un pigment orange chez certains isolats (10 isolats) soit un pourcentage de 16,39% et la présence d'un pigment rose chez un seul isolat (R49).

Résultats et Discussion

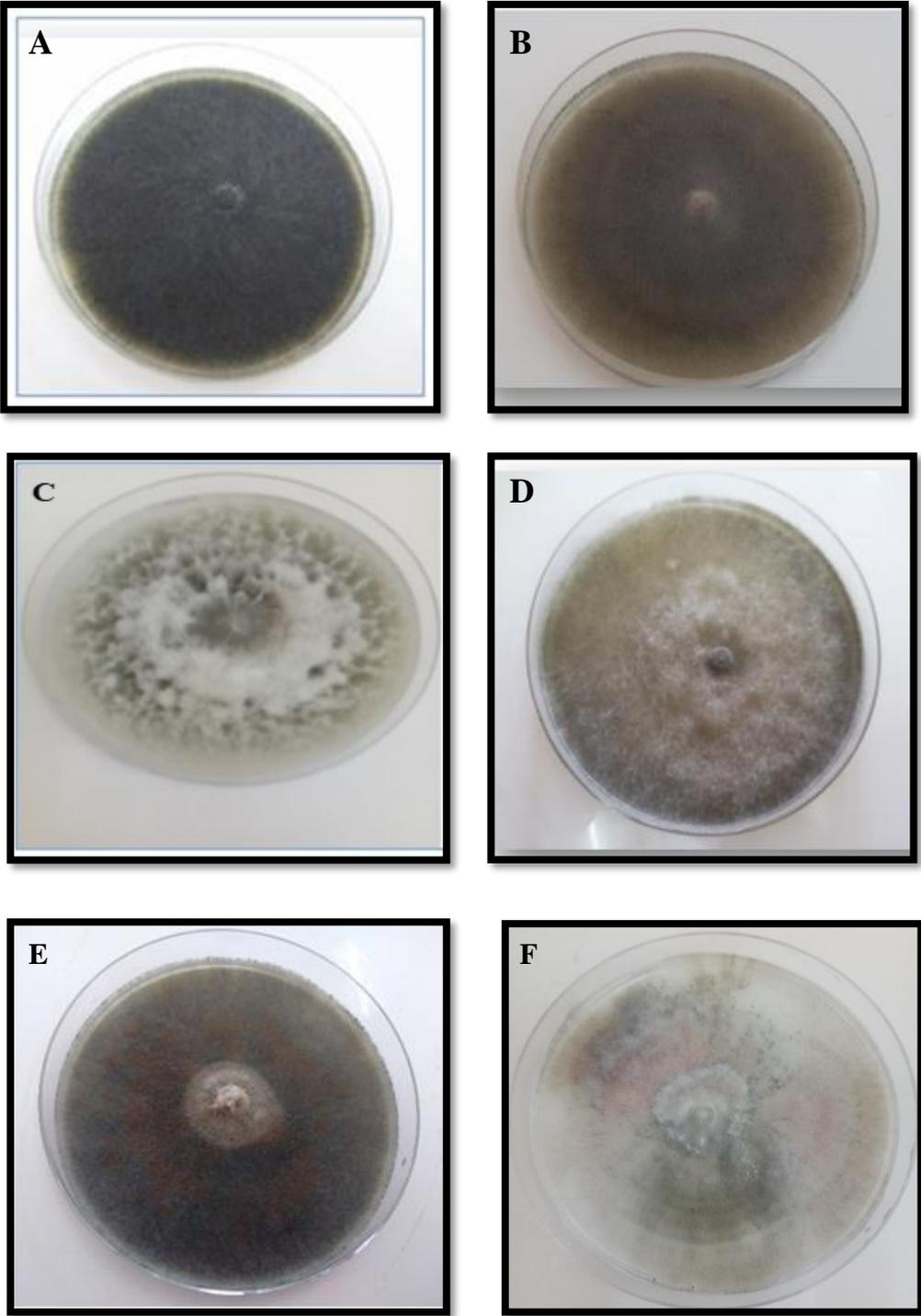


Fig.27 : Différentes couleurs de colonies de *P.teres*

A-vert foncé ; B- vert olive ; C-Blanchâtre ; D-Grisâtre ; E-présence de pigmentation orange ; F-présence de pigmentation rose

Résultats et Discussion

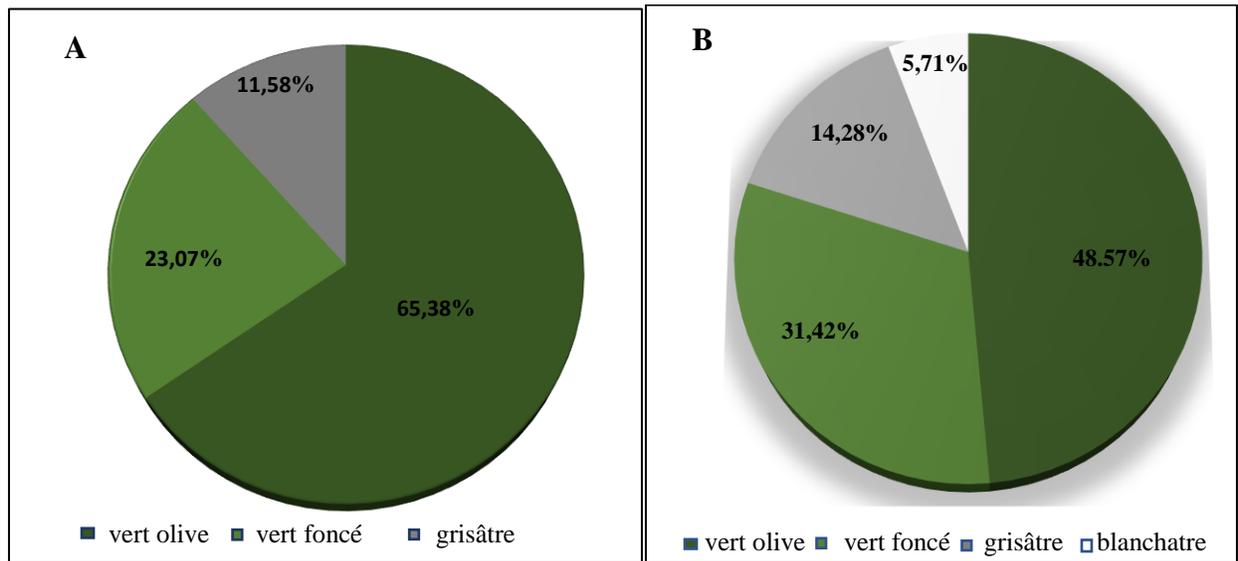


Fig.28 : Fréquence des isolats selon la couleur pour *Ptt* (A) et *Ptm* (B)

2.1.3. Formation de corémies et de sclérotés

Les observations effectuées ont permis de mettre en évidence la présence ou l'absence de formation de corémie. Elles sont des structures sous forme de touffes mycéliennes blanchâtre qui se forment en culture fongique. Nous avons enregistré qu'elles étaient absentes chez 40 isolats (65,57%), peu abondante chez 10 isolats (16,39%), abondante chez 6 isolats (9,83%), tandis qu'elles étaient très abondantes chez 5 isolats (R8, R16, R34, R3, R40), en enregistrant un pourcentage de 8,19%.

Parmi les isolats *Ptm*, 26 isolats (74,28%) ont révélé une absence de corémies, alors que 6 isolats (17,14%) ont montré une présence peu abondante, et 3 isolats (8,57%) étaient caractérisés par une présence très abondante de corémies. Parmi les isolats *Ptt*, l'absence de corémies était observée chez 53,84% de la population, tandis que chez 15,38%, une présence peu abondante de corémies était enregistrée. 23,07% des isolats étaient caractérisés par une abondance de formation de corémies, alors qu'une présence très abondante de corémies était signalée chez 7,69% des isolats.

Résultats et Discussion

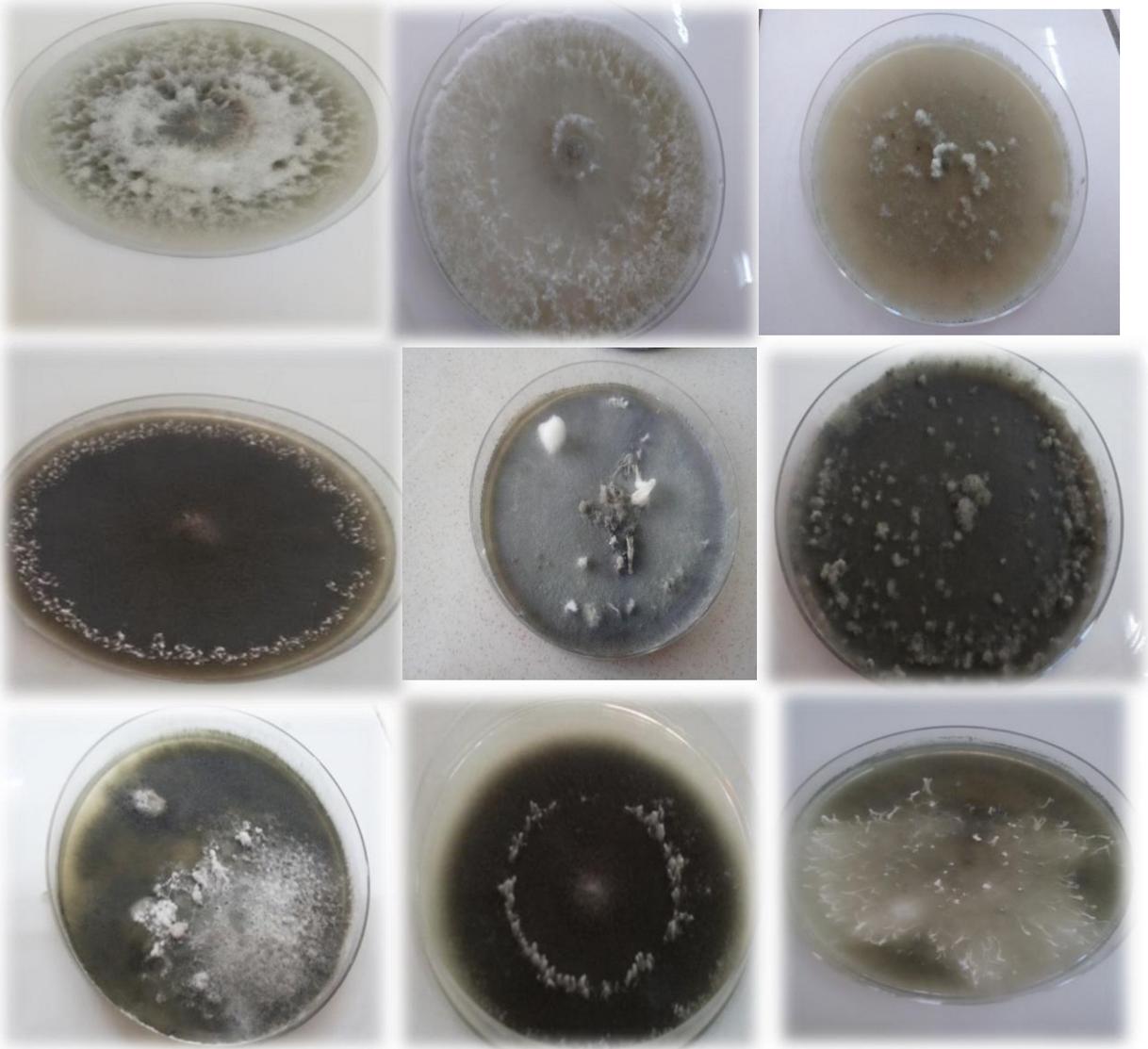


Fig.29 : Différents aspects de corémies

Résultats et Discussion

L'ensemble des isolats était également caractérisé par la formation de petites structures sphériques noires. 18 isolats soit un pourcentage de 29,5%, ont enregistré une absence de sclérotas, tandis qu'une présence peu abondante était signalée chez 19 isolats soit 31,14%. 20 isolats (32,78%) ont révélé une présence abondante, alors que 4 isolats (6,55%) ont montré une formation très abondante. Les isolats *Ptt* étaient caractérisés par une absence de sclérotas chez 5 isolats soit un pourcentage de 19,23%, une formation peu abondante chez 13 isolats soit 50%, une formation abondante chez 7 isolats soit 26,92%. Nous avons enregistré une formation très abondante de sclérotas chez uniquement un seul isolat ce qui représente un pourcentage de 3,84%.

Nous avons noté que les isolats *Ptm* ont révélé une absence de formation de sclérotas chez 13 isolats (37,14%). La formation de sclérotas était peu abondante chez 6 isolats enregistrant un pourcentage de (17,14%), abondante chez 13 isolats enregistrant un pourcentage de (37,14%) et très abondante chez 3 isolats à un pourcentage de 8,57%.

3. Caractérisation biométrique des conidies

L'observation microscopique de l'ensemble des isolats cultivé sur milieu PDA a permis de les classer en 2 groupes : sporulant et non sporulant. 37 isolats (60,65%) de notre collection étaient sporulant dont 17 isolats appartenaient à la collection d'isolats *Ptt* (65,38%) et 20 à la collection d'isolats *Ptm* (57,14%).

Lors de nos observations, nous avons noté que les conidies étaient droites, cylindriques, arrondies aux deux extrémités et présentant 4 à 5 cloisons transversales ; elles étaient dotées d'une cicatrice à leurs extrémités bien visible chez certains isolats et discrète chez d'autres. Les dimensions des conidies (longueur et largeur) ont différencié d'un isolat à un autre. Chez les isolats *Ptt*, la longueur des conidies a varié de 57 à 111,15 μm , la plus petite était enregistrée chez l'isolat R18, et la plus grande chez l'isolat 37, tandis que pour les isolats *Ptm*, la longueur a varié entre 63,27 à 105,45 μm , la plus petite était notée chez l'isolat R50 et la plus grande chez l'isolat R33. Par ailleurs, la largeur des conidies des isolats *Ptt* et *Ptm* ont varié entre 11,4 à 19,95 μm .

Résultats et Discussion

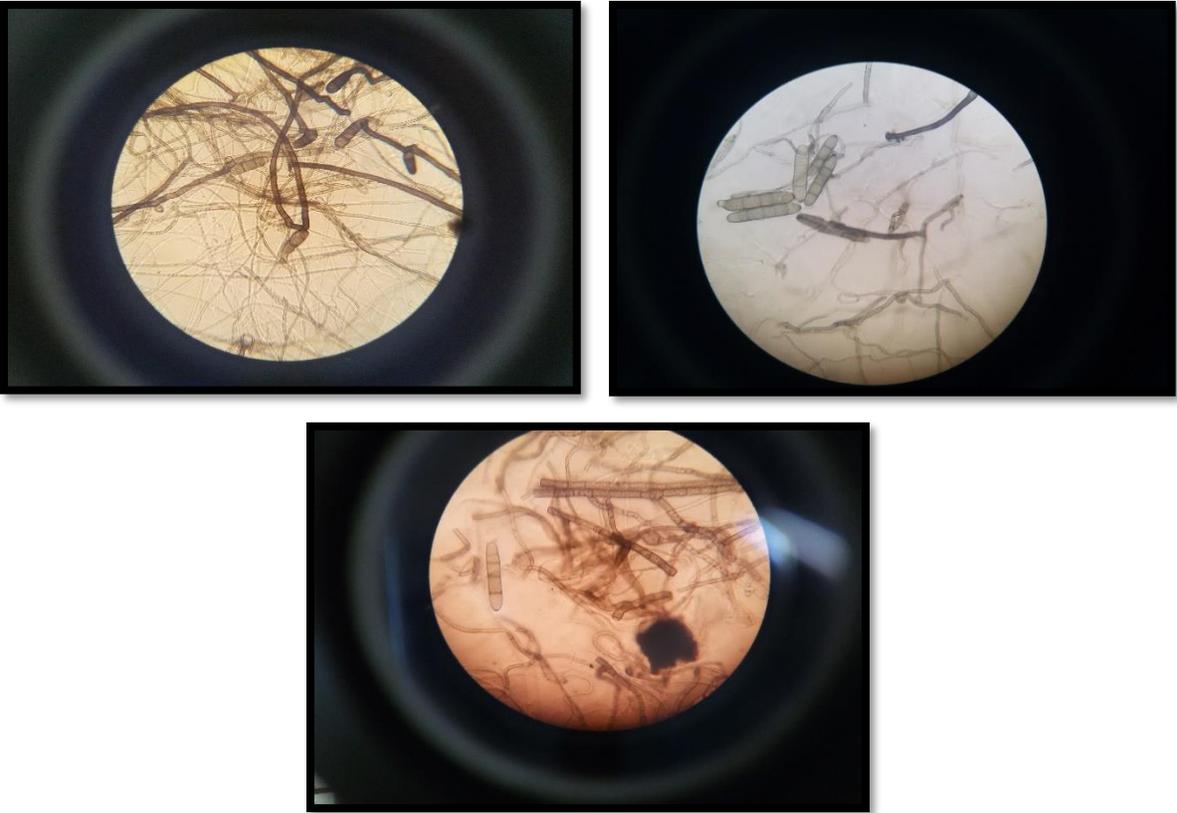


Fig.30 : Différents aspects de conidies de *P.teres*

Résultats et Discussion

Tableau 8 : Dimensions (μm) des conidies des isolats de *Pyrenophora teres*

Isolats	conidies		Isolats	Conidies	
	Longueur	Largeur		Longueur	Largeur
R1	79,8	19,95	R33	105,45	18,52
R3	88,35	19,95	R34	62,7	14,25
R4	68,4	15,67	R36	82,65	17,1
R8	76,95	19,95	R37	111,15	17,1
R11	99,75	17,1	R38	76,95	17,1
R12	71,25	19,95	R39	94,05	15,67
R13	65,55	19,95	R40	82,65	17,1
R14	102,6	11,4	R42	82,65	18,52
R16	74,1	18,52	R44	99,75	17,1
R17	65,55	15,67	R49	82,65	17,1
R18	57	14,25	R50	63,27	18,52
R19	85,5	19,95	R51	74,1	11,4
R21	71,25	17,1	R54	82,65	19,95
R23	74,1	14,25	R57	85,5	17,1
R24	71,25	17,1	R61	96,9	19,95
R27	94,05	17,1	R63	91,2	17,1
R30	88,35	17,1	R64	62,7	17,1
R31	71,25	18,52	R65	76,95	17,1
R32	79,8	17,1			

4. Evaluation de la croissance mycélienne

L'ensemble des isolats étudiés ont présenté une variabilité de la croissance mycélienne sur milieu de culture PDA. L'isolat R52 (*Ptt*) appartenant à la wilaya de Sidi Bel Abbas a enregistré la plus faible croissance mycélienne, avec un diamètre de 5,9 cm après 7 jours d'incubation ; tandis que R36 (*Ptm*) et R42 (*Ptt*) provenant de Constantine et de Bouira respectivement, ont enregistré la plus forte croissance avec un diamètre de 7,9 cm. Nous avons constaté que cette variabilité ne dépend en aucun cas

Résultats et Discussion

de l'origine géographique des isolats et de la forme du pathogène, comme c'est le cas pour R22, R34, R38, R40 appartenant à Sidi Bel Abbes, Mascara, Tlemcen et Constantine qui ont exhibé une même croissance qui est de 6,86 cm. Par ailleurs, des isolats appartenant aux deux formes du pathogène ont montré également une même vitesse de croissance, comme c'est le cas pour R65 (forme réticulée) et R44 (forme tache brune), enregistrant un diamètre de 7,85cm. L'analyse de la variance a montré une différence hautement significative de la croissance mycélienne des isolats étudiés ($P=0,00$) (**annexe 3**).

5. Variabilité du pouvoir pathogène chez *Pyrenophora teres*

L'agressivité des isolats était étudiée par l'évaluation de leur pouvoir pathogène vis-à-vis de la variété Saida 183. Elle a été établie sur 21 isolats choisis parmi notre collection (13 *Ptm* et 8 *Ptt*). Nous avons noté que tous les isolats ont provoqué des symptômes typiques de la rayure réticulée, avec un degré d'attaque variant d'un isolat à un autre (**fig.31**). Nous avons observé que les symptômes des deux formes de la maladie se sont manifestés au début, par des zones grises verdâtre imbibées d'eau (phénomène de water soaking); par la suite, ces lésions deviendront brunes sous forme des stries longitudinales et transversales formant un réseau caractérisant la forme *Ptt*, et sous divers formes (ponctiforme, linéaire et rectangulaire) caractérisant la forme *Ptm*, (**Fig.31**). Les symptômes des deux formes du pathogène peuvent être accompagnés ou non de chlorose foliaire. Dans le cas des isolats agressifs pour les deux formes du pathogène, les symptômes de nécroses et de chloroses peuvent s'étendre sur la totalité du limbe foliaire.

Nous avons mis en évidence une variabilité du pouvoir pathogène des isolats sur la variété Saida. Pour les isolats *Ptt*, nous avons enregistré que l'isolat (R49) originaire de Tlemcen était le plus agressif, tandis que pour les isolats *Ptm*, R43 a extériorisé une agressivité importante. L'isolat (R24) a révélé une faible agressivité parmi les isolats *Ptt*, pour les isolats *Ptm*, l'isolat (R1) qui s'est révélé le moins agressif. Les résultats obtenus ont indiqué qu'il n'existe aucune corrélation entre la variabilité du pouvoir pathogène des isolats et leurs origine géographique. Il existe une différence de variabilité des isolats appartenant à la même région et à différentes régions. Les isolats

Résultats et Discussion

agressifs sont repartis dans la majorité des wilayas échantillonnées à savoir Sidi Bel Abbas, Mascara, Tlemcen, Mostaganem et Bejaia. Cette variabilité existante entre les isolats était confirmée par une analyse de variance qui a révèlé une différence hautement significative (**annexe 3**).

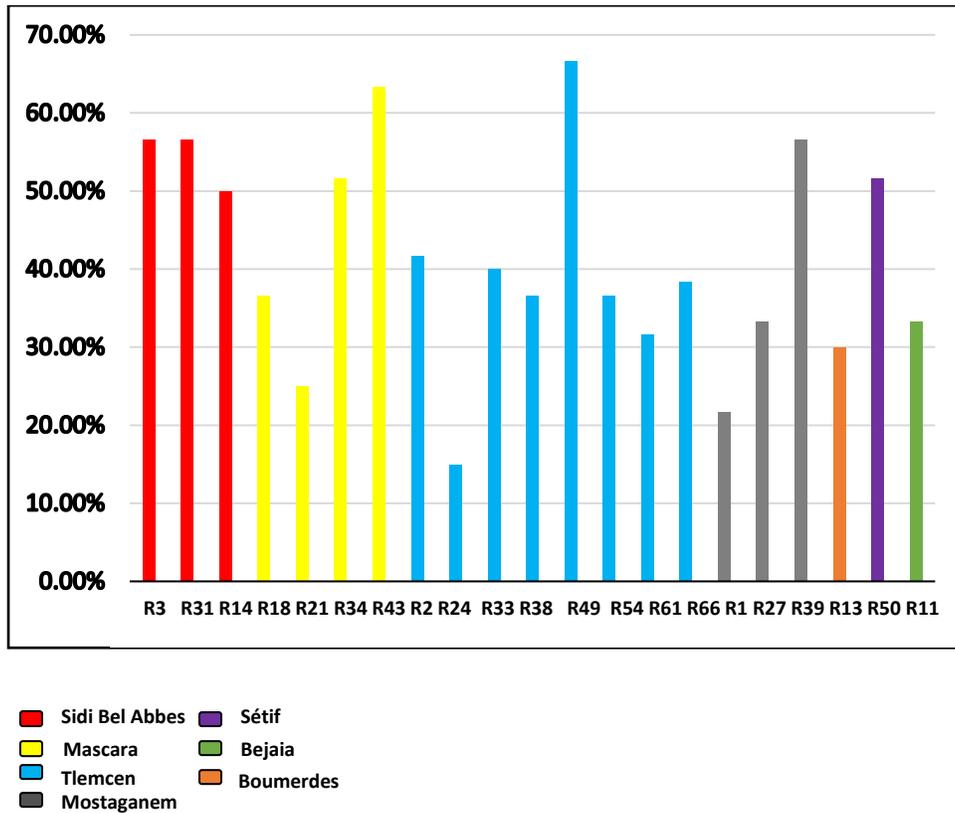


Fig. 31 : Agressivité des isolats de *P.teres*

Résultats et Discussion

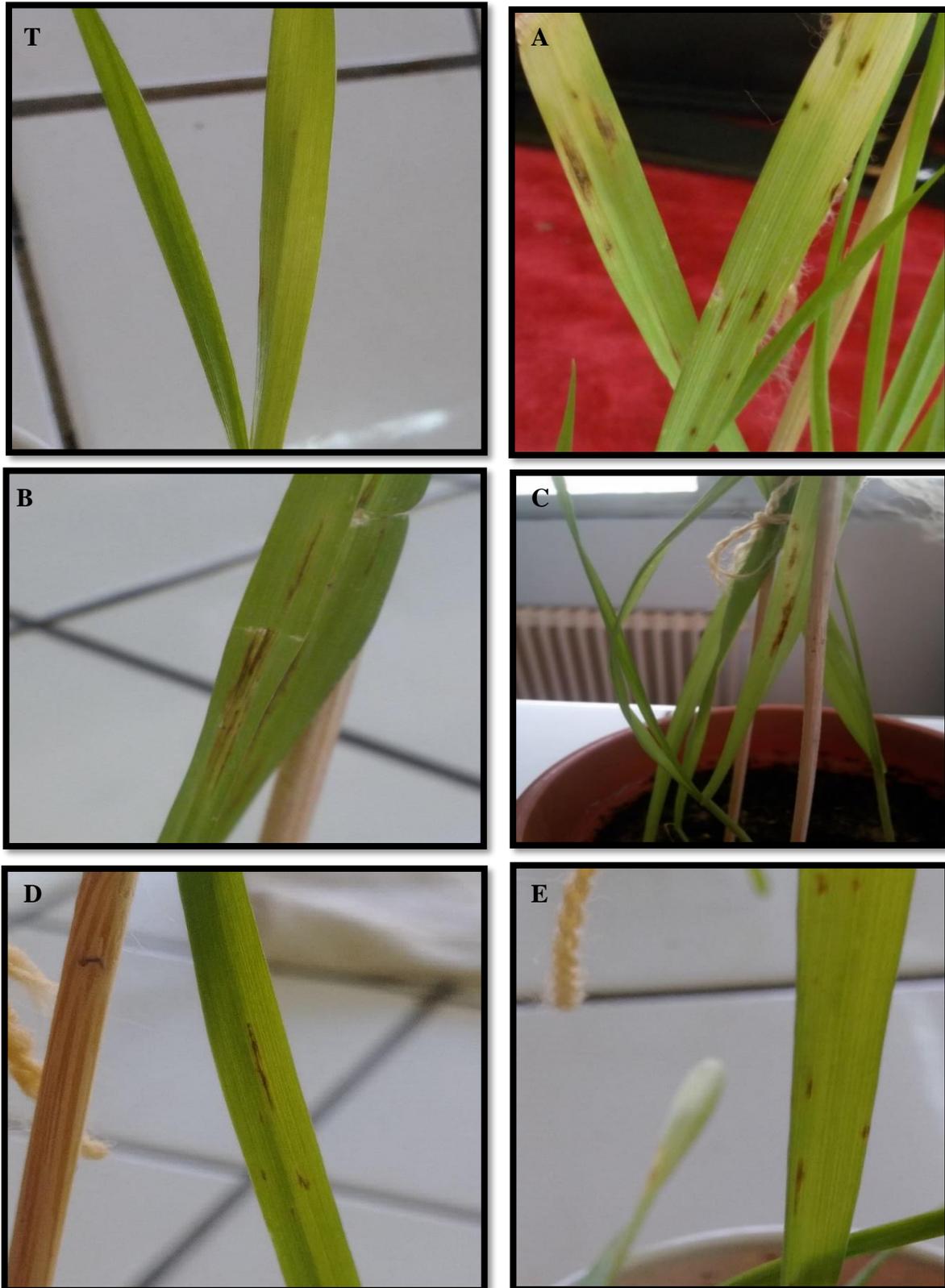


Fig. 32 : Symptômes illustrant le pouvoir pathogène des isolats de *P.teres*

T : Témoin ; A-B-C : Différents degrés d'agressivité de *Ptt* ; D-E : Symptômes induits par *Ptm*

Résultats et Discussion

L'analyse des résultats comparant la morphologie des thalles de *P.teres* et leurs degrés d'agressivité, a révélé que le morphotype cotonneux était le plus agressif. 33,3% des isolats exhibant ce morphotype se sont révélés agressifs, 44,44% moyennement agressifs et 22,22% faiblement agressifs. 25% des isolats caractérisés par un morphotype ras étaient agressifs, 62,5% moyennement agressifs et 12,5% faiblement agressifs ; tandis que les autres morphotypes ont enregistré un degré d'agressivité moins important. Nous avons noté également que 75% des isolats agressifs ont manifesté une couleur verte olive en milieu de culture, 12,5 % de ces isolats avaient une couleur verte foncée et 12,5 % une couleur grisâtre. 80% des isolats moyennement agressifs avaient une pigmentation verte olive et 66,66% des isolats faiblement agressifs possédaient également une couleur verte olive.

Il n'existe aucune corrélation entre la croissance des isolats fongiques et leur degré d'agressivité. Les isolats ayant enregistré une forte croissance mycélienne ont révélé des degrés d'agressivité variable fortement, moyennement et faiblement agressifs. Les isolats à croissance mycélienne faible étaient fortement et moyennement agressifs. Il n'existe aucune corrélation entre la taille des conidies des différents isolats et leurs degré d'agressivité puisque la majorité des isolats agressifs possédaient des conidies de petite taille.

6. Etude du stade sexuée de *P.teres*

L'essai mené dans le cadre de la tentative de l'obtention du stade sexué de *P.teres* (le stade téléomorphe), a abouti à la formation des pseudothèces sur les boîtes de Pétri contenant les pailles d'orge incubées pendant 9 semaines. Ils sont des structures noirâtres visibles à l'œil nue couvertes de soies. Néanmoins nous n'avons pas pu observer sous microscope les asques et les ascospores.

Résultats et Discussion

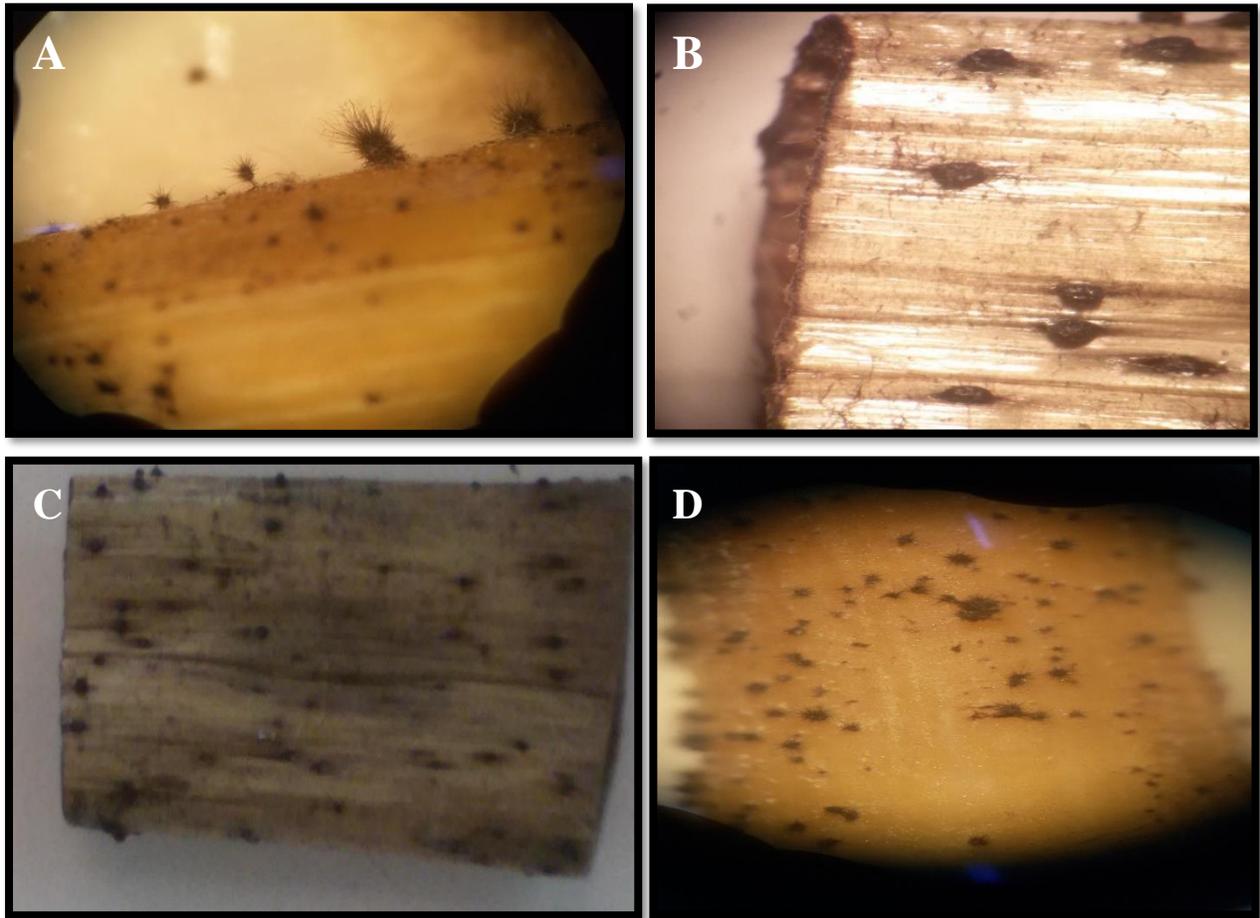


Fig.33 : Aspect des pseudothèques de *P.teres* sur paille d'orge in vitro

A : Pseudothèque couverts de soies foncé

B, D : Pseudothèque observé sous loupe binoculaire

C : Pseudothèque observé a l'œil nu

Résultats et Discussion

7. Discussion

L'utilisation d'amorces appropriées SNP spécifiques, a permis la distinction entre les deux formes du pathogène au sein de 61 isolats de *P.teres* issus de différentes régions céréalières du pays. Les amorces SNP précédemment utilisées par Lu et *al.* (2010) et Oğuz et *al.* (2018), ont été utilisées dans notre étude. Selon Lu et *al.* (2010), ces amorces distinguaient avec succès les deux formes et étaient plus utilisées que les SNPs liés à *Ptt* MAT- et *Ptm* MAT-.

L'analyse PCR a confirmé une légère prépondérance de *Ptm* par rapport à *Ptt* au sein de notre collection, incluant 35 isolats de *Pyrenophora teres f. maculata* obtenus à partir de 11 wilayas et 26 isolats de *Pyrenophora teres f.teres* obtenus à partir de 10 wilayas.

La forme réticulée était présente à une fréquence élevée dans la région est du pays, tandis que la forme tache brune était plus fréquente dans la région ouest. Ces résultats confirment une étude précédente dont laquelle, il a été rapporté que la forme réticulée de la rayure réticulée était la forme la plus courante dans le nord-est de l'Algérie (Lammari et *al.* 2019). D'autres part, contrairement à ce qui a déjà été signalé par Lammari et *al.* (2019), que la forme *Ptt* était la seule forme présente dans la région ouest du pays ; dans la présente étude, 64.86% des isolats analysés provenant des wilayas de l'ouest étaient identifiés comme *Ptm*. L'occurrence des deux formes de la rayure réticulée varie entre les régions géographiques, avec une forme qui domine généralement une région donnée (McLean et *al.*, 2009). La forme réticulée était reportée comme étant dominante en Italie, Maroc, Azerbaïdjan et Iran (Rau et *al.*, 2003 ; Jebboujet El Yousfi, 2010 ; Dokhanchi et *al.*,2021), alors que la forme tache brune était plus répandue en France, Hongrie (Arabi et *al.*,1992 ; Ficsor et *al.*, 2010).

Le changement de la distribution des deux formes du pathogène est possible au fil des années mais les causes ne sont pas encore claires (Dokhanchi et *al.*, 2021). La variété d'orge Saida 183 est la variété la plus cultivée dans le nord-ouest de Algérie ; dans la présente investigation, ce cultivar a montré une susceptibilité aux deux formes du pathogène. Boungab et *al.* (2011), ont souligné que ce cultivar était très susceptible à

Résultats et Discussion

la forme réticulée de la rayure réticulée (*Ptt*) ; tandis que Lammari et al. (2019), ont conclu que les deux cultivars Saida 183 et Tichedrett montraient une sensibilité à la forme réticulée et ils ont suggéré leur tolérance à la forme tache brune.

Les analyses moléculaires ont confirmé l'occurrence des deux formes de la maladie dans le même champ dans certaines wilayas (**Tableau7**). Des résultats similaires obtenus par Rau et al. (2003) ; Akhavan et al. (2015) et Lammari et al. (2019), ont souligné que le même champ, la même plante, et la même feuille à très grande proximité peuvent héberger les deux formes du champignon *P. teres*.

La caractérisation morphologique de notre collection a révélé une variabilité macroscopique entre les isolats, pour l'ensemble des caractères étudiés (type et couleur du morphotype rencontré, formation de corémies et sclérotés, croissance mycélienne) et microscopique (taille des conidies). Nous avons noté que cette variabilité était observée chez les isolats appartenant à la même région et à différentes régions. L'existence de différences morphologiques au sein des colonies des isolats de *P.teres* d'une même zone géographique a également été reportée par Owino et al (2013). Ils l'ont attribué au fait qu'ils peuvent exister de différentes souches du pathogène dans chaque zone d'étude.

L'ensemble des isolats étudiés a révélé 5 types de morphotype : cotonneux, pelucheux, ras, rayonnant et zonant. La majorité de nos isolats ont exhibé le type cotonneux. La variation des caractères morphologiques dans les milieux de culture, tels que la couleur, la formation et la structure du mycélium aérien, la sporulation, etc., a été observée par de nombreux chercheurs (McDonald, 1967 ; Smedegard-Petersen, 1971 ; Asnakechtekalign, 2002 ; Frazzon et al., 2002 ; Owino et al., 2013 ; Boungab, 2013 ; Mougou-Hamdane et al., 2018 ; Lammari, 2021). Boungab (2013), a noté la présence de 4 morphotype (cotonneux, ras, rayonnant et zonant) au sein de 60 thalles fongiques obtenus du nord-ouest du pays, elle a également reporté la prédominance du type cotonneux. Lammari (2021), a révélé la présence de 3 morphotype parmi les 50 isolats appartenant à différentes localités du pays (aérien pelucheux, aérien cotonneux et ras) ; tout en soulignant la prédominance du morphotype aérien pelucheux.

Résultats et Discussion

Mougou-Hamdane et *al.* (2018), ont reporté la présence des deux types de morphotypes cotonneux et ras au sein des isolats tunisiens avec une prédominance du type cotonneux.

La formation de coremies chez certains isolats de notre collection était également signalée par (Frazzon et *al.*, 2002 ; Boungab, 2013 ; Mougou-Hamdane et *al.*, 2018 ; Lammari, 2021). Lors de nos observations, nous avons également enregistré une formation de sclérotas, qui était aussi signalée par plusieurs auteurs (Chamekh, 2006 ; Boungab, 2013 ; Lammari, 2021).

Quatre différentes couleurs ont caractérisé notre population d'isolat (verte olive, vert foncé, grisâtre et blanchâtre), avec une présence marquée de la couleur verte olive chez 55,73% des isolats. Nos résultats rejoignent ceux de Boungab (2013), qui a souligné la présence des 4 couleurs avec une prépondérance de la couleur verte olive qui s'est manifesté chez 56,66% des isolats. Lammari (2021), a observé la présence de 4 couleurs à savoir : vert très foncé, vert foncé (olive), vert clair et blanc, elle a noté que 44% des isolats ont révélé une couleur verte très foncée. Chamekh (2006), a également mis en évidence la prédominance de la couleur verte sur milieu PDA.

Plusieurs autres recherches ont été réalisées à l'échelle mondiale, parmi lesquels ceux de Frazzon et *al.* (2002), qui ont noté la présence de trois couleurs au sein des isolats brésiliens (cendré foncé, cendré, blanchâtre) ; Asnakechtekalign (2002), qui a mis en évidence que la couleur des colonies des isolats éthiopiens des deux formes du pathogène cultivées sur PDA variait du gris au gris verdâtre foncé, le gris verdâtre foncé étant le plus courant ; Mougou-Hamdane et *al.* (2018), ont obtenu 6 couleurs des colonies de *P.terres* sur milieu PDA à savoir blanchâtre, verte, verte foncé, gris verdâtre et gris blanchâtre. Owino et *al.* (2013), ont également noté la présence de 3 couleurs distinctes sur milieu PDA à savoir gris foncé, gris clair et noir.

Nous avons également noté, l'apparition d'une pigmentation orange chez quelques isolats, La culture de *P. terres* sur milieu PDA entraîne la sécrétion de pigments orange (appelés anthroquinones) par le champignon dans le milieu (Kenneth, 1962). (In : O' Brien, 2005). Lammari (2021), a également observé la présence de pigmentation orange chez quelques isolats de *P.terres* , qui était accompagnée d'une

Résultats et Discussion

perte du pouvoir de sporulation. Nous avons constaté que la morphologie des colonies et le pouvoir de sporulation des isolats de *Pyrenophora teres*, peuvent varier après des repiquages successifs sur milieu PDA.

La caractérisation morphologique des deux formes du pathogène ne permet pas leurs différenciations. *Ptt* et *Ptm* sont morphologiquement identiques et ne peuvent être séparées que sur la base des symptômes et par une caractérisation moléculaire (Williams et al. 2001). Les isolats étudiés ont révélé une variabilité hautement significative, qui ne dépend pas de leurs origines géographiques, ni de leurs formes pathogéniques.

Au cours de cette étude, la croissance mycélienne de 61 isolats cultivés sur milieu PDA pendant 7 jours à 22°C a varié de 5,9cm à 7,9cm. Boungab (2013), a rapporté une variation de croissance située entre 4,83cm à 8,5cm, au sein de 60 isolats de *P.teres* cultivés sur milieu PDA pendant 7 jours à 22°C. Lammari (2021), a signalé que les colonies de 50 isolats de *P. teres* cultivés sur PDA à 25°C , ont varié de 6,43 cm à 8,6 cm au bout de 6 jours. Des différences significatives dans le taux de croissance mycélienne parmi 41 isolats polonais de *D. teres* étaient signalées par Baturo-Ciesniewska (2012). Mougou-Hamdane et al. (2018), ont souligné une moyenne de croissance de l'ordre de 5.46 cm au sein de 8 isolats tunisiens de *P.teres* cultivés sur PDA pendant 11 jours à 23°C.

L'ensemble des isolats étudiés ont été reparti en deux groupes sporulant et non sporulant. 37 isolats étaient sporulant et 24 non sporulant. Nous avons observé que les mensurations de la taille des conidies de l'ensemble des isolats sporulant ne permettent pas la séparation entre les deux formes. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Williams et al. (2001), qui ont remarqué que Les deux agents pathogènes produisent des conidies très similaires en forme et en morphologie.

L'évaluation du pouvoir pathogène de 21 isolats de *P.teres* sur la variété Saida 183, a permis de mettre en évidence une variabilité intra et inter régional entre les isolats. Nous avons enregistré la présence d'isolats agressifs au niveau de 5 wilayas. L'analyse de la variance a révélé une différence hautement significative au sein de ces

Résultats et Discussion

derniers. Concordément à nos résultats, Boungab (2013), a souligné une variabilité significative au sein de 60 isolats de *P.teres* de l'ouest du pays, avec la présence de 8 isolats très agressifs. Lammari (2021), a également rapporté une différence hautement significative de l'agressivité de 45 isolats de *P.teres* par inoculation sur des feuilles détachées de la variété Saïda, parmi lesquels 40 isolats se sont révélés très agressifs, 3 moyennement agressifs et 2 faiblement agressifs. L'analyse des données obtenues ont indiqué qu'il n'existe aucune relation entre la morphologie des isolats étudiés et leur pouvoir pathogène. Des résultats similaires étaient obtenus par Lammari (2021), qui a mis en évidence par le biais d'une analyse statistique l'inexistence d'un lien entre le degré d'attaque provoqué par le pathogène, sa croissance mycélienne et son pouvoir de sporulation *in vitro*. Contrairement à nos résultats, Boungab (2013), a reporté une corrélation positive entre le degré d'agressivité des isolats et leurs croissances mycéliennes ainsi que la taille de leurs conidies. Selon Jalli (2010), les traits morphologiques de *P.teres*, la production de spores et le taux de croissance n'ont pas affecté l'expression de la virulence. D'après Douiyssi (1998), une connaissance de la réaction des cultivars locaux et de la variabilité de l'agent pathogène de la rayure réticulée est nécessaire pour développer un programme de sélection de résistance réussi. Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence la susceptibilité de la variété saïda vis-à-vis de *P.teres*, sachant que c'est la variété la plus cultivée sur le territoire national ; ce qui constitue un risque par rapport à l'émergence de cette maladie et aux difficultés qui seront rencontrées pour la gestion de ce pathogène, qui se caractérise par un polymorphisme symptomatologique et un cycle biologique complexe.

Résultats et Discussion

CHAPITRE 3 : Diversité génétique de *Pyrenophora teres*

1. Détermination et répartition des types sexuels au sein des isolats de *P. teres*

La PCR multiplex utilisée a différencié les deux mating types des deux formes du pathogène par la présence d'amplicons de taille, 1143 bp et 1421 bp pour MAT1-1 et MAT1-2 des isolats *Ptt* ; 194 bp et 939bp pour MAT1-1 et MAT1-2 des isolats *Ptm* respectivement (Lu et *al.*, 2010).

Au total la population étudiée comporte 7 MAT1-1 et 19 MAT1-2 parmi les isolats *Ptt* ; 27 MAT1-1 et 8 MAT1-2 parmi les isolats *Ptm* (**Tableau9, Tableau10**).

Par conséquent, les deux idiomorphes étaient identifiés parmi les isolats *Ptt* et *Ptm*; parmi lesquels MAT1-2 était identifié plus que MAT1-1 pour les isolats *Ptt* ; d'autre part, MAT1-1 était plus commun pour les isolats *Ptm*.

Tableau 9 : Distribution et fréquence des Mating type au sein des isolats *Ptt*

Région	Localité	MAT1	MAT2
Ouest	Mostaganem	0	1
	Tlemcen	3	4
	Sidi Bel Abbas	0	3
	Mascara	0	2
Est	Sétif	1	3
	Bouira	1	2
	Bejaia	2	0
	Guelma	0	2
	Bordj-BouArreridj	0	1
Centre	Boumerdes	0	1
Total		7	19

Résultats et Discussion

Tableau 10 : Distribution et fréquence des Mating type au sein des isolats de *Ptm*

Région	Localité	MAT1	MAT2
Ouest	Sidi Bel Abbas	6	5
	Mascara	5	1
	Mostaganem	1	1
	Tlemcen	5	0
Est	Sétif	2	1
	Constantine	2	0
	Souk Ahras	2	0
	Bourdj Bou Arreridj	1	0
	Bouira	1	0
	Bejaia	1	0
	Biskra	1	0
Total		27	8

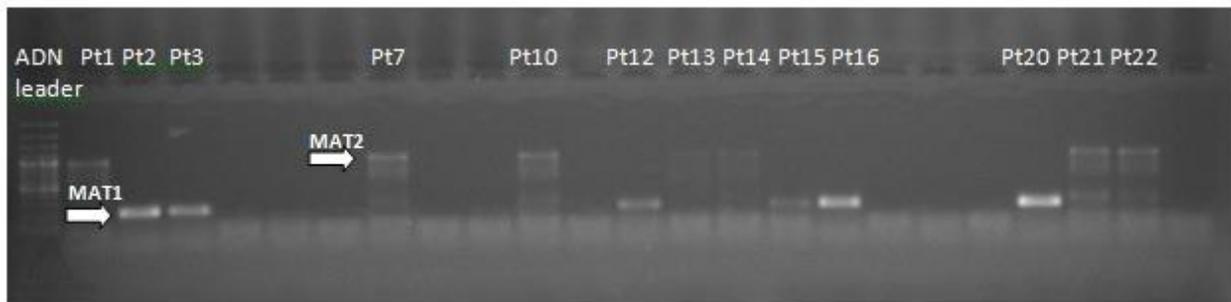


Fig.34 : Identification des Mating types des isolats *Ptm* par l'utilisation des amorces (SNP)

Résultats et Discussion

2. Diversité génétique au sein de la population de *P. teres*

La diversité et le niveau de différenciation génétique parmi les isolats de *P. teres* provenant de différentes zones agro-écologiques du pays, ont été étudiés par l'utilisation des différents marqueurs ISSR. Parmi lesquels onze utilisés pour 26 isolats de *Ptt* et sept utilisés pour 35 isolats de *Ptm*, ont révélé des bandes de bonnes intensités.

Les isolats *Ptt* ont amplifié 47 bandes à partir de 11 amorces, variant entre 200 bp et 1200 bp. Le nombre de fragments ISSR produit par amorce a varié entre 2 et 5. Les amorces UBC807 et UBC825 ont amplifié le plus grand nombre de bandes.

Les isolats *Ptm* ont amplifié 28 bandes à partir de 7 amorces, variant entre 200 bp et 1000 bp. Le nombre de fragments ISSR produits par amorce a varié de 3 à 6. Les amorces UBC825 et UBC827 ont amplifié le plus grand nombre de bandes.

Le coefficient de similarité Dice est utilisé pour évaluer le degré de similitude entre chaque paire d'isolats. L'analyse basée sur la méthode UPGMA a révélé que les isolats *P. teres f. teres* étaient divisés en 2 groupes principaux avec une similarité de 0,60 (**Figure 37**). Le premier groupe contenait 23 isolats. Ce groupe était séparé en 2 groupes principaux et contenait de nombreux sous-groupes avec des similitudes élevées. Ce dernier était constitué de 11 isolats de l'ouest (Sidi Bel Abbes, Mascara et Tlemcen), 11 de l'est (Bejaia, Guelma, Bouira, Sétif et Bordj Bou Arreridj), et 1 isolat du centre du pays (Boumerdes). Les isolats appartenant à ce groupe étaient obtenus à partir de différents cultivars.

Dans toutes les wilayas de l'ouest, on trouve spécifiquement la variété Saida 183. Dans les wilayas de l'est, les variétés Saida 183, Rayhane et Tichedrett étaient cultivés. Dans le centre du pays (Boumerdes), la variété Rayhane était cultivé.

Le deuxième groupe était composé de 3 isolats. Parmi lesquels deux provenaient de l'ouest du pays (Tlemcen et Mostaganem) et un de l'est (Bouira). Les isolats de Tlemcen et Mostaganem étaient obtenus à partir du cv Saida 183. L'isolat de Bouira était obtenu à partir du cv Rayhane.

Résultats et Discussion

Les isolats de *P. teres f. maculata* étaient divisés en deux groupes principaux avec une similarité de 0.63 (**figure 38**). Le premier groupe était divisé en 2 sous-groupes ayant des similitudes élevées. Le premier groupe comportait 24 isolats de l'ouest du pays (Tlemcen, Mascara, Sidi Bel Abbas et Mostaganem), et 10 de l'est du pays (Sétif, Biskra, Souk Ahras, Bouira, Constantine et Bejaia). Tous les isolats de la région ouest étaient obtenus à partir de la variété Saida 183, tandis que les isolats de l'est provenaient des variétés Fouara, Rayhane et Saida183.

Le deuxième groupe était constitué d'un seul isolat de l'est (Bordj Bou Arreridj) isolé à partir de la variété Fouara.

Les isolats R3 et R12, R30 et R38, R32 et R53 ont montré une similitude de 100%. Ils étaient isolés à partir de wilayas voisines. D'autre part, les isolats R31, R33 (isolés de l'ouest du pays) et l'isolat R36 (appartenait à la wilaya de Constantine située dans l'est du pays) avaient également montré une similitude de 100%. La variété Saida 183 était plantée au deux Wilayas de Sidi Bel Abbas et Tlemcen (R31, R33), tandis que la variété Rayhane était plantée à la Wilaya de Constantine (R36).

En général, les isolats provenant de différentes wilayas étaient observés dans le même groupe. On a également observé que les isolats du même hôte, du même mating type et de la même année d'échantillonnage étaient classés en différents groupes.

En traçant la fréquence du coefficient de similarité Jaccard par paire (S_j), avec le nombre d'occurrences indiqué sur l'axe Y et les valeurs S_j par paires indiquées sur l'axe X (avec 1 identifiant des génotypes identiques). Les résultats obtenus pour les deux populations de *Pyrenophora teres* étaient évidemment différents. La distribution des valeurs S_j par paire pour *P. teres f. teres* était unimodale, avec un pic majeur se produisant à $S_j = 0,5$ et aucun pic à $S_j = 1$. Cela indique que la reproduction de la population *P. teres f. teres* est exclusivement sexuée (**Figure 39**).

La distribution des valeurs S_j par paire pour *P. teres f. maculata* a montré un pic majeur se produisant à $S_j=0,5$ et un pic secondaire à $S_j=1$. Cela suggère que cette population se

Résultats et Discussion

reproduit principalement par voie sexuée, mais une reproduction asexuée se produit également (**Figure 40**).

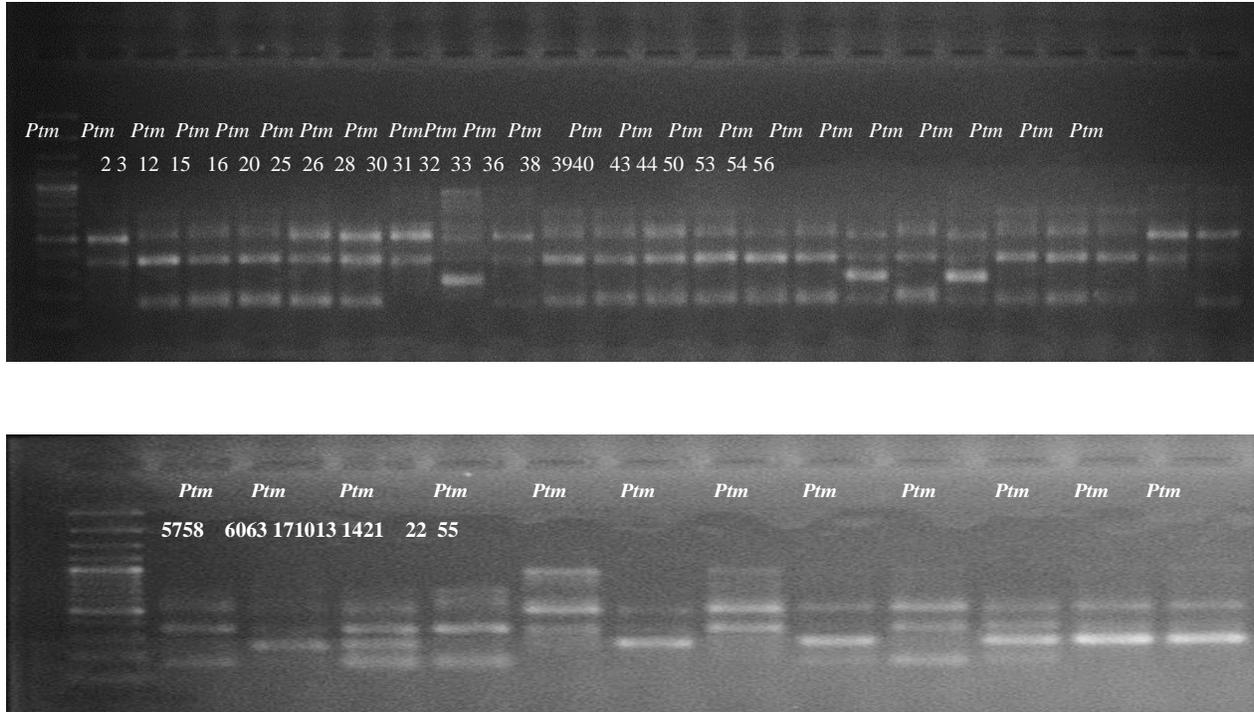


Fig. 35 : Diversité génétique des isolats *Ptm* révélé par le marqueur moléculaire *UBC 827*

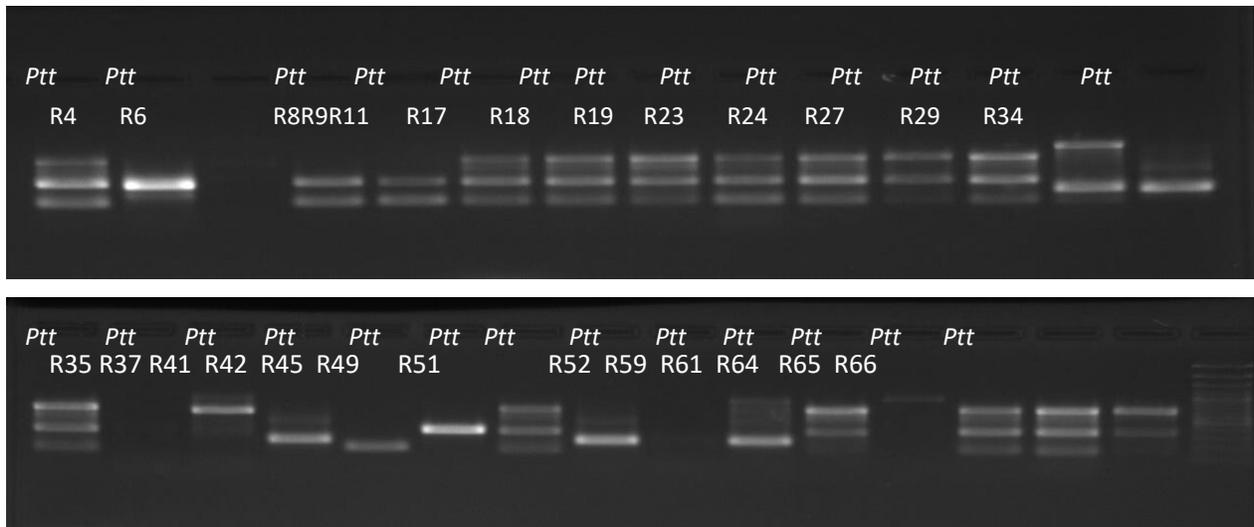


Fig.36 : Diversité génétique des isolats *Ptt* révélé par le marqueur moléculaire *UBC 827*

Résultats et Discussion

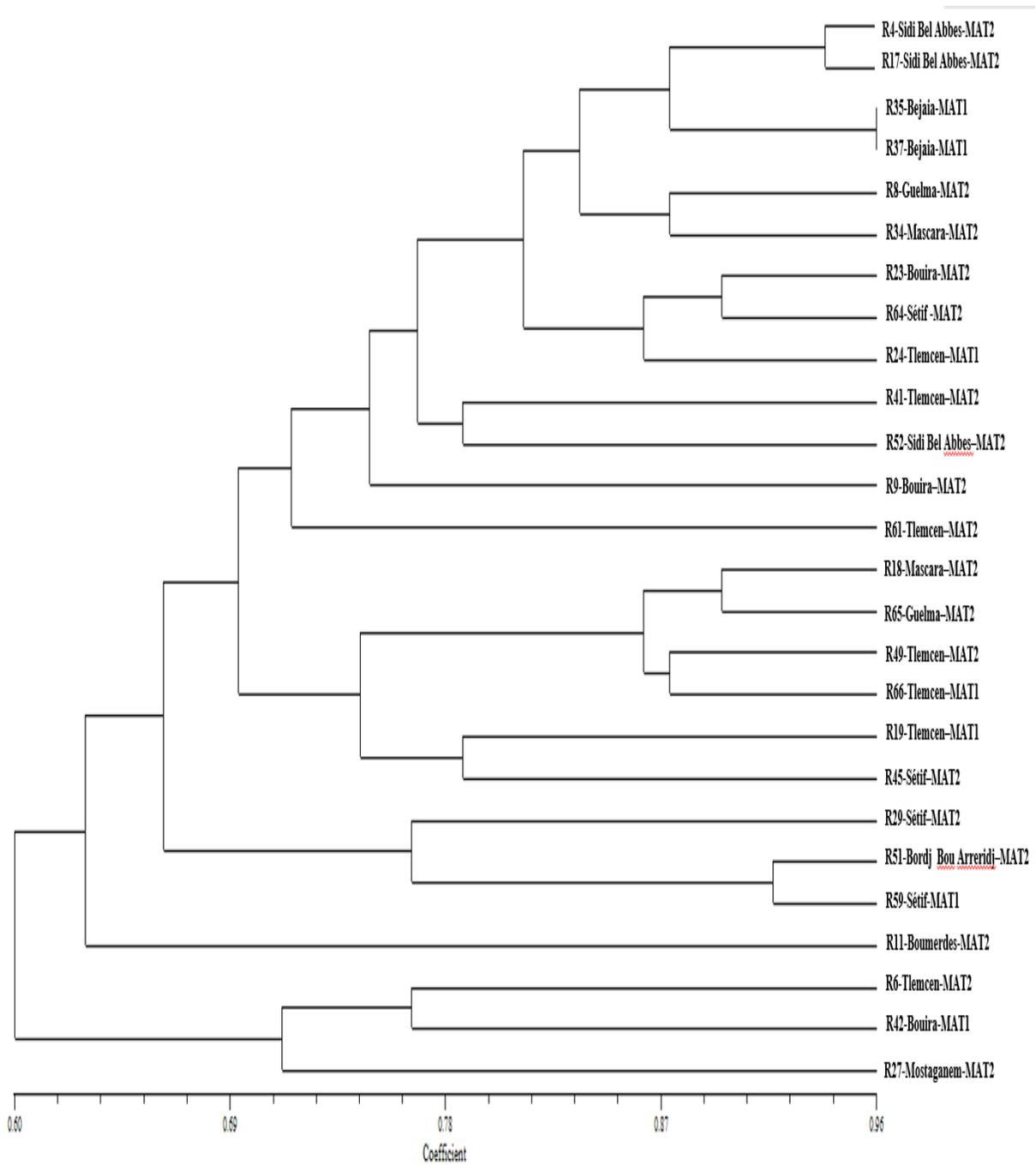


Fig.37 : Diversité génétique des isolats *Pyrenophora teres f. teres*

Résultats et Discussion

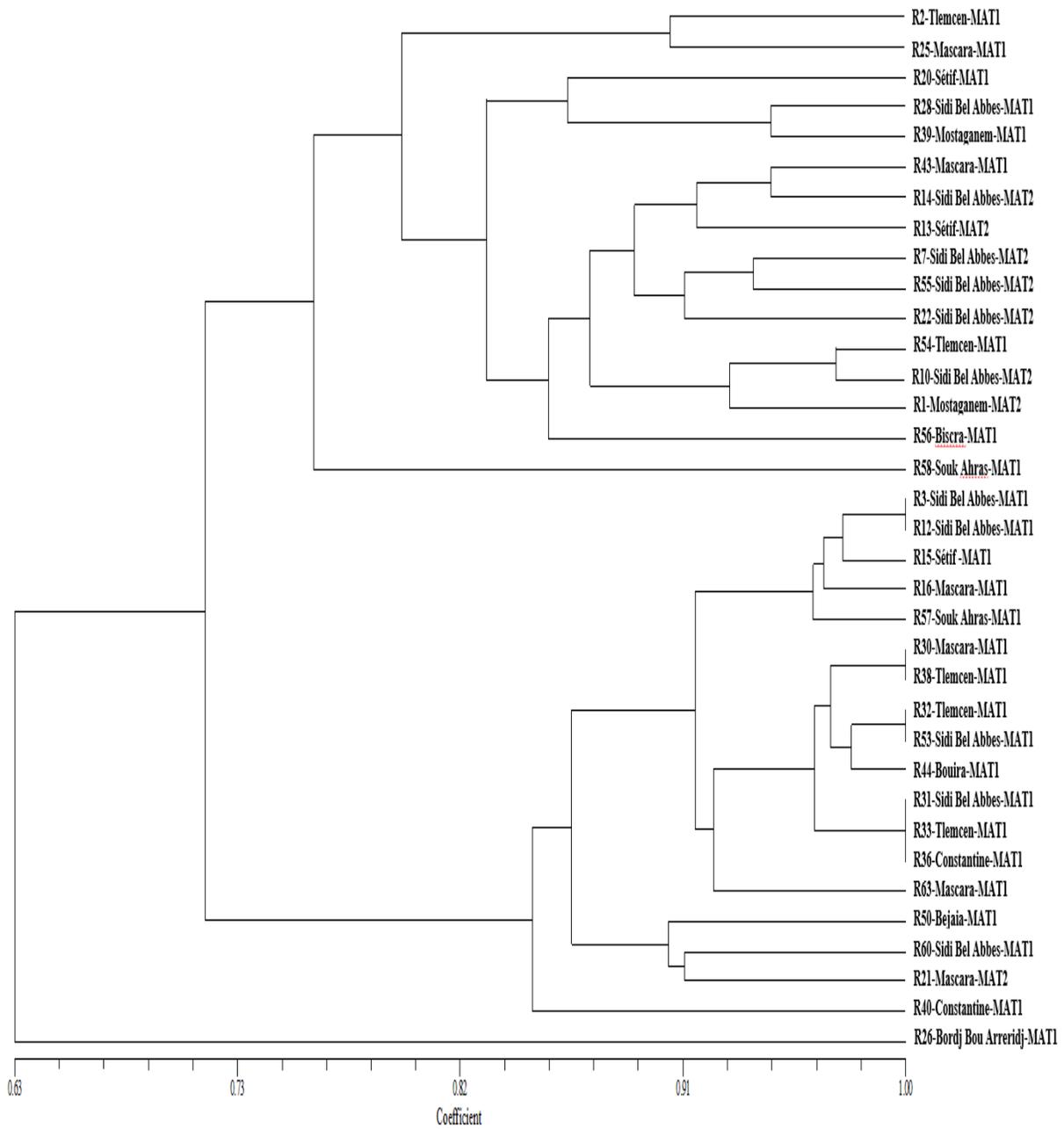


Fig.38 : Diversité génétique des isolats de *Pyrenophora teres* f. *maculata*

Résultats et Discussion

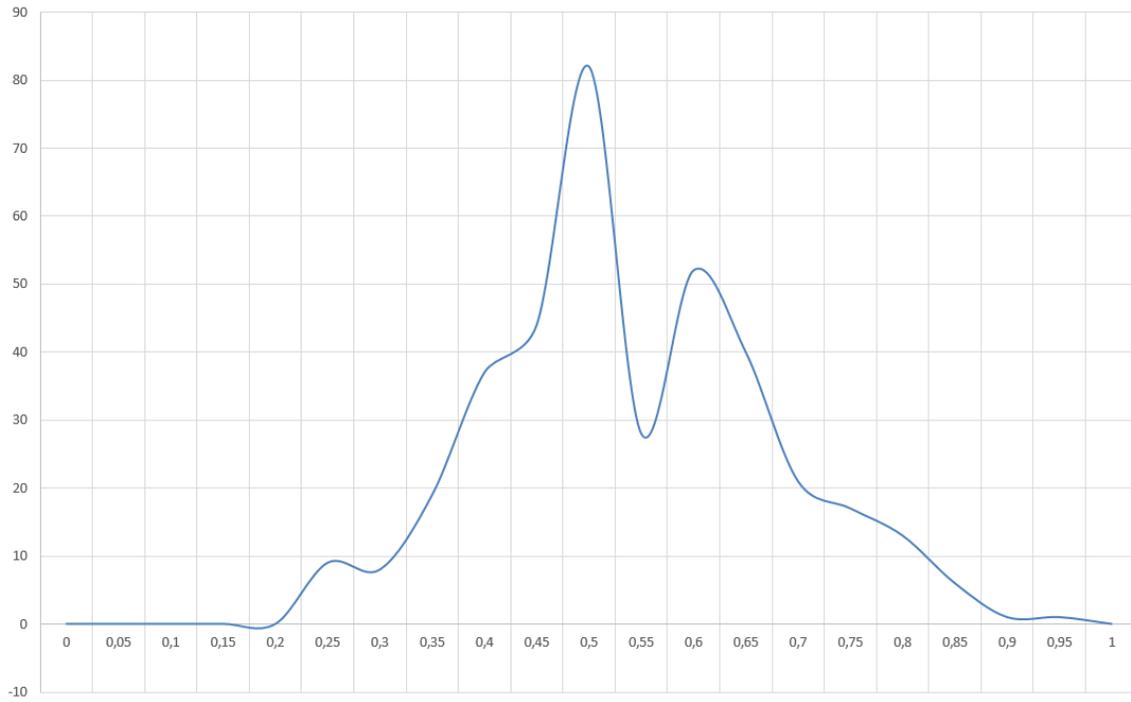


Fig.39 : Représentation graphique des distances par paires des isolats *Ptt*

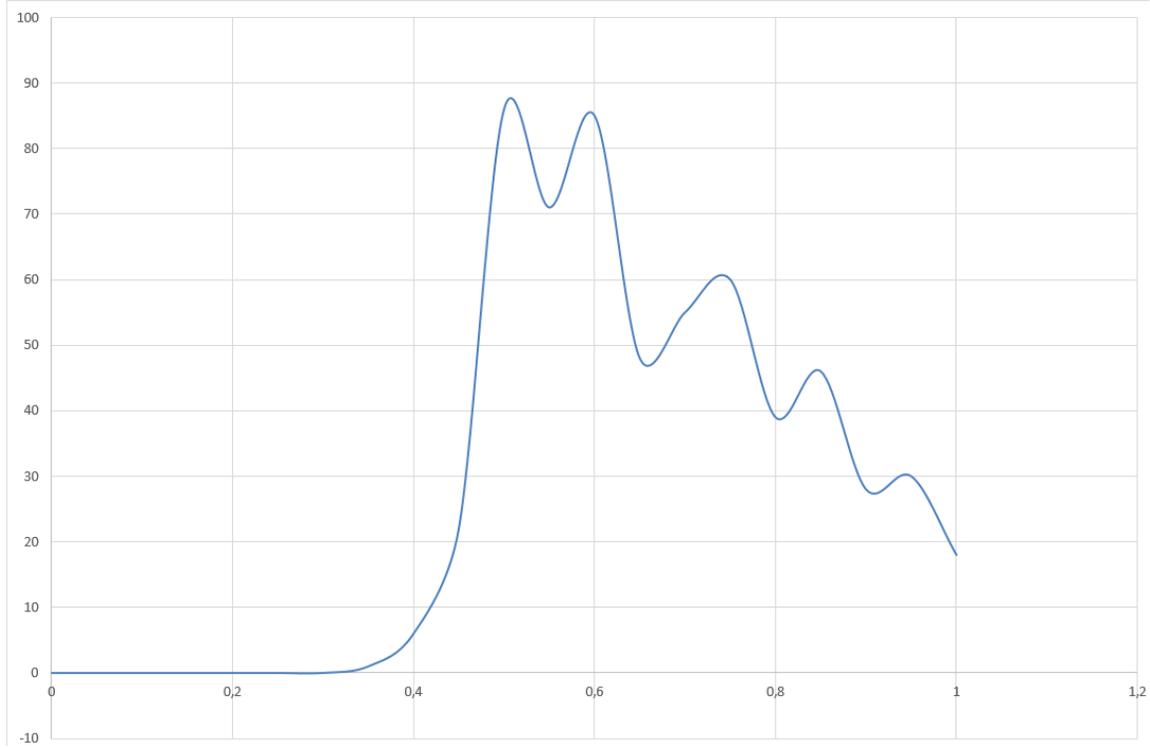


Fig. 40 : Représentation graphique des distances par paires des isolats *Ptm*

Résultats et Discussion

3. Discussion

Cette présente étude est la première entreprise dans notre pays, elle vise à identifier l'occurrence et la fréquence des mating types et à évaluer la diversité génétique des isolats *P. teres f. teres* et *P. teres f. maculata*.

Pyrenophora teres est une espèce hétérothallique. Pour qu'une reproduction sexuée se produise, la présence d'isolats portant les gènes de type sexuels MAT1-1 ou MAT1-2 est nécessaire.

L'occurrence et la fréquence des types sexuels ont été déterminées dans une collection de 61 isolats de *P. teres* ; parmi lesquels, 26,92 % représentaient MAT1-1 et 73,07 % MAT1-2 pour les isolats *Ptt* ; tandis que, 77,14 % appartenaient au MAT1-1 et 22,86 % au MAT1-2 pour les isolats *Ptm*. Nous avons noté la présence des deux idiomorphes des deux formes du pathogène.

Au sein des isolats *Ptt*, MAT1-2 était présent plus que MAT1-1, alors que pour les isolats *Ptm*, MAT1-1 était plus fréquent. Nos résultats ont suggéré que les deux populations se reproduisent sexuellement. Il paraît que la population *Ptt* se reproduit exclusivement par voie sexuée, et la population *Ptm* se reproduit principalement par voie sexuée, mais une reproduction asexuée se produit également.

L'infection primaire est probablement causée par des ascospores issues des pseudothèces sur les chaumes qui peuvent avoir un aspect épidémiologique clé pour les deux formes du pathogène, néanmoins dans le cas de *P. teres f. maculata*, les conidies peuvent également jouer un rôle.

Des études précédentes ont révélé que la distribution des mating type de *P. teres* était assez variable dans le monde entier. Peever et Milgroom (1994), ont présumé que le chaume resté dans le champ après une culture régulière d'orge sans rotation pouvait favoriser la reproduction sexuée de *Pyrenophora teres*. Ils ont analysé la structure génétique des populations de *P. teres* d'Alberta, du nord de Dakota, de l'Allemagne et de New York, et ont suggéré que la reproduction était principalement sexuée dans ces populations, à l'exception de la population de New York qui était asexuée.

Résultats et Discussion

Baturo-Ciesniewska et al. (2012), ont révélé que le rapport des deux mating type des isolats polonais de *Ptt* était de 1:1 avec une certaine prévalence de MAT1-1. Ficsor et al. (2014), ont identifié une répartition égale des deux idiomorphes dans la population hongroise de *Ptt*, concluant l'existence d'un potentiel élevé de reproduction sexuée. Çelik Oğuz et al. (2018), ont reporté la possibilité de reproduction sexuée parmi les isolats *Ptm* et non pas parmi les isolats *Ptt* en Turquie. D'autres parts, Robinson et Mattila (2000); Jalli et Robinson (2000), ont signalé que l'agent pathogène se reproduisait principalement de manière asexuée en Finlande. De plus, Lehmsiek et al. (2010), ont analysé la structure de la population australienne et sud-africaine de *P. teres*, et ont signalé que la reproduction asexuée était le moyen de reproduction dominant pour les deux formes du champignon.

Au niveau de la population *P. teres f. teres*, les valeurs S_j par paires indiquaient que seuls les isolats R11 et R19 présentaient une valeur S_j élevée par paires (0,92). Ces isolats ont été obtenus de Boumerdes et Tlemcen respectivement.

Parmi les isolats *P. teres f. maculata*, les valeurs S_j par paire de 24 isolats se situaient entre 0,9 et 0,949. Les isolats *P. teres f. maculata* (R3 et R31) étaient obtenus du même champ. La propagation des conidies peut être possible dans ces conditions. Les valeurs S_j de 18 isolats de *Ptm* se situaient entre 0,95-1. Ces isolats *Ptm* étaient obtenus à partir des wilayas proches, ainsi qu'à partir de wilayas éloignées.

Les deux populations se reproduisent sexuellement, mais les conidies peuvent également jouer un rôle dans la dissémination de *Ptm*. Dans notre étude, la dissémination des conidies peut se faire à partir des plantes voisines, néanmoins qu'elle sera limitée en aire de répartition et à partir de plantes éloignées, bien qu'elles ne sont probablement pas aussi répandues que les ascospores.

Dans notre pays, il y a une distribution anarchique des semences au profils des agriculteurs sans le recours à une certification phytosanitaire ainsi que des transferts non contrôlés de semences entre wilayas ; l'inoculum transmis par les semences peut également jouer un rôle dans l'épidémiologie des deux formes.

Résultats et Discussion

L'analyse (ISSR) était utilisée pour étudier la variation génétique aux seins de notre collection d'isolats *Ptt* et *Ptm* provoquant la forme réticulée et tache brune de la rayure réticulée de l'orge. La similarité moyenne était de 60 % et 63 % respectivement. Nous avons obtenu plus de bandes amplifiées par UBC807 et UBC825 pour *Ptt* ; et par UBC825 et UBC827 pour *Ptm*. Des résultats similaires étaient obtenus par Çelik Oğuz et al. (2019), qui ont mis en œuvre que UBC825, UBC807 et UBC825, UBC807, UBC827 représentaient les marqueurs ISSR les plus productifs pour les populations *Ptt* et *Ptm*, respectivement.

Les résultats des analyses ISSR ont indiqué que les 61 isolats de *P. teres* utilisés au cours de cette étude avaient une diversité relativement faible sans aucune corrélation avec leurs origines géographiques, cela peut s'expliquer par le flux de gènes qui s'est probablement produit entre les populations de *P. teres* (Rau et al., 2003). Il pourrait être dû aux transferts anarchiques de semences entre les régions du pays.

Le regroupement basé sur l'analyse ISSR n'était pas corrélé avec les résultats de la distribution des mating type, ainsi que la plante hôte (variété) et l'année d'échantillonnage. Des résultats similaires étaient obtenus par Rau et al. (2003), qui ont révélé que la différenciation génétique de la population sarde de *Ptm* n'était pas associée à l'origine géographique. En outre, Statkevičiūtė et al. (2010) et Çelik Oğuz et al. (2019), ont également indiqué que les populations lituaniennes de *Ptt* et turque de *P. teres* ne présentaient aucune corrélation avec l'origine géographique, l'année d'échantillonnage et le type d'idiomorphe.

Les amorces utilisées dans cette étude pour la population *Ptm* ont également été utilisées par Statkevičiūtė et al. (2010), qui ont révélé un taux de similarité de 0,63 dans la population lituanienne de *Ptt*, et par Çelik Oğuz et al. (2019), qui ont souligné un taux de similarité de 0,38 et 0,51 pour les deux formes *Ptm* et *Ptt* en Turquie, respectivement.

Plusieurs chercheurs ont mené des études sur la diversité génétique de *P. teres* à travers le monde. Ficsor et al. (2014), ont révélé une faible diversité génétique au sein des

Résultats et Discussion

isolats hongrois de *Ptt* de différentes zones géographiques ayant une répartition égale des mating types, et ils ont suggéré que cela pourrait être dû à des changements saisonniers qui peuvent avoir affecté la divergence génétique des isolats.

Serenius *et al.* (2005), ont souligné la présence des deux mating types dans un rapport de 1:1 associé à un niveau élevé de diversité génétique dans la population finlandaise de *Ptt*. McDonald et Linde (2002), ont souligné que les agents pathogènes possédant une reproduction mixte avec une occurrence régulière de reproduction sexuée présentaient une grande diversité génotypique.

La connaissance des mating types et de la variation génétique au sein de la population de *P. teres* est utile pour comprendre le risque d'évolution de l'agent pathogène, afin d'établir une meilleure gestion de la maladie.

Cette étude fournisse plus d'informations sur le risque évolutif de *P.teres* qui pourrait être plus élevé dans notre pays où le pathogène possède un système de reproduction mixte, ce qui fait que les autorités phytosanitaire du pays doivent envisager et mettre en œuvre des mesures phytosanitaires appropriées pour limiter l'extension de cette redoutable maladie.

CHAPITRE 4 : Activité antifongique de *Bacillus cereus*

vis-à-vis de *Pyrenophora teres*

1. Effet *in vitro* de *B. cereus* sur la croissance mycélienne de *P. teres*

L'activité inhibitrice de 3 souches bactériennes de *B.cereus* vis-à-vis de deux souches fongiques, dont une représente la forme réticulée et l'autre la forme tache brune du pathogène a été étudié *in vitro* selon deux méthodes ; la confrontation directe et la confrontation indirecte. Toutes les souches bactériennes possèdent un effet inhibiteur vis-à-vis de R49 (*Ptt*) et R50 (*Ptm*), enregistrant des pourcentages d'inhibition variant d'une souche à une autre.

1.1. La confrontation directe

L'inhibition maximale de la croissance mycélienne de R49 (*Ptt*) et R50 (*Ptm*) était obtenue par la souche S10C1, avec des pourcentages de l'ordre de 89,72% et 98,75% respectivement. La souche S10C1 a été identifiée comme *Bacillus cereus* 4080 LBK (NCBI: txid1396), par les analyses MALDI-TOF/MS BIOTYPER.

L'effet inhibiteur de S13C1 est en seconde position pour R49 avec un pourcentage de 88,63%, suivi par la souche S13C3 enregistrant un pourcentage d'inhibition de 86,30%. Nous avons noté également que la S13C3 a indiqué une inhibition de 96,37% pour la R50, occupant une seconde position suivie par la S13C1 révélant une inhibition de 94,31%. L'analyse de la variance a mis en évidence une différence hautement significative des pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des souches R49 et R50 par les 3 souches bactériennes ($p=0,000$) (**annexe3**).

Résultats et Discussion

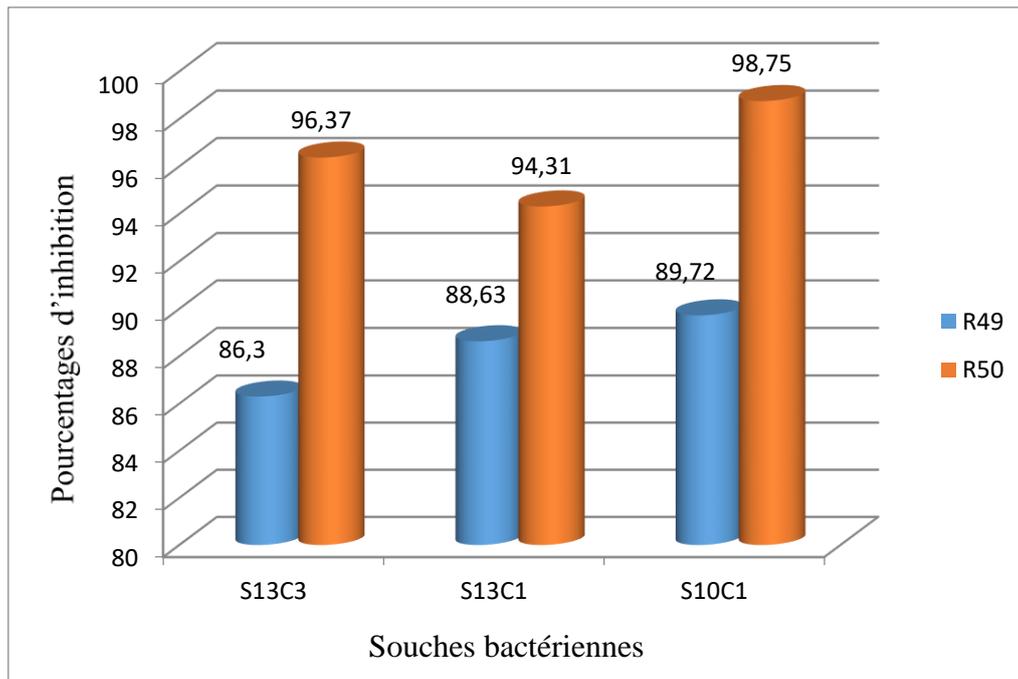


Fig.41 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation directe

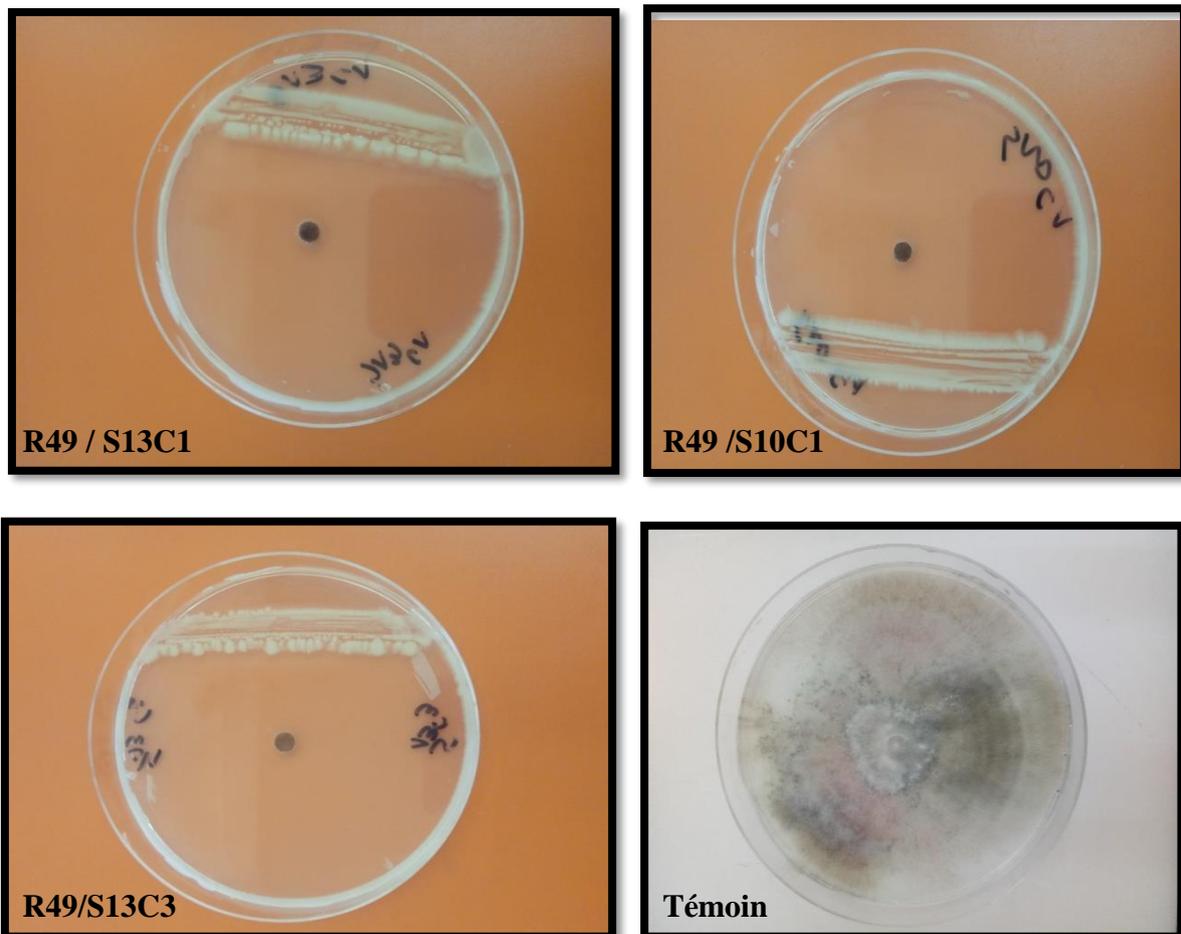


Fig. 42 : Effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de *Ptt* en confrontation directe

Résultats et Discussion

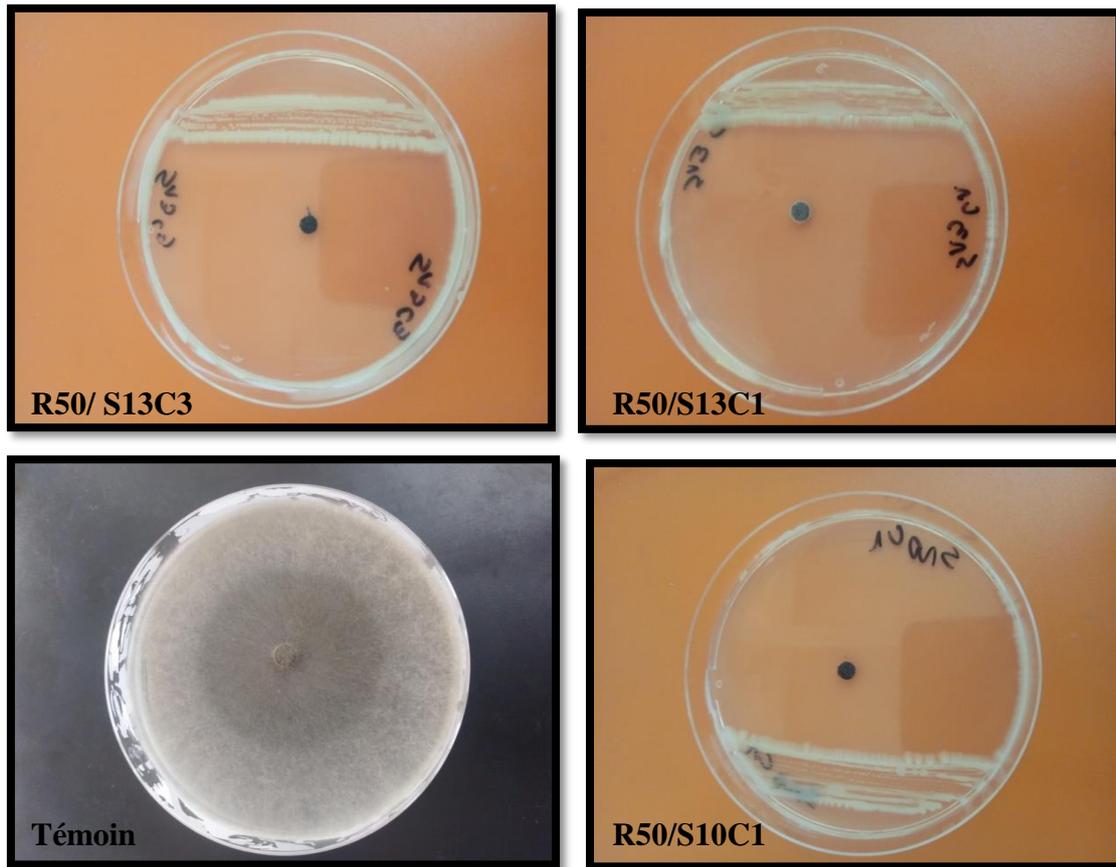


Fig. 43 : Effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de *Ptm* en confrontation directe

1.2. La confrontation indirecte

La bactérie S10C1 a indiqué une inhibition maximale de la croissance mycélienne des deux souches fongique R49 (*Ptt*) et R50 (*Ptm*), avec des pourcentages de 90,32 % et 90,64%. S13C3 a exhibé un effet inhibiteur en seconde position pour la souche R49 marquée par un pourcentage d'inhibition de 78,59%, suivi par S13C1 enregistrant un pourcentage d'inhibition de 52,78%.

Nous avons également souligné que la souche S13C1 avait un effet inhibiteur en seconde position vis-à-vis de R50 qui est notifiée par un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 90,06%, suivi par S13C3 enregistrant un pourcentage de 70,51%.

L'analyse de la variance de ces résultats a révélé une différence hautement significative entre le taux d'inhibition des deux champignons par les bactéries testées et le témoin non traité.

Résultats et Discussion

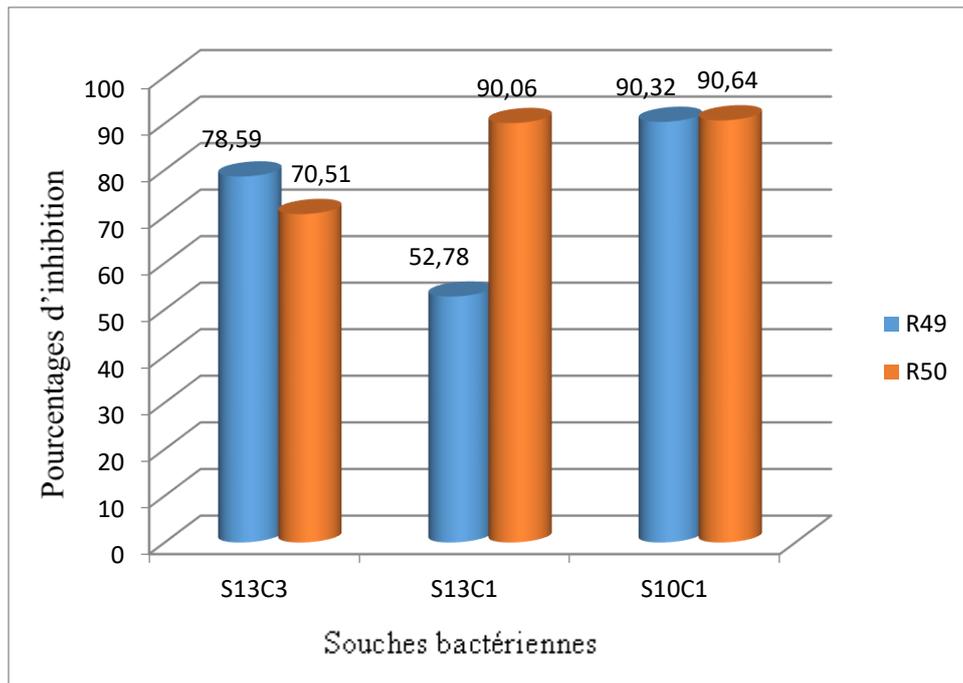


Fig.44 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation indirecte

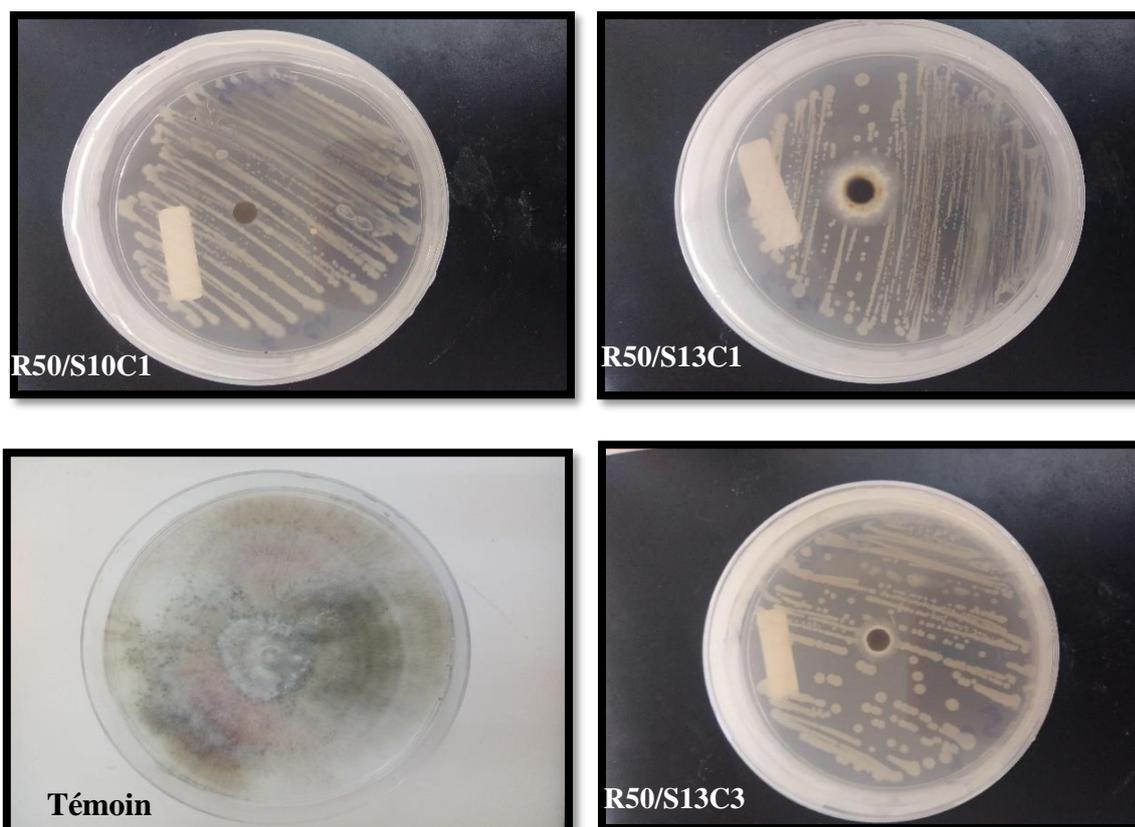


Fig.45 : Effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de *Ptt* en confrontation indirecte

Résultats et Discussion

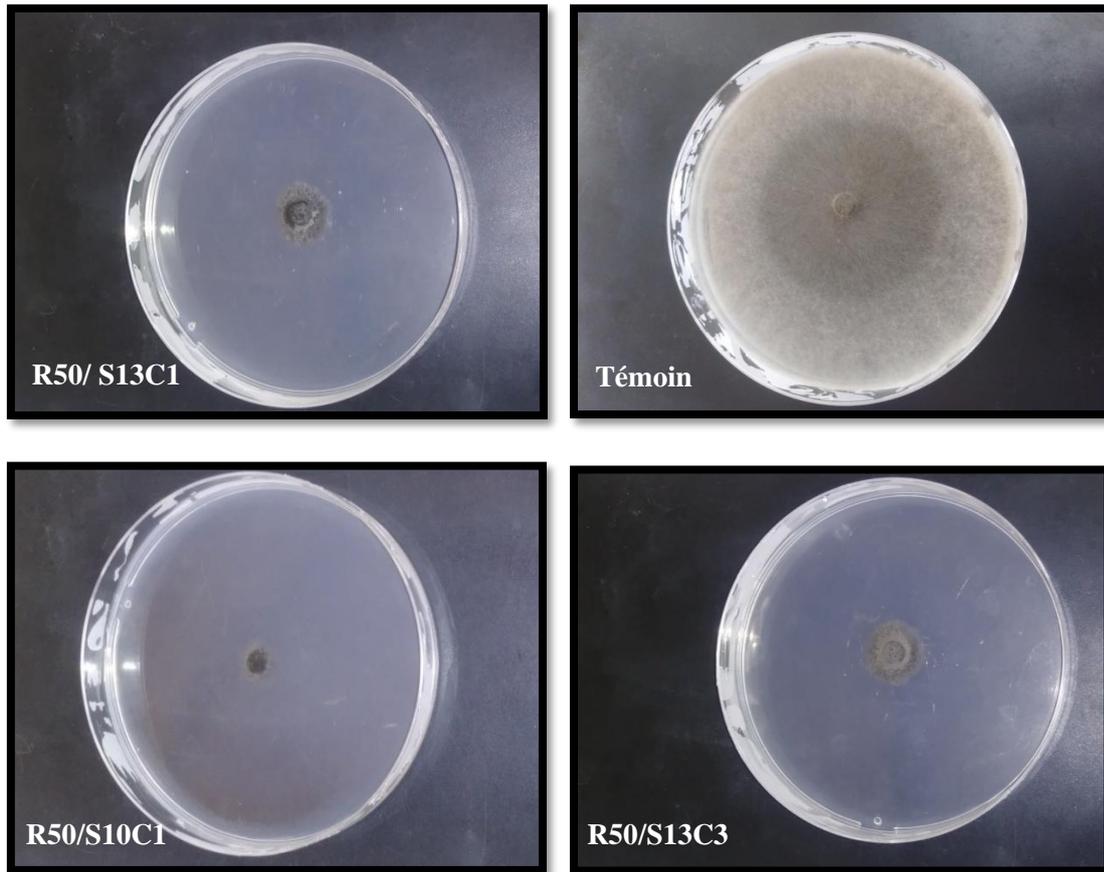


Fig.46 : Effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de *Ptm* en confrontation indirecte

2. Effet de *B.cereus* sur la sévérité de la maladie (essai sur feuilles détachées)

Les résultats obtenus ont révélé que les trois souches bactériennes ont réduit le développement des symptômes des deux formes de la maladie sur les feuilles.

L'indice de la sévérité de la maladie induite par la souche *Ptt* (R49) a varié selon la souche bactérienne utilisée, la souche S10C1 et la souche S13C3 ont enregistré une réduction de la sévérité de la maladie la plus importante (**Fig47**) (**Annexe 5**).

Pour la souche *Ptm* (R50), les trois souches bactériennes ont induit une réduction importante de la sévérité de la maladie (**Fig47**) (**Annexe 5**).

L'analyse de la variance a mis en évidence une réduction hautement significative de la sévérité de la maladie pour les deux souches fongiques R49 et R50 par rapport au témoin inoculé artificiellement.

Résultats et Discussion

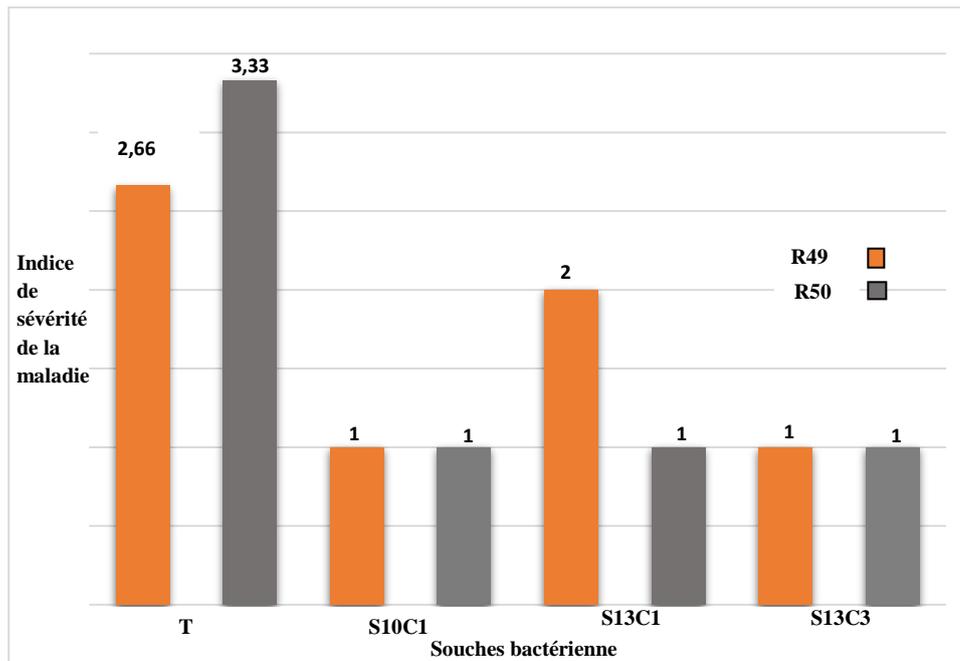


Fig.47 : Effet de *B.cereus* dans la réduction de indice de sévérité de la maladie sur feuilles détachées

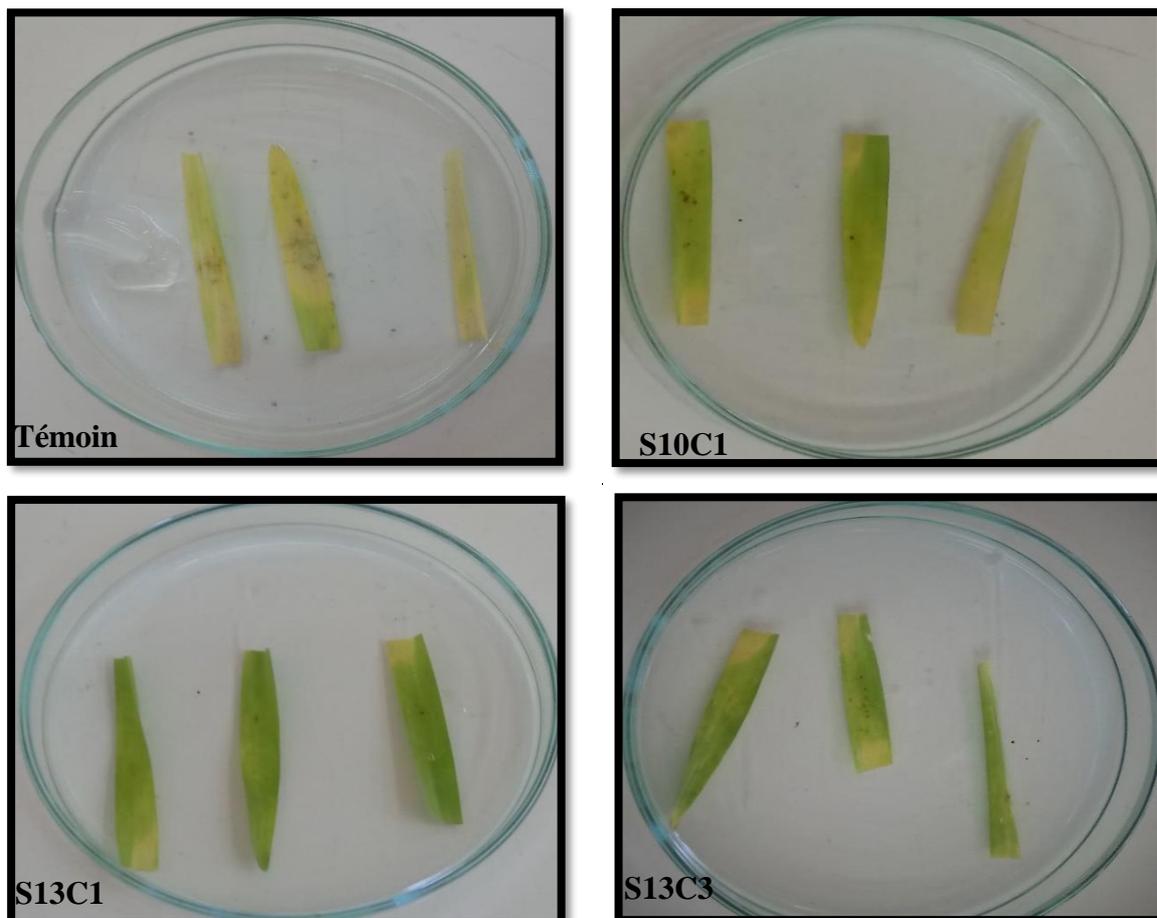


Fig.48 : Effet inhibiteur de *Bacillus cereus* vis-à-vis de *Ptm* sur feuilles détachées

Résultats et Discussion

3. Discussion

Différentes stratégies de lutte peuvent être adoptées pour la gestion des maladies des cultures y compris la rayure réticulée de l'orge ; parmi lesquels l'utilisation des pesticides chimiques dont la plupart des agriculteurs dans le monde en dépend. Cependant ces dernières années, en raison de l'apparition d'une résistance des champignons à ces produits, aux dangers émergents de la pollution de l'environnement et des effets résiduels des pesticides sur la santé humaine et aussi sur l'écosystème terrestre ; l'utilisation de micro-organismes antagonistes naturels est apparu comme une alternative prometteuse.

Dans notre pays, aucune méthode de lutte n'est entreprise vis-à-vis des maladies de l'orge en raison de la négligence de cette culture au détriment du blé. Les autorités phytosanitaires doivent procéder à la recherche des alternatives à la lutte chimique afin d'atténuer les effets néfastes de ces pathogènes sur la production agricole.

Dans la présente investigation, nous avons examiné le potentiel de trois souches bactériennes de *Bacillus cereus*, à agir autant qu'agent de lutte biologique contre *Ptt* et *Ptm* agents causaux de la forme réticulée et la forme tache brune de la rayure réticulée de l'orge. Plusieurs travaux ont été réalisés pour étudier le potentiel de cette bactérie en lutte contre les maladies des cultures. Parmi lesquels nous pouvons citer les travaux réalisés par Banerjee et *al.*, 2017, qui ont rapporté que *Bacillus cereus* IB311 possède une activité antagoniste vis –à-vis de deux bactéries phytopathogènes (*Pseudomonas syringae* et *Agrobacterium tumefaciens*) dans des conditions de laboratoire ; et il s'est avéré également que cette bactérie améliore le rendement de 20% et de 26% en termes de nombre moyen de gousses par plante, nombre moyen de graines par gousse et rendement en graines par parcelle expérimentale pour les deux cultures : arachide (*Arachishypogaeavar.* Koushal, G201) et sésame (*Sesamumindicumvar.* Kanak), respectivement. Romeiro et *al.*, 2010, ont mis en évidence qu'une ou plusieurs protéines ont été synthétisées et libérées par *B. cereus* dans l'environnement cellulaire provoquant une augmentation observée de la résistance dans les folioles de la tomate contre *Corynespora cassiicola*.

Résultats et Discussion

Nous avons noté que les trois souches bactériennes utilisées au cours de cette étude se sont avérées efficaces, *in vitro* dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *Ptt* (R49) et *Ptm* (R50) et dans la réduction des symptômes de la maladie. En outre, nous avons mis en évidence que la souche S10C1 possède le potentiel d'inhibition le plus important enregistrant une inhibition de la croissance mycélienne allant jusqu'à plus de 90%, et une réduction de la sévérité de la maladie marquée par l'indice 1. Les trois souches bactériennes utilisées au cours de cette étude nous ont été fournies par Dr Nacer, qui a également révélé que la souche S10C1 :4080 LBK (NCBI:txid1396) possède une grande capacité de résistance et de réduction du chrome dans des conditions extrêmes, contribuant à une meilleure bioremédiation du chrome dans les sites contaminés.

Plusieurs travaux ont été réalisés dans le monde entier, afin d'investiguer l'effet prometteur des microorganismes isolés du sol dans la lutte contre la rayure réticulée de l'orge. Parmi lesquels, Brien (2005), qui a rapporté que trois souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (MKB 100 et MKB 156) et la souche de *Pseudomonas sp.* (MKB 194) provenant du sol de l'Irlande, se sont révélés prometteurs pour le contrôle de la de la rayure réticulée de l'orge *in vivo*. Les travaux menés par Khan et *al.* (2010) , ont mis en évidence la capacité de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (MKB 100 et MKB 156) dans le contrôle de la maladie de la rayure réticulée de l'orge en Irlande ; en effet, les deux bactéries ont réduit le développement des symptômes de la maladie sur les feuilles détachées de six cultivars d'orge différents, avec plus de 71%. La souche MKB 156 a inhibé la croissance mycélienne de *P.teres* sur PDA (86% réduction par rapport au témoin). Backes et *al.*, 2021, ont rapporté que l'utilisation d'une rhizobactérie appartenant au genre *Burkholderia* (souche B25), a montré une forte activité antifongique contre *P.teres* sur milieu PDA. En plus, La bactérie a pu limiter le développement du champignon à 95% sur feuilles détachées de l'orge.

L'utilisation des microorganismes isolés à partir du sol constitue une solution innovante et une stratégie respectueuse de l'environnement, afin de limiter l'incidence et la sévérité des maladies des cultures.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

La culture d'orge est menacée par plusieurs contraintes d'ordre abiotique et biotique, principalement les maladies cryptogamiques qui sont à l'origine des pertes considérables de rendement sur le plan quantitatif et qualitatif. Parmi ces maladies on distingue la rayure réticulée qui constitue la contrainte majeure de cette culture dans notre pays et fait l'objet de cette étude. Cette présente investigation s'est focalisée tout d'abord sur l'évaluation de l'importance des maladies foliaires de l'orge en particulier la rayure réticulée. Les prospections réalisées sur terrain à travers l'est et l'ouest du pays nous ont fourni des renseignements d'une part sur les principales maladies foliaires dont cette culture pourra être cible notamment la rayure réticulée, la rhynchosporiose, l'oïdium, la strie foliaire et la tache helmthosporienne. D'autre part sur l'extension de la maladie de la rayure réticulée avec ses deux formes *teres* et *maculata*. Les résultats obtenus ont montré la présence de cette maladie dans tous les champs prospectés avec des incidences et des sévérités élevées. Les agents pathogènes du genre *Pyrenophora* ont été isolés et identifiés et une collection de 61 isolats de *Pyrenophora teres* a été obtenue.

L'occurrence et la répartition des deux formes du pathogène sur le champ revêt une importance primordiale dans la caractérisation moléculaire de l'espèce et fournisse un élément indispensable pour l'adoption d'une méthode de lutte adéquate. La PCR effectué sur l'ensemble des isolats a identifié l'espèce *P.teres* et a mis en évidence une légère dominance de la forme tache brune avec 57,37%, par rapport à la forme réticulée qui était identifié au sein de 42,62% des isolats.

La caractérisation phénotypique par l'étude morphologique et biométrique de l'ensemble des isolats a indiqué une variabilité des caractères macroscopique (type et couleur du morphotype rencontré, formation de corémies et des sclérotés, diffusion de pigmentation et croissance mycélienne) et microscopique (taille des conidies) qui ne dépend en aucun cas de l'origine géographique des isolats et ne permettent pas la discrimination des deux formes du pathogène ce qui confirme l'indispensabilité de l'identification moléculaires pour la distinction des deux formes de l'espèce.

Conclusion

L'étude du pouvoir pathogène des isolats sur la variété Saida a mis au point la susceptibilité de cette variété au pathogène, tous les isolats ont induit des symptômes typiques pour chacune des deux formes de la maladie avec une variabilité intra et inter régional sans aucune dépendance de leurs origine géographique. L'utilisation massive et exclusive de cette variété dans notre pays met la culture d'orge en péril. Les sélectionneurs végétaux doivent déployer d'autres variétés résistantes à cette maladie.

En effet une partie de ce travail était consacré pour l'étude de la diversité génétique de *P.teres* par la détermination de l'occurrence et la distribution des mating type et l'analyse de la variation génétique du pathogène par l'utilisation des marqueurs génétiques ISSR. C'est la première étude entreprise dans notre pays, elle a permis de prouver l'occurrence des deux idiomorphes des deux formes du champignon en Algérie. Parmi les isolats *Ptt*, MAT1-2 a été identifié plus que MAT1-1, d'autre part, parmi les isolats *Ptm*, MAT1-1 était plus fréquent.

Le résultat de l'analyse ISSR a indiqué que les 61 isolats de *P. teres* utilisés dans cette étude avaient une diversité relativement faible sans aucune corrélation avec leurs origines géographiques et la distribution des types d'idiomorphes ainsi que la plante hôte et l'année d'échantillonnage. Cela peut s'expliquer par le flux génétique qui s'est probablement produit au sein de la population de *P. teres* ou bien ça pourrait être dû aux transferts de semences entre les régions sans le recours à aucune certification phytosanitaire.

Les résultats de cette présente investigation ont également suggéré que *P. teres f. teres* se reproduit exclusivement sexuellement et que *P. teres f. maculata* se reproduit principalement sexuellement, mais la reproduction asexuée se produit également. Effectivement, dans notre pays, la production d'ascospores est un aspect épidémiologique clé, mais dans le cas de *P. teres f. maculata*, les conidies peuvent également jouer un rôle. L'occurrence des deux modes de reproductions typique au pathogène était confirmée dans notre pays ce qui rend le risque d'émergence de nouvelles souches plus virulentes très possible. Ces données recueillies servent à mieux comprendre le risque évolutif de *Pyrenophora teres* pour qu'on puisse établir une meilleure gestion de cette maladie par la sélection végétale ou la lutte chimique par les fongicides.

Conclusion

Enfin les résultats obtenus dans le cadre de la recherche d'autres alternatives de lutte contre la rayure réticulée ont révélé l'effet inhibiteur de 3 souches de *Bacillus cereus* isolées à partir du sol contre *P.teres f. teres* et *P.teresf. maculata*. Cette activité inhibitrice a varié selon la souche bactérienne utilisée. La souche S10C1 a prouvé un meilleur potentiel de lutte contre *Ptt* et *Ptm in vitro* enregistrant une inhibition de la croissance mycélienne allant jusqu'à plus de 90% et *in vivo* par une réduction remarquable de la sévérité de la maladie.

La lutte biologique notamment l'utilisation des antagonismes naturels est apparu comme une alternative prometteuse dans le développement d'une agriculture durable. Beaucoup d'antagonistes naturelles ont prouvé leur efficacité en lutte contre les maladies des cultures. Pour cela, il est nécessaire que d'autres essais par l'utilisation de cette bactérie soient réalisés sur terrain à grand échelle pour affirmer leur efficacité. Les autorités phytosanitaires du pays doivent procéder à l'homologation de biopesticides naturels tout en sensibilisant et encourageant les agriculteurs à adopter ce genre de moyens de lutte pour minimiser l'impact négatif que les pesticides peuvent entraîner sur les sols, les écosystèmes et la santé humaine.

*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

- Abebe W., 2021.** Barley Net Blotch Disease Management: A Review. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, 7: 69-81.
- Afanasenko O.S., Jalli M., Pinnschmidt H.O., Filatovaa O. and Platz G.J., 2009.** Development of an international standard set of barley differential genotypes for *Pyrenophora teres f. teres*. *Plant Pathology*, 58: 665–676.
- Afanasenko O.S., 1977.** The laboratory method of barley screening for resistance to net blotch. *Agriculture Biology*, 12: 297–299
- Ajilogba C.F., Babalola O.O. and Ahmad F., 2013.** Antagonistic effects of bacillus species in biocontrol of tomato fusarium wilt. *Studies on Ethno-Medicine*, 7(3): 205-216.
- Akhavan A., Turkington T.K., Kebede B., Tekauz A., Kutcher H.R. et al., 2015.** Prevalence of mating type idiomorphs in *Pyrenophora teres f. teres* and *P. teres f. maculata* populations from the Canadian prairies. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 37: 52-56. <https://doi.org/10.1080/07060661.2014.995710>
- Akhavan A., Turkington T. K., Askarian H., Tekauz A., Xi K., Tucker J. R., Kutcher H. R., Strelkov S. E., 2016.** Virulence of *Pyrenophora teres* populations in western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 38(2):183–196.
- Aktaş H., 1995.** Reaction of Turkish and German barley varieties and lines to the virulent strain T4 of *Pyrenophora teres*. *Rachis*, 14: 9–13.
- Alcorn J.L., 1988.** The taxonomy of ‘*Helminthosporium*’ species. *Annual Review of Phytopathology*, 26:37–56.
- Ali-Haimoud D.E., Mostafa M., Barrault G., and Albertini L., 1993.** Evaluation of organisms antagonistic to the sclerotioide organs of *Pyrenophora teres* the causal agent of barley net blotch. *Plant Disease*, 77: 1251-1255.
- Allen G.C., Flores-Vergara M.A., Krasynanski S., Kumar S. and Thompson W. F., 2006.** A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide. *Nature Protocols*, 1 : 2320–2325. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.384>
- Ammar M., 2014.** Organisation de la chaîne logistique dans la filière céréales en Algérie : Etat des lieux et perspectives. Mémoire de Master. Institut Agronomique méditerranéen de Montpellier, France .121p.
- Arabi M.I.E., Al-Safadi B. and Charbaji T., 2003.** Pathogenic variation among isolates of *Pyrenophora teres*, the causal agent of barley net blotch. *Journal of Phytopathology*, 151: 376-382.
- Arabi M.I., Sarrafi A., Barrault G., Albertini L., 1992.** Genetic Variability for Grain Yield and Protein Content in Barley and its Modification by Net Blotch. *Plant Breeding*, 108: 296-301.

Références Bibliographiques

- Armengol J., Vicent A., Leon M. et al., 2010.** Analysis of population structure of *Rosellinia necatrix* on *Cyperus esculentus* by mycelial compatibility and intersimple sequence repeats (ISSR). *Plant Pathology*, 59: 179–185.
- Asnakech tekalign B.,2002.** Relative importance and pathogenic variability of barley net and spot form of net blotch (*pyrenophora teres*) in north west and central highlands of Ethiopia. Mémoire de Master. Université d'Alemaya, Ethiopia.91p.
- Bach E., ChristensenS., Dalgard L., Larsen P.O.,Olsen C.E. and Smedegard-Petersen V.,1979.** Structure, properties and relationship to the aspergillomarasmines to toxins produced by *Pyrenophora teres*. *Physiological plant pathology*, 14:41-46.
- Backes A., Guerriero G., Ait Barka E. and Jacquard C., 2021.***Pyrenophora teres*: Taxonomy, Morphology, Interaction with Barley, and Mode of Control. *Frontiers in Plant Science*, 12:1-18 doi: 10.3389/fpls.2021.614951
- Badr A., Muller K., Schafer-Pregl R., El Rabey H., Effgen S., Ibrahi H.H., PozziC., Rohde W. and Salamini F., 2000.** The origin, domestication and history of barley (*Hordeum vulgare*). *Molecular Biology and Evolution*, 17: 499-510.
- Banerjee G., Gorthi S. and Chattopadhyay P., 2017.** Beneficial effects of bio-controlling agent *Bacillus cereus* IB311 on the agricultural crop production and its biomass optimization through response surface methodology. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*:1-11.
- Barrault G., 1989.**L'Helminthosporiose. *Perspectives agricoles*, 58: 28-29.
- Baturo-Ciesniewska A., Grabowski A., Panka D., 2012.** Diversity in the polish isolates of *Drechslerateres* in spring barley as determined through morphological features, mating types, reaction to control agents and RAPD markers. *Journal of Plant Pathology*, 94 :339-351.
- Belaid DJ., 1986.** Aspect de la céréaliculture algérienne. OPU. 207 p.
- Benbelkacem, A. 1996.** Adaptation of cereal cultivars to extreme agroecologic environments of North Africa. *Field CropsResearch*,45 : 49-55.
- Bendahmane B.S., 1992.** Contribution à la lutte chimique contre *Drechslera teres* (Sacc.) shoem., agent de l'helminthosporiose de l'orge. Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, France, 111p.
- Benslimane H., 2014.** Simple Method to produce in vitro *Pyrenophora tritici-repentis* Teleomorph. *The Plant Pathology Journal*, 30(4): 437-439
- Bessaoud O., Pellissier J-P., Rolland J-P. and Khechimi W., 2019.** Rapport de synthèse sur l'agriculture en Algérie. Rapport de recherche, CIHEAM-IAMM. 82p.
- Bogacki P., Keiper F.J., Oldach K.H.,2010.** Genetic structure of South Australian *Pyrenophora teres* populations as revealed by microsatellite analyses. *Fungal biology*,114:834-841.

Références Bibliographiques

- Borja I., Solheim H., Hietala A.M. and Fosdal C.G., 2006.** Etiology and real-time polymerase chain reaction-based detection of Gremmeniella- and Phomopsis associated disease in Norway spruce seedling. *Phytopathology*, 96: 1305–1314.
- Bothmer R.V., Hintum T. V., Knüpffer H. and Sato K., 2003.** Diversity in Barley (*Hordeum vulgare*). Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 280p.
- Bothmer R.Von., 1992.** The wild species of *Hordeum*: relationships and potential use for improvement of cultivated barley: 3–18 in: *Barley: Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology*. P. R. Shewry, ed. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- Boungab K., 2013.** La rayure réticulée de l'orge (*Hordeum vulgare* L.) dans le Nord-Ouest Algérien : importance, morphologie et pouvoir pathogène chez *Pyrenophora teres f. teres* et recherche de moyens de lutte. Thèse de Doctorat. Université d'Oran, Oran, Algérie. 171p.
- Boungab K., Belabid L. and Fortas Z., 2009.** Net blotch of barley in northwestern Algeria. In Abstracts, 10th Arab Congress of Plant Protection, October 26-30, 2009, Beirut, Lebanon, N° F74.
- Boungab K., Belabid L., Fortas Z. and Bayaa B., 2012.** Pathotype diversity among Algerian isolates of *Pyrenophora teres f. teres*. *Phytopathologia Mediterranea*, 51(3) : 577–586.
- Boungab K., Belabid L. and Fortas Z., 2011.** Recherche de géniteurs de résistance à la rayure réticulée de l'orge causée par *Pyrenophora teres*. In : Proceedings du 4^{ème} Conférence Internationale sur les Méthodes Alternatives en Protection des Cultures, Lille, France, pp 156–163.
- Boungab K., Tadjeddine A., Lakhdar B., Fortas Z. and Bassam B., 2015.** Exploitation of some plant extracts for ecofriendly management of Net Blotch of Barley. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(2):732-739.
- Brockman D.A., Chen X., Gallaher D.D., 2013.** Consumption of a high β -glucan barley flour improves glucose control and fatty liver and increases muscle acylcarnitines in the Zucker diabetic fatty rat. *European journal of clinical nutrition*, 52:1743–1753.
- Brown M.P., Steffenson B.J., Webster R.K., 1993.** Host range of *Pyrenophora teres f. teres* isolates from California. *Plant Disease*, 77 : 942–947.
- C. N. C. C., 2015.** Bulletin des variétés de céréales autogames. Eds. by National Center for Seed and Plants Control and Certification (CNCC), Algiers, Algeria. 255p.
- Campbell G.F., Crous P.W. and Lucas J.A., 1999.** *Pyrenophora teres f. maculata*, the cause of *Pyrenophora* leaf spot in South Africa. *Mycological Research*, 103: 257-267.
- Campbell G.F., Lucas J.A. and Crous P.W., 2002.** Evidence of recombination between net- and spot-type populations of *Pyrenophora teres* as determined by RAPD analysis. *Mycological Research*, 106: 602–608. <https://doi.org/10.1017/S0953756202005853>

Références Bibliographiques

- Cawoy H., Bettiol W., Fickers P. and Ongena M., 2011.** *Bacillus*-Based Biological Control of Plant Diseases. Pesticides in the Modern World – Pesticides Use and Management: 273-302 <https://doi.org/10.5772/17184>.
- Çelikoğuz A., and Karakaya A., 2017.** Pathotypes of *Pyrenophora teres* on barley in Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 56: 224–234.
DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-20267
- Çelik Oğuz A., karakaya A., Murat Duran R. and Özbek K., 2019.** Identification of *Hordeum spontaneum* Genotypes Resistant to Net Blotch Disease. *Journal of Agricultural Sciences*, 25:115-122. DOI: 10.15832/ankutbd.539014
- Çelik Oğuz A. and Karakaya A., 2021.** Genetic Diversity of Barley Foliar Fungal Pathogens. *Agronomy* ,11:27p. <https://doi.org/10.3390/agronomy11030434>
- Çelik Oğuz A., Ölmez F. and Karakaya A., 2018.** Mating type idiomorphs of *Pyrenophora teres* in Turkey. *Zemdirbyste-Agriculture*, 105: 271–278.
- Çelik Oğuz A., Ölmez F. and Karakaya A., 2019.** Genetic diversity of net blotch pathogens of barley in Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology*, 21:1089– 1096. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0998>.
- Chamekh R., 2006.** Caractérisation de cinq isolats de *Drechslera teres*(sacc.), agent responsable de la rayure réticulée de l'orge (*Hordeum vulgare* L.). Mémoire Magister, Université Oran es-senia, 69p.
- Champion R., 1997.** Identifier les champignons transmis par les semences. Edition INRA, France. 398p.
- Chemitei K., Amendi M.B., Mwamburi L.A. and Ochuodho J. O., 2019.** Bio-Control of Net-Blotch and Scald Pathogens of Barley Using *Paenibacillus Polymyxa* KAI245 Isolated from Sorghum Rhizosphere in Western Kenya. *American Journal of Microbiological Research*, 7(1): 28-36.
- Chidambaram P., Mathur S.B. and Neergaard P., 1973.** Identification of seed-borne *Drechslera* species. Hdbok on seed health testing, Published by the International seed testing Association AS-NLH, Norway, 1974. Saertryk of Fiesia x, 3: 165-207.
- Clare S.J., Wyatt N.A., Bruggeman R.S. and Friesen T.L., 2020.** Research advances in the *Pyrenophora teres*-barley interaction. *Molecular Plant Pathology*, 21 : 272–288.
- Dagnelie P., 1975.** Théorie et méthodes statistiques : applications agronomiques, 2. Les Presses Agronomiques de Gembloux, ASBL, 2^{ème} Eds, Gembloux (Belgique). 463 p.
- Dokhanchi H., Arzanlou M. and Abed- Ashtiani F., 2021.** Sexual recombination and genetic diversity in Iranian populations of *Pyrenophora teres*. *Journal of Phytopathology*: 1-14. DOI: 10.1111/jph.13001

Références Bibliographiques

- Douiyyssi A., Rasmusson D.C. and Wilcoxson R.D., 1996.** Inheritance of resistance to net blotch in barley in Morocco. *Plant Disease*, 80: 1269-1272.
- Douiyyssi A., Rasmusson D.C. and Roelfs A.P., 1998.** Responses of Barley Cultivars and Lines to Isolates of *Pyrenophora teres*. *Plant Disease*, 82 (3): 316-321. DOI: 10.1094/PDIS.1998.82.3.316
- Drechsler C., 1923.** Some graminicolous species of *Helminthosporium*. *International Journal of Agricultural Research*, 24:641-739
- El Yousfi B. and Ezzahiri B., 2001.** Net Blotch in semi-arid region of Morocco. I Epidemiology. *Field Crops Research*, 73: 35-46.
- El yousfi B. and Ezzahiri B., 2002.** Net blotch in semi-arid regions of Morocco II: yield and yield-loss modeling. *Field Crops Research*, 73:81-93.
- Ellis M.B., 1971.** Dematiaceous hyphomycetes. ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, surrey, England, 608 p.
- Ertürk H., Karakaya A. and Çelik Oğuz A., 2018.** Leaf diseases occurring on barley plants in bala district of Ankara province, turkey. *Ecological Life Sciences* ,13(4): 204-207.
- FAOSTAT. 2020.** <https://www.fao.org/faostat/fr/#home>.
- FAOSTAT. 2021.**<https://www.fao.org/faostat/fr/#data/QCL>
- Fetch T.G., Jr., Steffenson B.J. and Nevo E.,2003.** Diversity and sources of multiple disease resistance in *Hordeum spontaneum*. *Plant Disease*, 87: 1439-1448
- Ficsor A., Bakonyi J., Tóth B., Tomcsányi A., Palágyi A., Cso"sz M., Károlyi-Csépló" M., Mészáros K. and Vida G., 2010.** First report of spot form of net blotch of barley caused by *Pyrenophora teres f. maculata* in Hungary. *Plant Disease*, 94(8): 1062-1063
- Ficsor A., Tóth B., Varga J., Csoz M., Tomcsányi A. et al., 2014.** Variability of *Pyrenophorateresf. Teres* in Hungary as revealed by mating type and RAPD analyses. *Journal of Plant Pathology*,96: 515–523.
- Fisher M., 2015.** 40 maps that explain the Middle East. *Vox. Accessed online.* Middle East History. <https://www.vox.com/a/maps-explain-the-middle-east>
- Frazzon A. P. G., Matsumura A. T. S. and Van Der Sand S. T., 2002.** Morphological characterisation and genetic analysis of *Drechslera teres* isolates. *Genetics and Molecular Biology*,25(2): 235-241.
- Gangwar O.P., Chander Bhardwaj S., Singh G.P., Prasad P., Kumar S., 2018.** Barley diseases and their management- an Indian perspective-. *Wheat and Barley Research* ,10(3):138-150. <https://doi.org/10.25174/2249-4065/2018/83844>

Références Bibliographiques

- Grewal T.S., Rosnagel B.G., Pozniak C.J. and Scoles G.J., 2008.** Mapping quantitative trait loci associated with barley net blotch resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, 116:529–539. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0688-9>
- Grünwald N.J., Goodwin S.B., Milgroom M.G. and Fry W.E., 2003.** Analysis of genotypic diversity data for populations of microorganisms. *Phytopathology*, 93:738-746. <https://doi.org/10.1080/03235400009383324>
- Islam M.A., Nain Z., Alam M.K., Banu N.A. and Islam M.R., 2018.** In vitro study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* ,28(90):1-11.
- Jalli M., 2010.** The virulence of Finnish *Pyrenophora teres* f. *teres* isolates and its implications for resistance breeding. Doctoral Dissertation, University of Helsinki, Finland, 45p.
- Jalli M. and Robinson J., 2000.** Stable resistance in barley to *Pyrenophora teres* f. *teres* isolates from the Nordic -Baltic region after increase on standard host genotypes. *Euphytica* ,113:71–77. <https://doi.org/10.1023/A:1003912825455>
- Jayasena K.W., Loughman R. and Majewski J., 2002.** Evaluation of fungicides in control of spot-type net blotch on barley. *Crop Protection*,21: 63–69.
- Jayasena K.W., van Burgel A., Tanaka K., Mejewski J. and Loughman R., 2007.** Yield reduction in barley in relation to spot-type net blotch. *Australasian Plant Pathology*, 36:429–433. doi: 10.1071/AP07046
- Jayasena K. W., George E., Loughman R. and Hardy G., 2004.** First record of the teleomorph stage of *Drechslera teres* f. *maculata* in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 33: 455–456
- Jebbouj R. and El Yousfi B., 2010.** An integrated multivariate approach to net blotch of barley: Virulence quantification, pathotyping and a breeding strategy for disease resistance. *European Journal of Plant Pathology*, 127: 521–544.
- Ji S.N., Paul N.C., Deng J.X., Kim Y.S., Yun B. and Yu S.H., 2013.** Biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. *Mycobiology* ,41: 234–242.
- Johnsson L., Hokeberg M. and Gerhardson B., 1998.** Performance of the *Pseudomonas chlororaphis* biocontrol agent MA342 against cereal seed-borne diseases in field experiments. *European Journal of Plant Pathology*, 104: 701 – 711.
- Jonsson R., Sail T. and Bryngelsson T., 2000.** Genetic diversity for random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers in two Swedish populations of *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology* ,22: 258-264.

Références Bibliographiques

Jordan V. W. L., 1981. Aetiology of barley net blotch caused by *Pyrenophora teres* and some effects on yield. *Plant Pathology*, 30:77-87.

Karakaya A., Katircioğlu Y. Z. and Aktaş H., 2004. Studies on the biology of *Drechslera teres* under Ankara conditions. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 10 : 133–135. https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000000882

Karki C.B.,1985. Biology of *pyrenophora* spot blotch on barley (*Hordeum vulgare* L) incited by *pyrenophora teres drechs. f. sp. maculata smedeg.* and genetics of resistance. Thèse de doctorat. Université d'état du Montana Bozeman, Montana.99p.

Katz S.H., Woys Weaver W., 2003. Encyclopedia of food and culture. Charles Scribner's Sons, New York.691p .

Kenneth R., 1962. On the taxonomy, morphology and geographic origins of *Pyrenophora teres* Drechsler and allied species. *Bulletin of the Research Council of Israel* ,11: 55-83.

Khan M.R., Brien E.O., Carney B.F. and Doohan F.M., 2010. A fluorescent pseudomonad shows potential for the control of net blotch disease of barley. *Biological Control* ,54:41–45. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.02.010>

Khan T.N. and Boyd W.J.R., 1969. Physiologic specialization in *Drechslera teres*. *Australian Journal of Biological Sciences*, 22: 1229–1235.

Kiffer E. and Morelet M., 1997. *Les Deuteromycetes : Classification et clés d'identification génétique.* INRA, Paris, France : 306 p.

Lacroix M., 2002. Les maladies des céréales et de la luzerne. Diagnostic. Dépistage. Prévention. Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, Québec. Canada. 66p.

Lammari H.I., 2021. Etude de la rayure réticulée de l'orge causée par *Pyrenophora teres* (Died.) Drechsler : Structure de la population pathogène et efficacité des traitements fongicides. Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach-Alger Algérie.

Lammari H-I., Rehfus A., Stammler G., Fellahi Z.E.A., Benbelkacem A. et al.,2019. Occurrence and frequency of spot form and net form of net blotch disease of barley in Algeria. *Journal of Plant Diseases and Protection*,127:35–42. <https://doi.org/10.1007/s41348-019-00278-w>

Lammari H.I., Rehfus A., Stammler G. and Benslimane H., 2020. Sensitivity of the *Pyrenophora teres* Population in Algeria to Quinone outside Inhibitors, Succinate Dehydrogenase Inhibitors and Demethylation Inhibitors. *The Plant Pathology Journal*,36(3): 218–230.

Lehmensiek A., Bester-van der Merwe A.E., Sutherland M.W., Platz G., Kriel W.M., Potgieter G. F. and Prins R.,2010. Population structure of South African and Australian

Références Bibliographiques

Pyrenophora teres isolates. Plant Pathology ,59:504–515. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02231.x>

Leisova L., Kucera L., Minarikova V. and Ovesna J., 2005. AFLP-based PCR markers that differentiate spot and net forms of *Pyrenophora teres*. Plant Pathology, 54: 66–73.

Lightfoot D. J. and Able A. J., 2010. Growth of *Pyrenophora teres in planta* during barley net blotch disease. Australasian Plant Pathology, 39(6): 499–507.

Linzer R.E., Rizzo D.M., Cacciola S.O. and Garbelotto M., 2009. AFLPs detect low genetic diversity for *Phytophthora nemorosa* and *P. pseudosyringae* in the US and Europe. Mycological Research, 113(3): 298-307.<https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.11.004>

Liu Z., Ellwood S. R., Oliver R. P. and Friesen T. L., 2011. *Pyrenophora teres*: Profile of an increasingly damaging barley pathogen. Molecular Plant Pathology, 12(1): 1–19.

Lu S., Platz G.J., Edwards M.C. and Friesen T.L., 2010. Mating Type Locus-Specific Polymerase Chain Reaction Markers for Differentiation of *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata*, the Causal Agents of Barley Net Blotch. Phytopathology ,100: 1298–1306. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-10-0135>

Mandal H., Chakraborty P., Das S., Saha A., Sarkar T., Saha D. and Saha A., 2017. Biocontrol of Virulent *Ralstonia solanacearum* isolates by an Indigenous *Bacillus cereus*. Journal of Agricultural Technology, 13(1): 19-30.

McDonald B.A. and Linde C., 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. Annual Review of Phytopathology ,40: 349-379.

McDonald, W.C., 1967. Variability and the inheritance of morphological mutants in *Pyrenophora teres*. Phytopathology, 57: 747–755.

McLean M.S., Howlett B.J. and Hollaway G.J., 2010. Spot form of net blotch, caused by *Pyrenophora teres* f. *maculata*, is the most prevalent foliar disease of barley in Victoria, Australia. Australasian Plant Pathology, 39: 46–49.

McLean M.S., Howlett B.J., Hollaway G.J., 2009. Epidemiology and control of spot form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *maculata*) of barley: a review. Crop and Pasture Science, 60: 303–315.<https://doi.org/10.1071/CP08173>

Montesinos E., Bonaterra A. and Moselio S., 2009. Microbial Pesticides :110-120 in: Encyclopedia of microbiology. Academic Press, Oxford, UK.

Moolhuijzen P., Lawrence J.A. and Ellwood S.R., 2021. Potentiators of Disease During Barley Infection by *Pyrenophora teres* f. *teres* in a Susceptible Interaction. Molecular Plant-Microbe Interactions, 34(7):779–792, <https://doi.org/10.1094/MPMI-10-20-0297-R>

Morris P. C., Bryce J.H.,2000. Cereal Biotechnology. Woodhead Publishing Limited Cambridge England.252p.

Références Bibliographiques

Mougou-Hamdane A., Touati R., Faddaoui S., Garbouj R., BenAraar A. and Nasraoui B., 2018. Barley Net Blotch in Tunisia: Areal distribution, forms and molecular identification. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 13 (1) : 57-68.

Moule C., 1971. Phytotechnie spéciale tome II : Céréales. La maison rustique, paris.94p.

Moya P., Pedemonte D., Amengual S., Franco M.E.E. and Sisterna M.N., 2016. Antagonism and modes of action of *Chaetomium globosum* species group, potential biocontrol agent of barley foliar diseases. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* ,51 (4) : 569-578.

<https://doi.org/10.31055/1851.2372.v51.n4.16334>

Murray G.M. and Brennan J.P., 2010 . Estimating disease losses to the Australian barley industry. *Australasian Plant Pathology*, 39: 85–96.

Nacer A., Boudjema S., Bouhaous M., Boudouaia N. and Bengharez Z., 2021. Bioremediation of hexavalent chromium by an indigenous bacterium *Bacillus cereus* S10C1: optimization study using two level full factorial experimental design. *Comptes Rendus Chimie*, 24(S1): 57-70.

Narayanasamy P., 2013. Biological Management of Diseases of Crops volume 2: Integration of Biological Control Strategies with Crop Disease Management Systems. Springer Dordrecht Heidelberg, New York, London.364p.

Nasraoui B., 2008. Principales Maladies Fongiques des Céréales et des Légumineuses en Tunisie. Centre de Publication Universitaire.116p.

Newman, R.K., Newman, C.W., 2008. Barley for Food and Health. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.245p. <https://doi.org/10.1002/9780470369333>

O' Brien E., 2005. Biological Control of *Pyrenophora teres*. Master en science. Letterkenny Institute of Technology, Donegal, Irlande. 103p.

Owino A.A., Ochuodho J. O., Were J. O., 2013. Morphological diversity of net blotch fungi (*Pyrenophora teres*) infecting barley (*Hordeum vulgare*) in barley growing areas of Kenya. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Science*, 1(6): 473-479.

Parihar H.S., 2014. *Bacillus cereus*. Encyclopedia of Toxicology. Elsevier ,1: 353–354. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00997-0>

Pal KK and Gardener BM., 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, 1:1-25. [http:// dx.doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02](http://dx.doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02)

Peever T.L. and Milgroom M.G., 1994. Genetic structure of *Pyrenophora teres* populations determined with random amplified polymorphic DNA markers. *Canadian Journal of Botany*, 72:915–923. [https:// doi. org/ 10. 1139/ b94- 116](https://doi.org/10.1139/b94-116).

Platz G., Bell K.L., Rees R.G. and Galea V.J., 2001. Proceedings of the 8th International

Références Bibliographiques

Barley Genetics Symposium, 2: 160-162.

Pon D.S., 1949. Physiologic specialization and variation in *Helminthosporium teres*. (Abstr.) *Phytopathology*,38: 18p.

Prasad R., Singh H.C. and Singh S.K., 2001. Effect of Sowing Date, temperature and Relative Humidity on the incidence of Net Blotch of Barley. *Indian Phytopathology*, 54 : 304–306.

Rahal-Bouziane H.,2015. L'orge en Algérie : passé, présent et importance pour la sécurité alimentaire, face aux nouveaux défis. *Recherche agronomique (27)* : 7-24.

Rapilly F., 1968. Techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des épiphytes*, 19. ed. INRA, Paris. 102 p.

Rau D., Brown A.H.D., Brubaker C.L., Attene G., Balmas V. et al., 2003. Population genetic structure of *Pyrenophora teres* Drechs. The causal agent of net blotch in Sardinian landraces of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics*,106 :947–959. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1173-0>

Rau D., Maier F.J., Papa R., Brown A.H.D., Balmas V., Saba E., Schaefer W. and Attene G., 2005. Isolation and characterization of the mating-type locus of the barley pathogen *Pyrenophora teres* and frequencies of mating-type idiomorphs within and among fungal populations collected from barley landraces. *Genome*, 48(5): 855–869.

Rau D., Attene G., Brown A.H.D., Nanni L., Maier F.J., Balmas V., Saba E., Schaefer W. and Papa R., 2007. Phylogeny and evolution of mating-type genes from *Pyrenophora teres*, the causal agent of barley 'net blotch' disease. *Current Genetics*, 51: 377-392.

Reguieg M. M., Labdi M., Benbelkacem A., Hamou M., Maatougui M. E. H., Grando S. and Ceccarelli S., 2013. First experience on participatory barley breeding in Algeria. *Journal of crop improvement*, 27(4): 469-486.

Robinson J. and Mattila I., 2000. Diversity and difference within and between *Pyrenophora teres f. teres* populations measured with Kosman's indices. *Arch Phytopath Pflanz* ,33:11–23.

Rohlf F.I.,1998. Ntsys-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.0. Applied Biostatistics, Exeter Software, New York, USA.

Romeiro R.S., Lanna Filho R., Macagnan D., Garcia F.A.O. and Silva H.S.A., 2010. Evidence that the biocontrol agent *Bacillus cereus* synthesizes protein that can elicit increased resistance of tomato leaves to *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology*, 35(1): 11-15.

Sarpeleh A., Wallwork H., Catcheside D., Tate M.E. and Able A.J., 2007. Proteinaceous metabolites from *Pyrenophora teres* contribute to symptom development of barley net blotch. *Phytopathology*, 97: 907–915.

Références Bibliographiques

- Sarpeleh A., Wallwork H., Tate M. E., Catcheside D. and Able A.J., 2008.** Initial characterization of phytotoxic proteinaceous metabolites isolated from *Pyrenophora teres*. *Physiological Molecular Plant Pathology*, 72 : 73–79.
- Sayoud R., Ezzahiri B and Bouznad Z., 1999.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC, Alger, Algérie. 64 p.
- Sayoud R. and Benbelkacem K., 1996.** Situation des maladies des céréales en Algérie. *In* : *Proceeding du Symposium Régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires*, 11-14 Nov 1996, Rabat (Maroc) : 69-70.
- Serenius M., Mironenko N. and Manninen O., 2005.** Genetic variation, occurrence of mating types and different forms of *Pyrenophora teres* causing net blotch of barley in Finland. *Mycological Research*, 109:809– 817. <https://doi.org/10.1017/S0953756205002856>
- Serenius M., Manninen O., Wallwork H. and Williams K., 2007.** Genetic differentiation in *Pyrenophora teres* populations measured with AFLP markers. *Mycological Research*, 111: 213–223. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.11.009>
- Shafi J., Tian H. and Ji M., 2017.** Bacillus species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *biotechnology & biotechnological equipment*:1-14.
- Shipton W.A., Khan T.N. and Boyd W.J.R., 1973.** Net blotch of barley. *Plant Pathology*, 52: 269–290.
- Singh M. and Kumar S.,2016.** *Broadening the Genetic Base of Grain Cereals*. Springer, NewDelhi, India.275p.<https://doi.org/10.1007/978-81-322-3613-9>
- Singh M. andUpadhyaya H.D., 2016.** *Genetic and Genomic Resources for Grain Cereals Improvement*. Elsevier.364p.<https://doi.org/10.1016/C2014-0-01654-1>
- Skou J. P. and Haahr V., 1987.** Field screening for resistance to barley net blotch. *Annals of Applied Biology*,111: 617-627
- Smedegard-Petersen V., 1977.** Respiratory changes of barley leaves infected with *Pyrenophora teresor* affected by isolated toxins of this fungus. *Physiological Plant pathology*, 10: 213-220.
- Smedegård-Petersen V., 1971.** *Pyrenophora teres* f. *maculata* and *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley in Denmark. Year book of the Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark :124–144.
- Soltner D., 2005.** *Les grandes productions végétales*, 20eme Edition. Collection sciences et techniques agricoles, Bressuire, France.
- Sommerhalder R.J., Mcdonald B.A. and ZhanJ., 2006.** The frequencies and spatial distribution of mating types in *Stagonospora nodorum* are consistent with recurring sexual reproduction. *Phytopathology* ,96: 234–239.<https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0234>

Références Bibliographiques

Statista,2022. Barley production worldwide 2008/2009- 2021/2022.

<https://www.statista.com/statistics/271973/world-barley-production-since-2008>.

Statkevičiūtė G., Brazauskas G., Semaškienė R., Leistrumaitė A. and Dabkevičius Z., 2010. *Pyrenophora teres* genetic diversity as detected by ISSR analysis. *Zemdirbyste Agriculture*, 97:91–98.

Steffenson B. J., and Webster R. K., 1992. Pathotype diversity of *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley. *Phytopathology*, 82:170-177.

Stefansson T.S., Serenius M. and Hallsson J.H., 2012. The genetic diversity of Icelandic populations of two barley leaf pathogens, *Rhynchosporium commune* and *Pyrenophora teres*. *European Journal of Plant Pathology*, 134:167–180.

Stein N., Muehlbauer G.J., 2018. *The Barley Genome*. Springer International Publishing, Cham, Switzerland .394p. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-92528-8>.

Stepanović M., Rekanović E., Milijašević-Marčić S., Potočnik I., Todorović B. and Stepanović J., 2016. Field efficacy of different fungicide mixtures in control of net blotch on barley. *Journal pesticides and phytomedicine*, 31:51-57.

Suciu L.A., Șoptorean L., Russu F., Giurgiu C., Morea A., Florian V., Barșon G. and Crișan I., 2021. Effectiveness of fungicides with different modes of action against net blotch disease of two-rowed spring barley. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture*, 78 : 47-58. DOI : 10.15835/buasvmcn-agr:2021.0011

Taibi K., Bentata F., Labhilili M., Bentourtou F., El Alaoui Faris F.E., Ibijbijen J. and El Aissami A., 2014. Evaluation de l'effet antifongique de l'extrait aqueux de *Thymelaea* sp. sur *Pyrenophora teres*. *Revue Marocaine de Protection des Plantes* (6) : 21-28.

Taibi K., Bentata F., Labhilili M., Maafa I., El Alaoui Faris F.E. and El Aissami A.,2015. Antifungal activity of a Moroccan plant extract against pathogenic fungi *Pyrenophora teres*, the causal agent of Net Blotch of barley. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(12):531-537.

Teferi T.A., Wubshet M.L. and Aregawi T.B., 2015. Occurrence and intensity of net and spot blotch of barley in South Tigray, Ethiopia. *Global journal of pests, diseases and crop protection* ,3 (4):113-123.

Tekauz A., 1985. A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 7: 181–183.

Tekauz A., 1990. Characterization and distribution of pathogenic variation in *Pyrenophora teres* f. *teres* and *P. teres* f. *maculata* from western Canada. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 12: 141-148.

Références Bibliographiques

- Tini F., Covarelli L., Ricci G., Balducci E., Orfei M. and Beccari G., 2022.** Management of *Pyrenophora teres f. teres*, the Causal Agent of Net Form Net Blotch of Barley, in A Two-Year Field Experiment in Central Italy. *Pathogens*, 11:1-17. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030291>
- Turgeon B.G., and Yoder O.C.,2000.** Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes. *Fungal Genetics and Biology* ,31:1-5.
- Ullrich S.E.,2011.** Barley Production, Improvement, and Uses.Wiley-Blackwell.637p.
- Van den Berg C.G.J. and Rossnagel B.G., 1990.** Effects of temperature and leaf wetness period on conidium germination and infection of barley by *Pyrenophora teres*. *Canadian journal of plant pathology*, 12: 263 -266.
- Vasighzadeh A., SharifnabiB., Javan Nikkhah M., Seifollahi E., Landermann Habetha D., Feurtey A., Holtgrewe Stukenbrock E., 2021.** Population genetic structure of four regional populations of the barley pathogen *Pyrenophora teres f. maculata* in Iran is characterized by high genetic diversity and sexual recombination. *Plant Pathology*, 70: 735–744. <https://doi.org/10.1111/ppa.13326>.
- Vilas-Bôas G.T., Peruca A.P.S. and Arantes O.M.N., 2007.** Biology and taxonomy of *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, and *Bacillus thuringiensis*. *Canadian Journal of Microbiology*, 53 : 673–687. <https://doi.org/10.1139/W07-029>
- Villarreal-Delgado M.F., Villa-Rodríguez E.D., Cira-Chávez L.A. and Estrada-Alvarado M.I., 2017.** The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Mexican Journal of Phytopathology*: 95- 130. DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1706-5
- Wallwork H., Lichon A., Sivanesan A., 1992.** *Pyrenophora hordei* – a new ascomycete with *Drechslera* anamorph affecting barley in Australia. *Mycological Research* ,96: 1068–1070.
- Wilken P.M., Steenkamp E.T., Hall T.A., de Beer Z.W., Wingfield M.J. and Wingfield B.D., 2012.** Both mating types in the heterothallic fungus *Ophiostomaquercus* contain MAT1-1 and MAT1-2 genes. *Fungal Biology*, 116: 427-437.
- WilliamsK. J., SmylC., Lichon A., Wong K.Y. and Wallwork H., 2001.** Development and use of an assay based on the polymerase chain reaction that differentiates the pathogens causing spot form and net form of net blotch of barley. *Australasian Plant Pathology*, 30:37-44.
- Wrigley C., Corke H., Seetharaman K., Faubion J., 2016.** Encyclopedia of food grains. Elsevier.532p.
- Wu H.L., Steffenson B.J., Li Y., Oleson A.E. and Zhong S., 2003.** Genetic variation for virulence and RFLP markers in *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology*,25:82–90. <https://doi.org/10.1080/07060660309507052>

Références Bibliographiques

- Yahiaoui A., Ezzahiri B., Hovmoller M. and Jahoor A., 2003.** A Field Guide for Cereal Disease Management: diseases of barley and wheat in Eriteria. ICARDA, Aleppo, Syria .76p.
- Zhang G., Li C. and Liu X., 2013.** Advance in Barley Sciences. Springer Dordrecht Heidelberg, New York, London .460p. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-4682-4>
- Zhang G. and Li C., 2009.** Genetics and Improvement of Barley Malt Quality. Springer Dordrecht Heidelberg, London New York: 296p.
- Zhou G., Pereira J.F., Delhaize E., Zhou M., Magalhaes J.V. and Ryan P.R., 2014.** Enhancing the aluminium tolerance of barley by expressing the citrate transporter genes SbMATE and FRD3. Journal of Experimental Botany ,65:2381–2390. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru121>
- Zietkiewicz E., Rafalski A. and Labuda D.,1994.** Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics, 20: 176-183.
- Zohary D. and Hopf M., 2000.** Domestication of Plants in the Old World. Oxford University Press, Oxford, New York.316p.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Composition des milieux de culture et du colorant

Milieux de culture à base de pomme de terre (PDA) (Rapilly, 1968)

Pomme de terre.....	200g.
Glucose	20g.
Agar	20g.
Eau distillée	1000 ml.

Autoclavage à 104°C pendant 30 minutes.

Milieu TSA (Trypto – Caséine Soja Agar)

Pour 1 litre de milieu :

Tryptone	15 g.
Peptone papainique de Soja.	5 g.
Chlorure de Sodium	5 g.
Agar	15 g.
PH de milieu prêt à l'emploi à 25 °C	7.3 ±0.2.
Autoclave pendant 20 min à 120 °C.	

Solution nutritive KNOP (Rapilly, 1968)

NaNO ₃	1g
KNO ₃	0.25g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.25g
KH ₂ PO ₄	0.25g
FeCl ₃	Traces
Eau distillée	1000 ml

Autoclavage à 120°C pendant 20 minutes.

Bleu de lactophénol (Champion, 1997)

Acide phénique cristallisé chimiquement pur	1g.
Acide lactique	1g.
Glycérine :	2g
Bleu de méthyl	1g.
Eau distillée	20 ml.

Annexe

Annexe 2 : Mesure de la pureté et de la concentration d'ADN

Tableau 1 : mesure de la pureté et de la concentration d'ADN

Code	Concentration de l'ADN mesurée (ng μ L ⁻¹)	Pureté de l'ADN (DO260/DO280)	Volume d'ADN utilisé (ul)	Volume d'eau ajoutée (ul)
R 01	227,2	1,76	22	78
R 02	155,8	1,71	32	68
R 03	321,2	1,87	16	84
R 04	194,2	1,97	26	74
R 05	280	1,97	18	82
R 06	111,6	1,76	45	55
R 07	55,6	1,84	-	-
R 08	106,7	1,74	48	52
R 09	269,01	1,88	19	81
R 10	128,5	1,86	39	61
R 11	428,6	1,98	12	88
R 12	271,7	1,96	19	81
R 13	38,7	1,79	-	-
R 14	604,3	2,05	9	91
R 15	910	1,99	6	94
R 16	519,6	2	10	90
R 17	271	1,83	19	81
R 18	138,1	1,85	37	63
R 19	495,8	1,87	11	89
R 20	284,9	1,85	18	82
R 21	304,3	1,77	17	83
R 22	1986	2,15	3	97
R 23	113,4	1,82	45	55
R 24	124,3	1,8	41	59
R 25	257	2,05	20	80
R 26	198	1,76	26	74
R 27	1072	1,85	5	95
R 28	447	1,71	11	89
R 29	200	1,47	25	75
R 30	289	1,61	18	82
R 31	495	1,66	10	90
R 32	413	1,91	12	88
R 33	142	1,75	36	64
R 34	753	1,74	7	93
R 35	396	1,65	13	87
R 36	535	1,65	10	90
R 37	94	1,70	-	-
R 38	352	1,68	15	85
R 39	164	1,74	31	69
R 40	441	1,66	12	88
R 41	5492	1,99	1	99
R 42	352	1,63	15	85
R 43	581*	1,79	34	66
R 44	203	1,79	25	75
R 45	136	1,8	37	63
R 46	245	1,68	21	79

Annexe

R 47	200	1,49	75	25
R 48	740	1,80	7	93
R 49	140	1,90	36	64
R 50	121	1,71	42	58
R 51	597	1,86	9	91
R 52	1577	1,94	4	96
R 53	802	1,85	7	93
R 54	866	1,7	6	94
R 55	2281	1,98	2	98
R 56	852	1,73	6	94
R 57	1086	1,91	5	95
R 58	238	1,54	21	79
R 59	669	1,77	8	92
R 60	720	1,84	7	93
R 61	219	1,73	23	77
R 62	1600	1,64	4	96
R 63	305	1,85	17	83
R 64	476	1,70	11	89
R 65	1370	1,84	4	96
R 66	300	1,65	17	83

Annexe

Annexe 3 : Analyse statistique

Tableau 2 : Analyse de la variance de la croissance mycélienne.

Effet	SC	dl	CM	F	seuil de significativité
isolat	39,02	60	650	37,90	0,00

Tableau 3 : Analyse de la variance du pouvoir pathogène des isolats de *P.teres*

Effet	SC	dl	CM	F	seuil de significativité
isolat	1,167	20	58	13,5	0,00

Tableau 4 : Analyse de la variance de l'effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de R50 (Confrontation Indirecte)

Effet	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité
Isolat	1,656	3	0,552	95,52	0,000

Tableau 5 : Analyse de la variance de l'effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de R49(Confrontation indirecte)

Effet	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité
Isolat	1,427	3	0,476	18,09	0,001

Tableau 6 : Analyse de la variance de l'effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de R50 (Confrontation directe)

Effet	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité
Souche bactérienne	2,094	3	0,698	3111	0,000

Tableau 7 : Analyse de la variance de l'effet inhibiteur de *B.cereus* vis-à-vis de R49 (Confrontation directe)

Effet	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité
Souche bactérienne	1,753	3	0,584	233,3	0,000

Annexe

Tableau 8 : Analyse de la variance des indices de sévérité de la maladie causée par R49

Effet	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité
Souche bactérienne	5,583	3	1,861	11,17	0,003

Tableau 9 : Analyse de la variance des indices de sévérité de la maladie causée par R50

Effet	SC	dl	CM	F	Seuil de significativité
Souche bactérienne	16	3	5,33	64	0,000

Annexe

Tableau 12 : Classement en groupe homogène des pourcentages d'inhibition de R49 par les souches bactériennes de *B.cereus* (confrontation directe)

souches bactérienne	moyenne du pourcentage d'inhibition	a	b
T	0,000000		****
B1	0,858500	****	
B2	0,886200	****	
B3	0,901133	****	

Tableau 13 : Classement en groupe homogène des pourcentages d'inhibition de R50 par les souches bactériennes de *B.cereus* (confrontation directe)

souches bactérienne	moyenne du pourcentage d'inhibition	b	a	c
T	0,000000			****
B2	0,941833	****		
B1	0,963067	****	****	
B3	0,987333		****	

Annexe

Tableau 14 : Classement en groupe homogène des pourcentages d'inhibition de R49 par les souches bactériennes de *B.cereus* (confrontation indirecte)

souches bactérienne	moyenne du pourcentage d'inhibition	a	b
T	0,000000		****
B2	0,544000	****	
B1	0,769400	****	
B3	0,903700	****	

Tableau 15 : Classement en groupe homogène des pourcentages d'inhibition de R50 par les souches bactériennes de *B.cereus* (confrontation indirecte

souches bactérienne	moyenne du pourcentage d'inhibition	a	c	b
T	0,000000		****	
B1	0,705067			****
B2	0,900600	****		
B3	0,905933	****		

Annexe

Tableau16 : Classement en groupe homogène des indices de la sévérité de la maladie causée par R49

Souches bactérienne	Moyenne de l'indice de sévérité de maladie	a	b
b3	1,000000	****	
b1	1,000000	****	
b2	1,666667	****	
t	2,666667		****

Tableau17 : Classement en groupe homogène des indices de la sévérité de la maladie causée par R50

Souches bactérienne	Moyenne de l'indice de sévérité de maladie	a	b
b2	1,000000	****	
b3	1,000000	****	
b1	1,000000	****	
t	3,666667		****

Annexe

Annexe 5 : Échelle (1–4) pour l'évaluation de la réaction de l'orge à *Pyrenophora teres* (Afanasenko, 1977)

1 = lésions ponctuelles brunes, pas de chlorose (très résistant)

2 = lésions nécrotiques brunes limitées au diamètre de la goutte d'inoculum, pas ou peu de chlorose (résistant).

2–3 = lésions nécrotiques non limitées au diamètre de la goutte d'inoculum occupant partiellement la surface foliaire, pas ou peu de chlorose (type de réaction intermédiaire, moyennement résistant).

3 = nécrose brune développée sur toute la surface foliaire entourée de régions chlorotiques (sensible)

4 = lésions nécrotiques occupant toute la surface du segment foliaire avec chlorose (très sensible)