

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biotechnologie



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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : biotechnologie**

**Spécialité : biotechnologie microbienne**

*Thème*

**Synthèse bibliographique sur la protection du blé contre l'oïdium par les  
champignons arbusculaires**

**Présenté par : CHAIB BASSOU Nassira**

**Devant le jury**

**Nom et prénom :**

**Grade**

Mme Bensaid F.

(M.A.A.) Univ. de Blida 1

**Président**

Mme Yala A.

(Docteur) Univ. de Blida 1

**Examineur**

Mme BENKORTEBY H.

(M.A.A.) Univ. de Blida 1

**Promoteur**

**Année universitaire 2020/2021**

## Résumé

Le blé est la deuxième céréale la plus cultivée à l'échelle mondiale et est la cible de nombreux champignons pathogènes des feuilles. Parmi ces maladies foliaires, l'oïdium causé par le champignon *Blumeria graminis* f. sp. *tritice*. A ce jour, l'utilisation de produits phytosanitaires conventionnels pour lutter contre cette maladie reste indispensable au maintien des rendements. Cependant, l'émergence de résistances aux fongicides chez le pathogène, et leur éventuel impact négatif sur l'environnement et la santé humaine, conduit à recourir à des alternatives plus durables. Il vise à développer des outils de bio-contrôle de l'oïdium de blé consiste à utiliser des organismes naturellement antifongiques ou bien capables de stimuler les défenses naturelles des plantes, comme champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA).

Ce travail contribue à la collecte bibliographique de travaux et recherches qui s'intéressent à utiliser les champignons arbusculaires comme agents de lutte biologique contre la maladie de l'oïdium du blé, dans le but d'augmenter le niveau de protection de ce dernier contre le pathogène responsable.

Cette synthèse bibliographique est concrétisée par le report de résultats d'un essai en conditions contrôlées réalisé sur des plants de blé inoculés par des champignons arbusculaires.

Des inocula de trois espèces de champignons mycorhizes *Rhizophagus irregularis* (Ri), *Funneliformis mosseae* (Fm) et un mélange commercial de *Rhizophagus irregularis* et *Funneliformis mosseae*, appelé Solrize, ont été testés sur un cultivar de blé. Les plants de blé mycorhizés et les plants témoins (non mycorhizés), ont été infectés par *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, après 42 jours de culture. Un effet protecteur de l'inoculation mycorhizienne à arbuscules contre l'oïdium du blé a été notable chez les plants mycorhizés par *Funneliformis mosseae* atteignant un taux jusqu'à 73%, ce qui montre la capacité des champignons arbusculaires à induire une résistance systémique chez le blé contre la maladie de l'oïdium du blé.

**Mots clé :** le blé, l'oïdium, champignons mycorhiziens à arbuscules, protection du blé.

## **Bibliographical summary on the protection of wheat against powdery mildew by arbuscular fungi.**

### **ABSTRACT**

Wheat, the second most cultivated cereal crop in the world, is the target of many foliar pathogenic fungi. Among these foliar diseases, powdery mildew caused by the fungus *Blumeria graminis* f. s. *tritici*. Nowadays, the use of conventional plant protection products to control this disease remains essential to maintain yields. However, the emergence of fungicide resistance in the pathogen, and its potentially negative impact on the environment and human health, leads to the need for more sustainable alternatives. The aim is to develop biocontrol tools for powdery mildew in wheat, using organisms that are naturally antifungal or capable of stimulating the plants' natural defenses, such as arbuscular mycorrhizal fungi (AMC).

This work contributes to the bibliographic review of researches on the use of arbuscular fungi as biological control agents against powdery mildew disease in wheat, with the aim of increasing the level of protection of the latter against the pathogen responsible.

This bibliographical synthesis is concretized by the report of the results of a trial under controlled conditions carried out on wheat plants inoculated with arbuscular fungi.

Inocula of three species of mycorrhizal fungi (*Rhizophagus irregularis*, *Funneliformis mosseae*) and a commercial mixture of *Rhizophagus irregularis* and *Funneliformis mosseae* (Solrize) were tested on a wheat cultivar. Mycorrhizal wheat plants and control (non-mycorrhizal) plants were infected with *Blumeria graminis* fsp. *tritici*, after 42 days of cultivation. A protective effect of arbuscular mycorrhizal inoculation against powdery mildew in wheat was noted, in mycorrhizal plants with *Funneliformis mosseae* reaching a rate up to 73%, showing the ability of arbuscular fungi to induce systemic resistance in wheat against powdery mildew.

**Key words:** wheat, powdery mildew, arbuscular mycorrhizal fungi, wheat protection.

## ملخص دراسة مرجعية عن وقاية القمح من البياض الدقيقي بواسطة الفطريات الشوكية .

### ملخص

القمح هو ثاني أكثر الحبوب المزروعة على نطاق واسع في العالم وهو هدف للعديد من فطريات الأوراق المسببة للأمراض. من بين أمراض الأوراق هذه، البياض الدقيقي الذي تسببه الفطريات *Blumeria graminis* f, sp. *Tritici* . حتى الآن، لا يزال استخدام منتجات الصحة النباتية التقليدية لمكافحة هذا المرض ضروريًا للحفاظ على الغلة. ومع ذلك، فإن ظهور مقاومة لمبيدات الفطريات في العامل الممرض، وتأثيرها السلبي المحتمل على البيئة وصحة الإنسان، يؤدي إلى اللجوء إلى بدائل أكثر استدامة. ويهدف إلى تطوير أدوات للمكافحة الحيوية لمرض البياض الدقيقي للقمح والذي يتكون من استخدام كائنات حية مضادة للفطريات بشكل طبيعي أو قدرة على تحفيز الدفاعات الطبيعية للنباتات، مثل الفطريات الجذرية الشوكية. (CMA)

يساهم هذا العمل في المجموعة الببليوغرافية للأعمال والبحوث المهمة باستخدام فطريات الميكوريزا الشجرية كعناصر تحكم بيولوجية ضد مرض البياض الدقيقي في القمح، وذلك بهدف زيادة مستوى الحماية ضد البياض الدقيقي. يتجسد هذا الملخص الببليوغرافي في تقرير نتائج اختبار تحت ظروف خاضعة للرقابة تم إجراؤه على نباتات القمح الملقحة بالفطريات الشجرية.

تم اختبار ثلاثة أنواع من فطريات الميكوريزا الشجرية (*Rhizophagus irregularis* (Ri) و *Funneliformis mosseae* (Fm) و خليط منتج تجاري مكون من *Rhizophagus irregularis* و *Funneliformis mosseae* ، على صنف من القمح. بعد 42 يومًا من من النمو، أصيبت هذه النباتات عمداً بالفطر الممرض *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* .

لوحظ وجود تأثير وقائي في القمح المستعمر بالفطر الميكوريزي الشجري ضد البياض الدقيقي، في النوع *Funneliformis mosseae* الذي تصل نسبته إلى 73٪، مما يدل على قدرة الفطريات الميكوريزية الشجرية على إحداث مقاومة جهازية في القمح ، ضد مرض البياض الدقيقي.

**الكلمات المفتاحية:** القمح، البياض الدقيقي، فطريات الميكوريزا الشجرية، وقاية القمح.

## **Remerciements**

**Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ma formation et pourvoir réaliser ce travail de recherche.**

**Mes remerciements particuliers à Mme Benkorteby, H pour sa gestion de qualité, sa motivation professionnelle, ses conseils et ses critiques constructives, ses corrections, ainsi que pour le temps qu'elle a consacré à la réalisation de ce travail.**

**Je tiens à remercier les membres du jury Mme bensaid, F et Mme Yala, A pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer mon travail.**

**De peur d'en avoir oublié, je souhaite remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de ce parcours universitaire.**

# **Dédicace**

**Je dédie ce mémoire à.**

**A mon père et ma mère et A ma sœur et mes frères pour leur amour inestimable, leurs sacrifices, leur confiance, leur soutien et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.**

**Ceux qui vous rendent plus intéressant... A toute ma famille et mes amis**

**Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin au bon déroulement de cette mémoire.**

## Liste des abréviations

**AJ:** Acide jasmonique

**Bgt :** *Blumeria. graminis* fsp. *tritici*

**CMA:** Champignon Mycorhizien Arbusculaire

**FAO:** Food Agricol Organization

**H2O2:** Peroxyde d'hydrogène

**h :** heure

**H:** Humidité

**hai:** Heures après infection/hours after infection

**J:** Jours

**M :** mycorhizé

**MIR:** Mycorrhizal Induced Resistance

**MT:** Million de tones

**MAMP:** Microbe-Associated Molecular Patterns (Motifs moléculaires associés aux microbes)

**NM:** non mycorhize

**Qx :** quintal.

**Protéines-PR:** Pathogenesis-related (PR) proteins

**T°:** Température

**T :** tonne

**TGA :** tube germinatif appressorial

**TGP:** tube germinatif primaire.

**%:** Pourcentage

**C°:** Degré celsius

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Modes de conservation des principaux agents pathogènes responsables des maladies fongiques du blé (Ezzahiri, 2001).....	8
<b>Tableau 0 2.</b> Impact de la concentration en phosphore (P, P / 5 et P / 10) sur la colonisation mycorhizienne de plantes inoculées ou non par trois types d'inoculums de champignons mycorhiziens arbusculaires : Ri, SZE® et Fm. ....	28
<b>Tableau 03 :</b> Impact des concentrations de phosphore sur les plants de blé non mycorhizien (NM) et le blé mycorhize (M) croissance après 6 semaines de culture.....	29
<b>Tableau 04 :</b> Impact des concentrations de phosphore sur l'infection du cultivar Orvantis par Bgt ( $5.10^5$ spores/ml). ....	30
<b>Tableau 05 :</b> Impact du type d'inoculum mycorhizien (Ri, SZE ou Fm) sur le taux de colonisation racinaire totale du cultivar de blé Orvantis après 6 semaines de culture.....	30
<b>Tableau 06 :</b> Impact des types d'inoculum mycorhizien sur la croissance du cultivar de blé Orvantis après 6 semaines de culture.....	31



## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : évolution de production de blé dans le monde de 2010 à 2014 (QX).....	4
<b>Figure 02</b> : Production et superficie récoltées de blé en Algérie, moyenne 1994-2016 (FAOSTAT, 2018).....	5
<b>Figure 03</b> : dessin présentant la différente partie du blé. (Archives Larousse).....	7
<b>Figure 04</b> : Coupe longitudinale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005).....	7
<b>Figure 05</b> : Symptômes d'oïdium sur les différentes parties du blé..... ( <a href="http://www.fiches.arvalis-infos.fr">http://www.fiches.arvalis-infos.fr</a> ).	11
<b>Figure 06</b> : cycle de développement de l'épidémiologie de L'oïdium de blé. Source : gembloux.ulg.ac.be/gembloux.ulg.ac.be.....	12
<b>Figure 07</b> : Arbre phylogénique des Glomeromycota (Schüßler et Walker, 2010), modifié par Schüßler ( <a href="http://schuessler.userweb.mwn.de/geosiphon/geosiphon_home.html">http://schuessler.userweb.mwn.de/geosiphon/geosiphon_home.html</a> ).....	17
<b>Figure 08</b> : principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale de racine (Le Tacon, 1985).....	19
<b>Figure 09</b> : Schéma récapitulant les principaux processus d'échanges de nutriments dans l'ensemble des symbioses mycorhiziennes (Bonfante & Genre, 2010). ....	21
<b>Figure 10</b> : Symptômes foliaires exprimés après 8 jours sur le cultivar de blé Orvantis infecté par Bgt (5.105spores /ml). ....	32
<b>Figure 11</b> : Impacts de l'inoculation mycorhizienne sur l'infection par Bgt. Des lettres différentes (a, b, c) indiquent une différence statistiquement significative entre les taux d'infection.....	32

## Sommaire

<b>Introduction générale</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I : synthèses bibliographique</b>	
<b>I. Le blé</b>	
<b>1. Généralités sur le blé</b> .....	<b>3</b>
<b>2. Répartition géographique et Importance économique de blé</b> .....	<b>3</b>
2.1. Répartition géographique .....	3
2.2 Importance économique de blé.....	3
2.2.1. Dans le mode .....	3
2.2.2. Position économique en Algérie.....	4
2.2.2.1. Les zones de production du blé en Algérie.....	4
<b>3. Les Différents types de blé</b> .....	<b>5</b>
3.1.Le blé dur.....	5
3.2. Le blé tendre .....	5
<b>4. Description botanique de blé</b> .....	<b>5</b>
4.1. Classification systématique .....	5
4.2. Morphologie du blé.....	6
<b>5. Les principales maladies cryptogamiques de blé</b> .....	<b>7</b>
5.1. Les maladies bactériennes.....	7
5.2. Les maladies fongiques.....	8
5.3. Les maladie virales .....	9
<b>II. Le pathosystème de <i>L'oidium</i> du Blé (<i>Blumeria graminis</i>)</b>	
<b>1. Généralité</b> .....	<b>10</b>
1.1. L'agent pathogène .....	11
1.2. Classification de <i>Blumeria graminis</i> .....	12
<b>2. Symptômes</b> .....	<b>12</b>
<b>3. Cycle de développement du pathogène</b> .....	<b>12</b>
<b>4. Mécanisme d'infection par <i>Blumeria graminis</i></b> .....	<b>12</b>
4.1. Germination des spores .....	12
4.2. Pénétration .....	13
4.3. Propagation .....	13
<b>5. Conditions favorable au développement de la maladie</b> .....	<b>14</b>
5.1. Facteurs climatique.....	14
5.2. Facteurs agronomique .....	14

<b>6. La lutte contre L'oïdium du Blé</b> .....	14
6.1. Lutte chimique .....	14
6.2. Lutte culturale .....	14
6.3. Lutte biologique .....	15
<b>III .Les Champignons mycorhiziens à arbuscules</b> .....	15
<b>1. Généralités sur mycorhiziens à arbuscules</b> .....	15
<b>2. Symbiose mycorhizienne</b> .....	16
<b>3. Les types de champignons mycorhiziens</b> .....	17
3.1. Les ectomycorhizes .....	17
3.2. Les ectendomycorhizes .....	18
3.3. Les endomycorhizes .....	18
3.3.1. Les endomycorhizes arbusculaires .....	19
<b>4. L'effet de symbiose mycorhiziens à arbuscules sur le blé contre L'oïdium</b> .....	20
4.1.Échange de nutriments .....	20
4.2. Le rôle bioprotecteur des champignons mycorhiziens à arbuscules .....	21
4.3. Résistance induite par le mycorhize (MIR) .....	23

## **Chapitre II : Matériels et Méthodes**

<b>1. Matériels et Méthodes</b> .....	24
1.1. Matériel biologique.....	24
1.1.2. Matériel fongique mycorhizien.....	24
1.2. Méthode expérimentale .....	24
1.2.1 Préparation du substrat et des cultures .....	24
1.2.2. Inoculum mycorhiziens .....	25
1.2.3. Facteur de concentration de phosphore .....	25
1.2.4. Infection par l'agent pathogène B. graminis.....	26
1.3. Détermination du taux mycorhizien .....	26
1.5. Mesure des paramètres de croissance des plantes.....	27

## **Chapitre III : RÉSULTATS et DISCUSSION**

<b>1. RÉSULTATS</b> .....	28
1. Effet de la concentration de phosphore.....	28
2. Effet de type inoculums de champignon arbusculaire sur l'infection du blé par Bgt.....	30
<b>2. DISCUSSION</b> .....	33
<b>Conclusion générale</b> .....	34

## **Références bibliographiques**

## **Annexes**



# **Introduction générale**

## Introduction

Les céréales et leurs dérivées constituent la source importante du système alimentaire algérien, et particulièrement les blés qui font partie du paysage agricole et socioculturel de l'Algérie. Elles occupent les plus grandes superficies et leur grain constitue la base de l'alimentation humaine et animale. Le blé est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité, on estime que la demande s'est élevée à 1 milliard de tonnes en 2020 (Ait kaki, 2008).

Le blé peut subir de nombreuses maladies à différents stades de son développement. Ces dernières peuvent occasionner des pertes importantes lorsque les variétés utilisées sont sensibles et les conditions de l'environnement sont favorables à l'expansion de la maladie (Hannouni, 2012).

Les champignons sont les plus répandus et les plus dévastateurs pour les cultures de blé (Ezzahiri, 2001 ; Zahri et al., 2014). Parmi ces maladies, le blé est fréquemment sujet aux attaques d'oïdium causées par le champignon phytopathogène *Blumeria graminis* f. sp. *Tritici*.

Ce champignon ectoparasite est un parasite obligatoire qui établit une interaction au sein des cellules épidermiques infectées, afin de prélever les nutriments nécessaires à la croissance fongique. Il perturbe la physiologie de la plante entière.

Le contrôle biologique des maladies par l'introduction de micro-organismes bénéfiques dans la rhizosphère peut être une solution de rechange ou complémentaire à l'utilisation des produits chimiques de synthèse nécessitant de l'utilisation intensive et systématique de fongicides, avec pour conséquences des problèmes environnementaux et de santé publique. Globalement, l'effet protecteur conféré par ces agents de lutte biologique est basé sur la compétition pour les nutriments essentiels, sur l'activité antagoniste vis-à-vis de la croissance des pathogènes via la production d'antibiotiques ou d'enzymes et /ou sur leur capacité à stimuler des systèmes de défense chez l'hôte végétal (Choudhary et al., 2009).

Les racines des plantes peuvent s'associer avec d'autres organismes et notamment avec des champignons en constituant des symbioses qui prennent le nom de mycorhizes. Celles-ci sont bénéfiques pour les plantes (et pour les champignons). Elles leur assurent une meilleure alimentation hydrominérale et une protection contre les pathogènes ce qui pourrait remplacer les intrants chimiques.

La symbiose mycorhizienne joue un rôle significatif en agriculture, notamment en facilitant la nutrition des plantes et l'amélioration de leur résistance envers les stress biotiques et abiotiques. Parmi les microorganismes symbiotiques, les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) s'associent avec plus de 80 % des plantes terrestres (Smith et Read, 2008). Ils sont considérés

comme des acteurs clés des services écosystémiques. Grâce à leur réseau mycélien, les CMA améliorent l'absorption de l'eau et des éléments minéraux chez la plante.

C'est dans ce cadre d'idées que s'insère notre travail qui vise l'évaluation de l'impact d'efficacité des champignons mycorhiziens arbusculaires sur la résistance de blé contre la maladie cryptogamie de l'oïdium.

Le présent mémoire est structuré en trois chapitres :

- Une première chapitre représente une synthèse bibliographique sur les blés, le maladie fongique l'oïdium, et sur la symbiose mycorhizienne à arbuscules.
- Dans le second chapitre Matériel et Méthodes, réalisé une étude comparative entre les plants mycorhizés et un plante témoin, et déterminer l'influences l'inoculum mycorhiziennes.
- Le troisième chapitre résume les résultats et les données obtenus ainsi que la discussion.

Nous terminons par une conclusion et perspectives.

# **Chapitre I : Synthèse bibliographique**



## **I. Le blé**

### **1. Généralités**

Le blé est la céréale la plus cultivée dans le monde et la plus consommée par l'homme (Ricroch *et al.* 2011) avec une production annuelle mondiale d'environ 600 millions de tonnes. Elle est principalement cultivée entre les latitudes de 30°N à 60°N et de 27°S à 40°S, à plus de 3000 mètres au-dessus du niveau de la mer, et dans des endroits où la température est comprise entre 3° et 32° Celsius. Le blé s'adapte à un large éventail de conditions d'humidité, de la sécheresse à l'humidité de l'air et l'humidité des bords de mer.

### **2. Répartition géographique et Importance économique du blé**

#### **2.1. Répartitions géographique**

La culture du blé est retrouvée dans l'ouest de l'Iran, l'est de l'Irak, le sud et l'est de la Turquie. Elle s'est étendue jusqu'au Nil en Egypte où des variétés de blé ont été découvertes dans les temples égyptiens. Toutes les espèces de blé spontanées et cultivées appartiennent au genre *Triticum* et sont distribuées sur un vaste territoire qui s'étale de l'Asie centrale aux régions du bassin méditerranéen (Verville, 2003).

La culture du blé s'est étendue vers le Nord-Ouest par les plaines côtières du bassin méditerranéen et au travers des Balkans (Russie) puis en suivant la vallée du Danube (Allemagne) pour arriver à la vallée du Rhin (France) et l'Ouest de l'Europe entre 5000 et 6000 ans avant J.C.

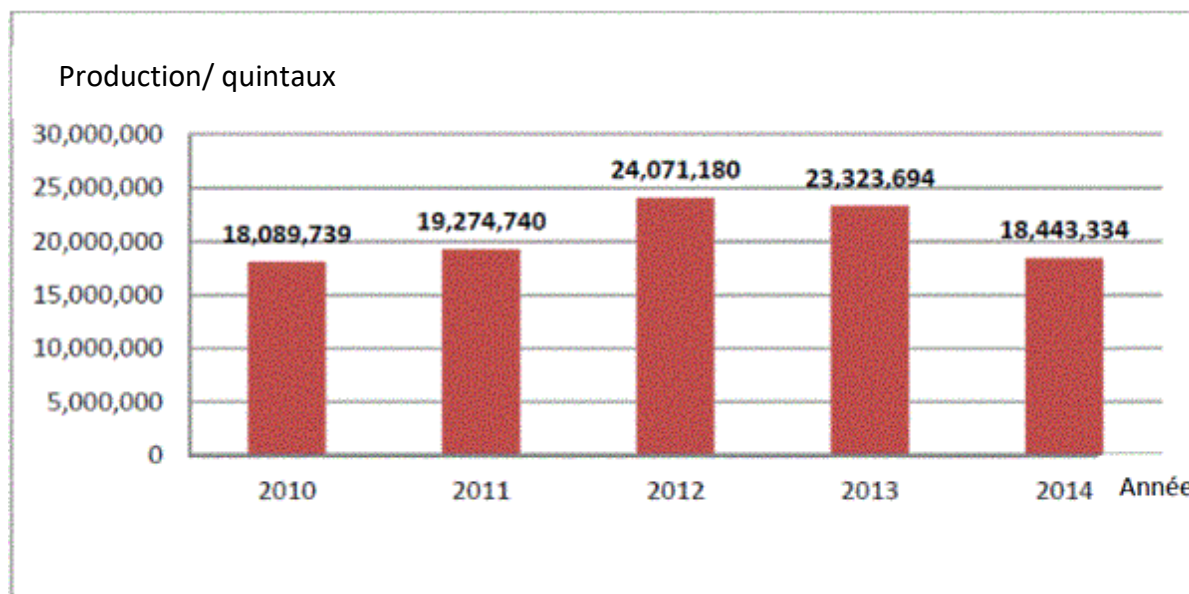
#### **2.2. Importance économique de blé**

##### **2.2.1. Dans le monde**

Le blé est l'un des plus cultures importantes actuellement cultivées dans la plupart des régions du monde. La culture est parmi les trois principales céréales du monde revenues d'exportation avec d'autres, y compris le maïs et le riz (Tong *et al.*, 2003). Il constitue plus de 40 % des aliments de base dans la nourriture du monde et 95 % des habitants des pays en développement consomment le blé sous forme de farine comme aliment de base principal source (Akhtar *et al.*, 2011 ; Coventry *et al.*, 2011).

L'Union européenne vient en tête, en termes de production, avec une moyenne de 147,0 millions de tonnes, puis la Chine continentale avec une production moyenne de 126,05 millions de tonnes, suivie de l'Inde avec une production de 94,5 millions de tonnes.

Ces trois pays fournissent environ 56 % du blé produit dans le monde. Ce sont les principaux pays exportateurs de blé dans le monde.



**Figure 01 :** Evolution de production de blé (QX) dans le monde de 2010 à 2014. (MADRP 2010 -2014)

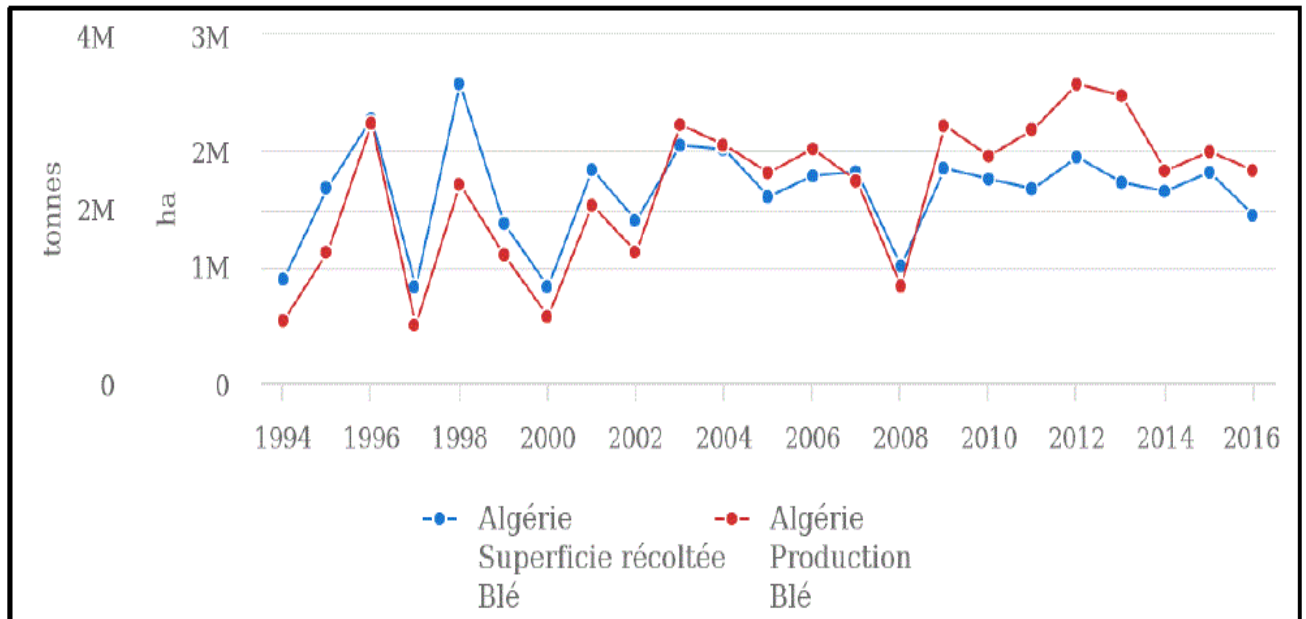
### 2.2.2. Position économique en Algérie :

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement. Chaque année, environ 3,3 millions d'hectares sont consacrés à des cultures céréalières dont environ 1,5 million d'hectares sont plantés de blé dur, 600 000 hectares de blé tendre. Ceux-ci étant le produit de consommation de base, les habitants des pays magrébins sont les plus gros consommateurs de cette denrée au monde notamment l'Algérie avec près de 600 grammes par personne et par jour (Abis, 2012). Cette consommation de blé a légèrement augmenté ces dernières années en raison de l'urbanisation accrue, de la croissance de la population et de l'augmentation de la capacité de broyage, mais devrait rester plus ou moins stagnante (Hales et Rush, 2016).

La superficie agricole emblavée par le blé a connu une évolution considérable. L'augmentation (+16 %) de la superficie est due à l'importance économique de cette culture et à la mise en œuvre d'un programme d'intensification des céréales dans les zones potentielles.

.Selon la FAO durant l'année 2014 l'Algérie est classée en quatrième position au niveau Africaines et à la dix-septième position au niveau mondial avec une production du blé de 2.4

millions de tonnes, collette est constituée en moyenne de blé dur 58,7%, blé tendre 33% (FAO, 2014).



**Figure 02 :** Production et superficie récoltées de blé en Algérie, moyenne 1994-2016 (FAOSTAT, 2018)

### 2.2.2.1. Les zones de production du blé en Algérie

On distingue parmi les grandes zones agro-écologiques :

- Les plaines littorales et sub-littorales avec un climat sub-humide tempéré par les influences maritimes, ainsi que le nord des hauts plateaux, constituent une zone à hautes potentialités.
- Le sud des hauts plateaux marqué par l'altitude, la continentalité et la faiblesse de la pluviométrie.
- La zone steppique où la culture des céréales est pratiquée de manière irrégulière, par des systèmes de production dominés par la culture de l'orge et de l'élevage ovin.
- Les zones du sud où se pratique la céréaliculture sous irrigation, dans les oasis en culture sous-étages, ou bien en céréaliculture intensive sous pivots (Anonyme, 2000).

### 3. Les Différents types de blé

Les deux espèces de blé les plus cultivées et présentant un important d'intérêt économique sont :

**3.1 Le blé dur :** Le blé dur *Triticum turgidum* var. *durum* possédant  $4n=28$  chromosomes, cultivée surtout en zones arides et semi-arides, les grains servent principalement à la fabrication de semoule utilisée notamment dans les pâtes alimentaires (Clarke *et al.*, 2005)

**3.2. Le blé tendre :** Le blé tendre *Triticum aestivum* var. *aestivum* possédant  $2n=42$  chromosomes avec une adaptation agro-technique est très large (Fritas, 2012). Le plus cultivé et utilisé dans la production de farine panifiable.

### 4. Description botanique de blé

#### 4.1. Classification systématique

Le blé est une monocotylédone appartenant au genre *Triticum*. Cette plante annuelle produit un fruit sec indéhiscant, le caryopse. Le blé est une plante herbacée annuelle, de hauteur pouvant atteindre 1,70 m.

Selon Cronquist et Takhtadzhian (1981) et la classification APG III (Angiosperm Phylogeny Group) (2009), la classification du blé se présente ainsi :

<b>Règne :</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne :</b>	<b>Tracheobionta</b>
<b>Division :</b>	<b>Magnoliophyta</b>
<b>Classe :</b>	<b>liliopsida</b>
<b>Sous classe :</b>	<b>Commelinidae</b>
<b>Ordre :</b>	<b>Cyperales</b>
<b>Famille :</b>	<b>Poaceae</b>
<b>Sous famille :</b>	<b>Pooideae</b>
<b>Tribu :</b>	<b>Triticeae</b>
<b>Genre :</b>	<b><i>Triticum</i> L., 1753</b>

## 4.2. Morphologie du blé :

Le blé est une graminée de hauteur moyenne dont la structure morphologique générale suivante :

Un pied de blé comprend un système racinaire fasciculé (les racines ont toutes la même taille et s'étalent à l'horizontale), plusieurs tiges et des feuilles allongées.

Une **tige** généralement cylindrique, appelée chaume dressée creuse est cloisonnée par des nœuds pleins et renflés (Auriau *et al.*, 1992).

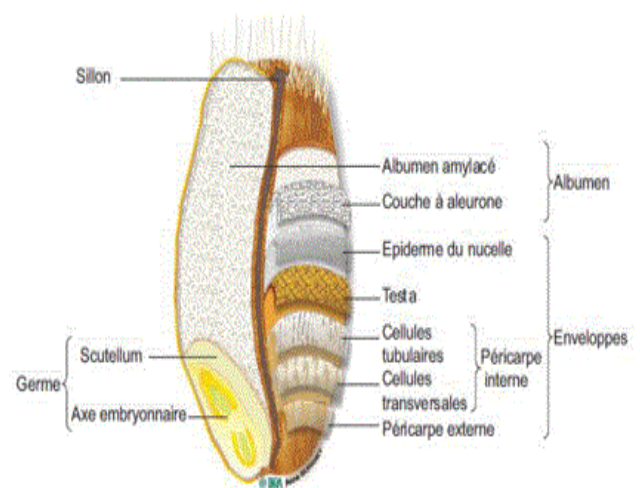
Un **épi** composé de petits épis ou épillets. Chaque épillet est enveloppé de deux bractées protectrices appelées glumes. Il est composé de trois, quatre, cinq fleurs avec une fleur terminale stérile (Bozzini, 1988).

Une **fleur** est verdâtre et dépourvue de corolle : il n'y a pas de pétales colorés. Le calice est formé de deux minuscules écailles ou glumelles jouant le rôle de sépales (Bozzini, 1988).

Un **grain (fruit)** sec indéhiscent (caryopse) constitué d'une unique graine intimement soudée à l'enveloppe qui la contient. De la surface externe vers le centre du grain, on distingue l'enveloppe, l'albumen et le germe



**Figure 03 :** dessin présentant les différentes parties du blé. (Archives Larousse)



**Figure 4 :** Coupe longitudinale d'un grain de blé (Surget et Barron, 2005)

Les maladies des céréales peuvent être classées selon leurs symptômes spécifiques qu'elles induisent et les parties de plante qu'elles affectent (Aouali et Douici-Khalfi, 2009). De ce fait on distingue :

- Maladies du pied (*piétin verse*, *piétin échaudage*, *rhizoctone*, *fusariose*) : ces maladies causent des fontes de semis. Elles affectent donc la première composante du rendement.
- Maladies foliaires (*septorioses*, *rouilles*, *oïdium*) : maladies qui affectent le feuillage en diminuant la surface foliaire (photosynthèse).
- Maladies de l'épi (*fusariose*, *septoriose nodorum*, **caries**, *charbons*) : elles affectent la qualité du grain.

Cependant, parmi les nombreuses maladies du blé, l'oïdium causé par *Blumeria graminis* s'avère l'une des principales infections pathogènes qui menace les céréales.

## **5. Les principales maladies cryptogamiques du blé :**

Le blé est l'une des principales cultures et le produit agricole le plus important dans le monde. Il est susceptible d'être attaqué par des maladies cryptogamiques.

### **5.1. Les maladies bactériennes**

Les bactéries phytopathogènes sont de petits bâtonnets unicellulaires de 1 à 3 µm de long. Elles n'ont pas de noyau distinct, ni de membrane nucléaire. Ces bactéries sont disséminées par les insectes, par le vent, les éclaboussures d'eau de pluie et les moyens mécaniques (comme le sarclage des mauvaises herbes). L'infection requiert la présence de l'eau libre pour se produire. Elles envahissent cependant le système vasculaire ou les espaces intercellulaires et provoquent ainsi la nécrose par les toxines ou les enzymes qu'elles secrètent (Prescott, 1987).

Parmi les bactérioses du blé on peut citer :

- La maladie des glumes noires et stries bactériennes ou Black Chaff causée par *Xanthomonas campestris*,
- La bactériose des glumes et brûlure bactérienne de la feuille causée par *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* Syn. *Pseudomonas atrofaciens*,
- La brûlure bactérienne de l'épi (pourriture jaune de l'épi) causée par *Rathayibacter tritici* (ex *Corynebacterium tritici*).

## 5.2. Les maladies fongiques

La culture de blé peut être attaquée par de nombreuses maladies fongiques à différents stades de son développement. Ces maladies sont à caractère explosif et peuvent se propager très rapidement sur les variétés sensibles, lorsque les conditions climatiques leur sont favorables. Les agents pathogènes responsables des maladies fongiques du blé provoquent des symptômes qui leur sont spécifiques (Ezzahiri, 2001). On peut citer :

**Tableau 1.** Modes de conservation des principaux agents pathogènes responsables des maladies fongiques du blé (Ezzahiri, 2001).

Mode de conservation	Agents pathogènes	Maladies
Sol	<i>Fusariumculmorum</i>	Pourritures racinaires
	<i>Fusariumgraminearum</i>	
	<i>Cochliobolussativus</i>	Charbon foliaire
Semence	<i>Ustilagonuda</i>	Charbon nu
	<i>Tilletia caries</i>	Carie
	<i>Septoria nodorum</i>	Septoriose des épis (glume blotch)
Chaumes	<i>Erysiphe graminis f. sp. Tritici</i>	Oïdium des feuilles (leafblotch)
	<i>Septorianodorum</i>	Septoriose des épis (glume blotch)
	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	Tache bronzée
Chaumes + hôtesalternatifs	Rouille brune	Rouille brune
Repousses des plantes hôtes	<i>Puccinia graminis f. sp. Tritici</i>	Rouille noire
	<i>Puccinia striiformis</i>	Rouille jaune

## 5.3. Les maladies virales ou viroses

Les viroses sont souvent difficiles à détecter car les hôtes infectés ne présentent pas toujours de symptômes visibles ou ceux-ci sont identiques à de nombreuses anomalies physiologiques ou génétiques. Parmi les maladies virales les plus répandues sur les céréales, la jaunisse nanisante

de l'orge causée par le BYDV (Barley yellow dwarf virus), car elle affecte non seulement l'orge, mais aussi le blé, le triticale, l'avoine et de nombreuses graminées.

## II. La maladie de l'oïdium du blé (*Blumeria graminis*)

### 1. Généralité

*L'oïdium* est une maladie qui affecte un large éventail de plantes et est causée par de nombreuses espèces différentes de champignons. La maladie est facile à diagnostiquer car ses symptômes sont assez distinctifs. Infectant plus de 650 espèces de monocotylédones et plus de 9000 espèces de dicotylédones. Ces champignons causent de graves maladies des plantes cultivées (Nowara et al., 2010).

#### 1.2. L'agent causal

la maladie causée par le champignon *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (syn. *Erysiphe graminis*) dont la forme asexuée est *Oïdium moniloides*. C'est un haustorium hautement spécialisé formant parasite. Il peut contaminer le blé pendant toute la durée de la culture. La sous-espèce *tritici* n'affecte que le blé. Il est considéré comme un pathogène biotrophe obligatoire car il dépend d'une plante vivante pour sa croissance et sa propagation (Both et Spanu, 2004 ; Oberhaensli et al., 2011). *L'oïdium* est susceptible d'endommager aussi bien les feuilles, les tiges, que les épis. La nuisibilité devient plus importante lorsque l'épi est contaminé. Dans les cas graves d'infection, la feuille entière devient jaune et meurt.

#### 1.3. Classification de *Blumeria graminis*

Sur la base de la classification de « index species fungorum » et « MycoBank » (2021), le champignon présente la classification suivante :

Règne :	Fungi
Phylum :	Ascomycota
Classe :	<u>Leotiomycetes</u>
Ordre :	Erysiphales
Famille :	Erysiphaceae
Genre :	<i>Blumeria</i>
Espèce:	<i>Blumeria graminis</i>

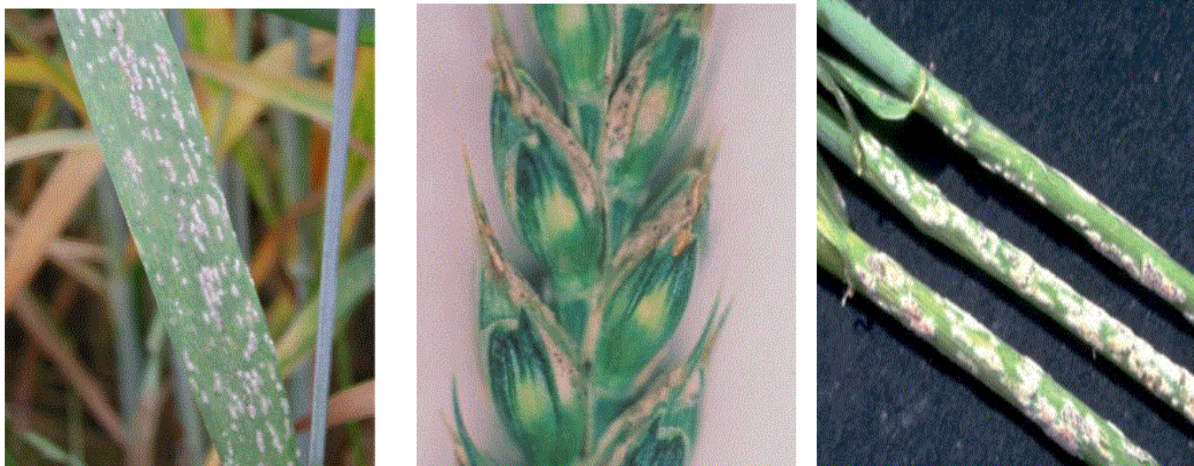


## 2. Symptômes

*L'oidium* apparaît généralement sous forme de plaques blanches et cotonneuses (masses de fils fongiques et de spores du champignon causal) sur la surface supérieure des feuilles. Des taches peuvent également apparaître sur les surfaces inférieures des feuilles, ainsi que sur les tiges, les têtes de graines et les arêtes. La croissance fongique est confinée principalement à la surface de la plante, avec seulement une pénétration limitée du champignon dans les tissus végétaux.

à mesure que la croissance fongique vieillit, elle passe du blanc au gris terne ou au brun clair. à pleine maturité, le champignon forme des structures de reproduction appelées chasmothécies, qui ressemblent à de petits points noirs ou à de minuscules graines, parmi les fils fongiques.

A la longue se développent dans le mycélium des périthèces, fructifications noires et sphériques visibles à l'œil nu. Durant la progression de la maladie, les duvets se développent sur les feuilles des étages supérieurs. Quand l'attaque est sévère, les taches d'oidium apparaissent sur les graines des feuilles et les glumes des épis (Sayoud et *al.*, 1999).



Symptôme sur la feuille

symptôme sur épi

Symptômes sur le grain

**Figure 05 :** Symptômes *d'oidium* sur les différentes parties du blé

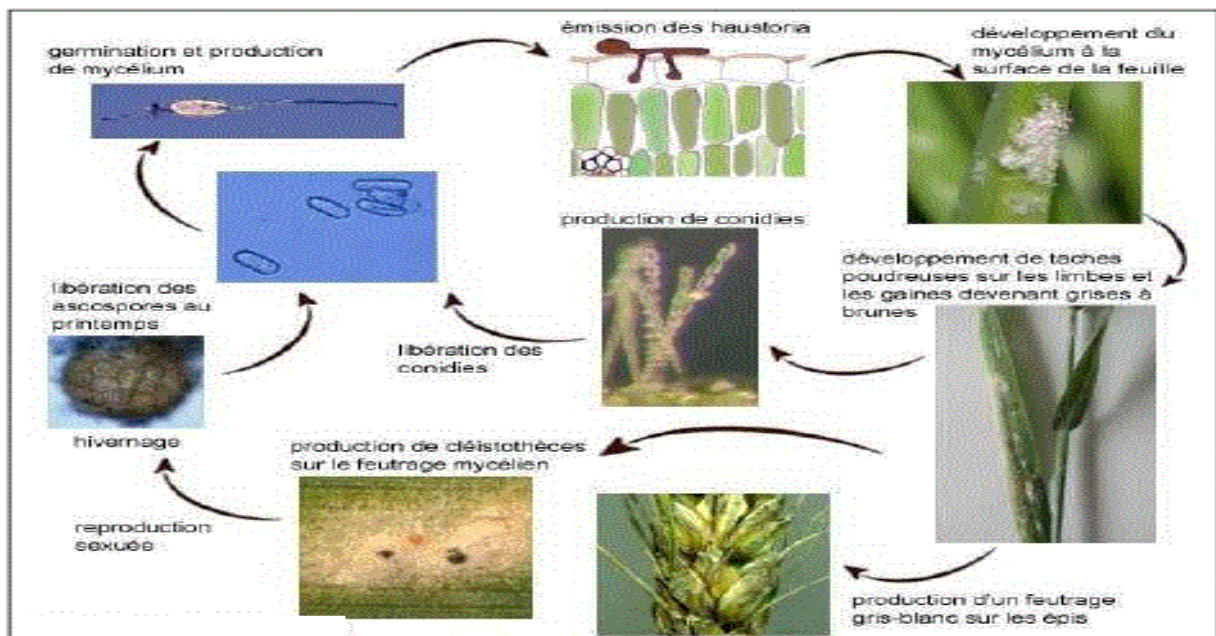
(<http://www.fiches.arvalis-infos.fr>).

## 3. cycle de développement du pathogène

*L'oidium* infecte la plante hôte par le dépôt des conidies, véhiculées par l'air, sur différents organes de la plante. Dans les zones à climat sec, le champignon se conserve sous forme de cléistothèces et dans les régions humides, il persiste sous forme de conidies ou de mycélium. La conservation se fait également sur les repousses de céréales et sur les graminées sauvages et les résidus des cultures, comme les pailles à partir desquelles se produisent la contamination (Chamont et Gil, 2014). *L'oidium* est caractérisé par un cycle de développement formé d'une

phase sexuée qui produit des cléistothèces et une phase asexuée qui produit des conidies (Figure 08). Les conidies et les ascospores sont toutes infectieuses, mais la phase asexuée est largement prédominante dans les épidémies observées au sein des écosystèmes agricoles (Reignault, 2002).

A partir du mycélium, les conidiophores se développent et libèrent de nouvelles conidies capables d'induire de nouvelles infections. Plus tard, la reproduction sexuée du champignon aboutit à la production des cléistothèces contenant des ascospores à l'intérieur des asques. L'induction de l'infection primaire pendant la saison de végétation suivante est due au développement du mycélium en conservation ou à la germination des ascospores libérées à partir des asques qui sont déchargés à partir des cléistothèces (Nasraoui, 2006).



**Figure 06** : cycle de développement de l'épidémiologie de *L'oidium* de blé.

(Source : [gembloux.ulg.ac.be](http://gembloux.ulg.ac.be) / [begembloux.ulg.ac.be](http://begembloux.ulg.ac.be))

#### 4. Mécanisme d'infection par *Blumeria graminis f. sp. tritici*

Le processus se déroule en trois étapes principales :

##### 4.1. La germination des conidies

Les conidies infectieuses caractéristiques de *l'oidium* ne germent pas en général si elles sont encore attachées aux conidiophores de la colonie mère. Cependant dès que les conidies adhèrent à la plante, un stimulus de contact est émis par chacun des deux partenaires (Carver *et al.*, 1996), et les conidies entrent ainsi rapidement dans le processus de germination, par l'émergence d'un tube germinatif primaire ( TGP) très court et se forme une à deux heures après la perception du

stimulus de contact, et participe activement à l'adhésion de la structure fongique sur la surface de l'hôte (Giese et *al.*, 1997). Puis après cinq à huit heures de la perception du stimulus de contact, se forme un tube plus long que le TGP : le tube germinatif appressorial (TGA). La perception de ce stimulus par le tube germinatif primaire au contact de l'épiderme conditionne l'élongation de le tube germinatif appressorial (Reignault, 2002). Des températures optimales de 15°C et un taux d'humidité relative supérieure à 95% constituent des conditions favorables à la germination des conidies (Chamont et Gil, 2014).

#### **4.2. La pénétration :**

Afin d'établir l'infection, le tube germinatif appressorial (TGA) repousse la membrane plasmique de la cellule végétale et croît jusqu'à former une structure d'absorption spécialisée définie sous le terme d'haustorium ou suçoir. L'haustorium est constitué d'un corps qui émet des digitations latérales servant à augmenter la surface de contact avec l'intérieur de l'hôte (Manners et Gay, 1983). Il est uni-nucléé et est impliqué dans des fonctions bien précises comme le transfert de nutriments au cours de l'interaction entre blé et *Blumeria graminis*, cas du glucose à partir du blé vers l'agent causal *Blumeria graminis f. sp. Tritici*- (Sutton et *al.*, 1999; Manners et Gay, 1982).

La reconnaissance des molécules « signal » potentielles, dont la nature reste encore à déterminer (Heath et Skalamera, 1997).

#### **4.3. La propagation :**

La sporulation se déroule de façon continue et son intensité reste néanmoins très fortement dépendante des conditions externes qui sont l'état physiologique de la plante et les conditions climatiques. La dissémination se fait par la dispersion des conidies par l'air (Giese et *al.*, 1997).

### **5.1 Conditions favorables au développement de la maladie**

Le développement de l'oïdium de blé dépend de facteurs telle que :

#### **5.1. Facteurs climatique**

**Vent** : le vent est un facteur de propagation de la maladie, Au printemps l'air en favorisant la dissémination des conidies avec les montées de température (Rouzet et *al.*, 2007).

**Température** : Leur germination se produit dans une large fourchette de températures optimales pour le développement du champignon est entre 22 et 28°C. A 25°C, l'oïdium ne se

développe plus et meurt au-delà de 45°C. La température minimale de germination des conidies est de 5-7°C et s'accélère nettement à partir de 16-21°C (Constant, 2008).

**Humidité** : Les pluies fines favorisent le développement de l'oïdium en augmentant l'humidité de l'air, contrairement aux fortes pluies qui lessivent les colonies établies.

La germination des conidies est favorisée par de fortes hygrométries (au-delà de 70% d'humidité relative): la production de conidies est doublée en 24 heures lorsqu'un taux humidité relative passe de 30-40% à 100% (Galet, 1999).

## 5.2. Facteurs agronomique

Dans un plan agronomique, la sensibilité variétale, les dates et les densités de semis, les fertilisations azotées excessives et l'irrigation sont des facteurs qui influent sur le risque de développement de l'oïdium (Chamont et Gil, 2014).

## 6. La lutte contre l'oïdium du Blé

Les méthodes de lutte contre les maladies cryptogamiques du blé (*l'oïdium*) vise à minimiser et retarder le développement des maladies, afin d'éviter qu'elles n'atteignent pas les feuilles supérieures qui contribuent à plus de 50 % au remplissage du grain (Lacroix, 2002). La lutte peut être chimique, culturales ou biologique

### 6.1. Lutte chimique

La lutte chimique contre *Blumeria graminis* se caractérise par l'apparition régulière d'une diminution de la sensibilité des souches aux molécules employées. A titre d'exemple, on observe une forte résistance de l'agent pathogène vis-à-vis des strobilurines qui ne sont plus conseillées contre l'oïdium en Belgique (Moreau, 2011) et en France (Anonyme, 2014b). Cependant, l'association de plusieurs molécules actives montre une efficacité considérable contre l'oïdium (Anonyme, 2014b).

Actuellement, plusieurs familles de fongicides sont utilisées contre *B. graminis*:

- Les triazoles ; inhibiteurs de la synthèse des stérols
- Les 2-aminopyrimidines ; inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques spécifique
- Les strobilurines qui inhibent le site d'oxydation du coenzyme externe des mitochondries
- Et les phénoxyquinoléines (Bernard et Rameil, 2005).

## **6.2. La lutte culturale :**

La lutte culturale sont atténuer la sévérité des maladies, à partir d'application des pratiques culturales et les rotations avec des cultures nettoyantes (Shipton *et al.*, 1971 ; King *et al.*, 1983) ont noté que pendant longtemps, il a été recommandé de brûler les résidus de culture. Actuellement ce n'est plus le cas, car il arrive que des températures atteintes par cette action ne soient pas assez efficaces pour éliminer tous les débris et laissent de ce fait suffisamment de restes infectés pour maintenir l'inoculum à une autre culture de blé (Eyal, 1981).

## **6.3. La lutte biologique**

La lutte biologique se définit comme étant l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits pour lutter contre d'autres organismes jugés nuisibles, également appelés biopesticides. Elle a pour but de maintenir la population d'organismes bioagresseurs en dessous d'un seuil de nuisibilité. C'est une méthode de lutte en utilisant des organismes vivants antagonistes, appelés agents de lutte biologique (qui appartiennent au groupe des auxiliaires des cultures), sans faire appel à des pesticides (Milaire, 1995).

Un symptôme de maladie accru se trouve souvent dans les plantes attaquées par un champignon biotrophique foliaire (Pozo et Azcon-Aguilar, 2007). En ce qui concerne *l'oïdium*, Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA), en tant que symbiotes racinaires de nombreuses espèces végétales terrestres, jouent plusieurs rôles importants dans les systèmes agricoles (Thirkell *et al.*, 2017), y compris pour les cultures céréalières telles que le blé. Ces rôles comprennent l'amélioration de l'acquisition des nutriments et de l'absorption d'eau, une meilleure structure du sol et une résistance induite par la mycorhize pour le contrôle des maladies des plantes.

## **III. Les Champignons mycorhiziens à arbuscules**

### **1. Généralités sur les champignons mycoriziens**

Le terme mycorhize (du grec *myco*, qui signifie champignon, et *rhiza* qui signifie racine) a été utilisé pour la première fois par le botaniste allemand Frank en 1885 pour décrire les organes mixtes racines-champignons cités par ses prédécesseurs depuis plusieurs décennies. Cependant, c'était les ectomycorhizes qui ont été d'abord reconnues comme une symbiose mutualiste entre les plantes et les champignons. En 1877, Frank a été le premier à attribuer au mycorhize arbusculaire le statut de symbiose '*symbiotismus*' (du grec *sym* qui signifie ensemble, et *bio* qui

signifie vie) comme un terme neutre n'impliquant pas de parasitisme mais qui est basé sur la coexistence régulière d'organismes différents.

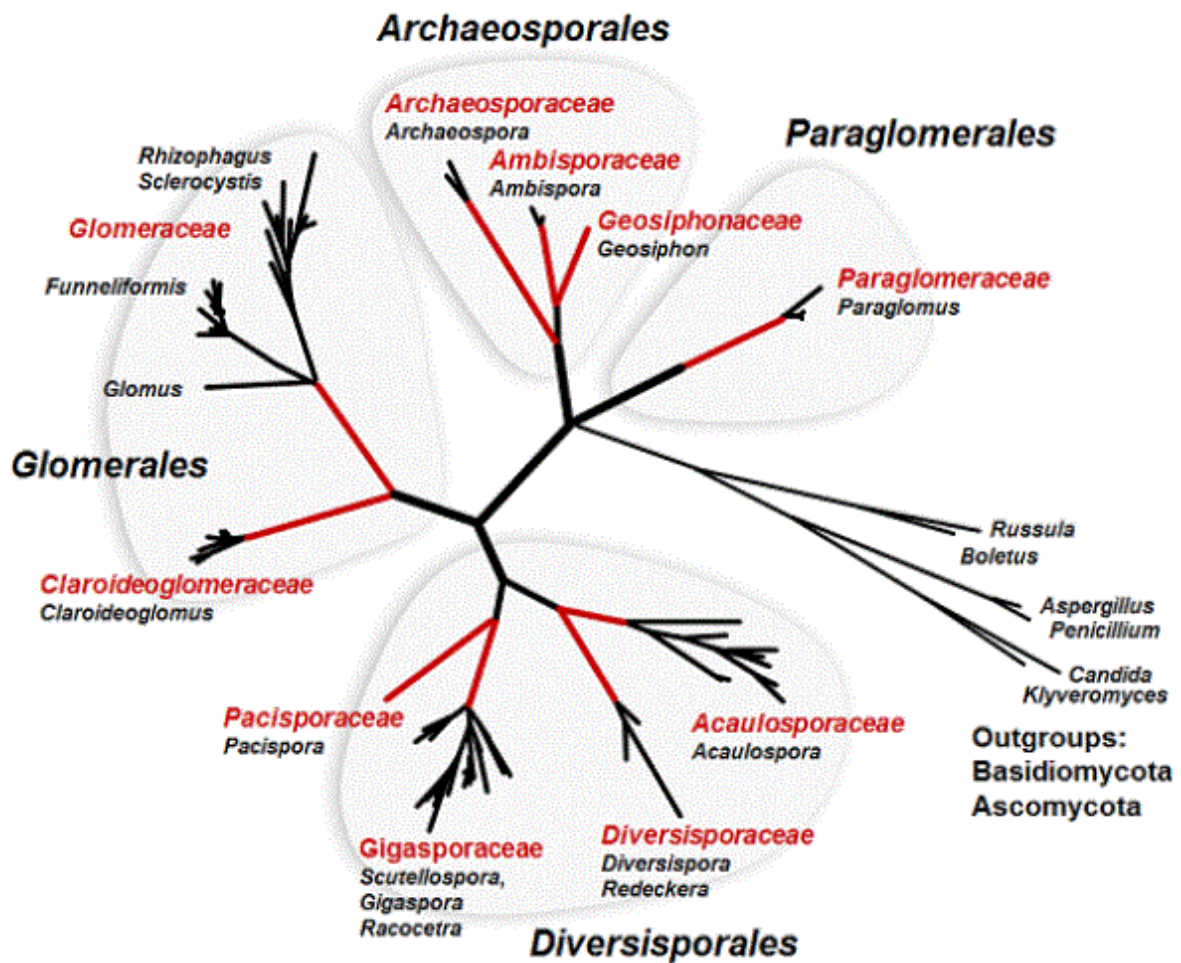
Ce champignon peut provenir de propagules ou être un hyphe d'une plante mycorhizée à proximité. Les symbioses mutualistes, où les partenaires coexistent activement d'un point de vue physiologique, écologique et reproductif (Harley, 1989) Il est actuellement admis que la symbiose mycorhizienne est une association obligatoire et à bénéfice réciproque entre une racine de plante et un champignon.

## **2. Symbiose mycorhizienne**

Dans les plantes mycorhizienne, plus de 80% des plantes terrestres forment des symbioses mycorhiziens arbusculaires et tout particulièrement la très grande majorité des plantes cultivées (Gianinazzi-Pearson 1976 ; Newman et Reddell, 1987; Wang et Qui, 2006). Les champignons mycorhizogènes à arbuscules (CMA) impliqués font partie du phylum des Gloméromycètes qui a été subdivisé en quatre ordres (Glomérales, Archéosporales, Paraglomérales et Diversisporales) regroupant entre 150 et 200 espèces (Schüssler *et al.*, 2001). Les champignons formant les mycorhizes arbusculaires sont tous des biotrophes obligatoires ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas vivre en absence des racines. Les hyphes issus de la germination des spores ne présentent qu'une croissance limitée et ils doivent coloniser les tissus des racines d'une plante hôte pour se multiplier et se développer sur le long terme (Sekhara Reddy *et al.*, 2009).

### **2.1. Classification des champignons mycorhiziens à arbuscules**

Les champignons mycorhizogènes à arbuscules qui faisaient partie du phylum des Basidiomycètes, ont été déplacés dans un nouvel embranchement créé spécialement pour eux, les Gloméromycètes (Schüßler & Walker, 2010). Différentes clés d'identification basées sur les caractéristiques morphologiques des spores, et sur des analyses moléculaires, en particulier sur l'analyse de la sous unité ribosomique de l'ARN 18S, a permis de constituer l'arbre phylogénétique des Glomyromycètes. Cet embranchement compte à ce jour plus de 250 espèces décrites regroupées en 4 ordres.



**Figure 07 :** Arbre phylogénique des Glomeromycota (Schüßler et Walker, 2010), modifié par Schüßler ([http://schuessler.userweb.mwn.de/geosiphon/geosiphon\\_home.html](http://schuessler.userweb.mwn.de/geosiphon/geosiphon_home.html))

### 3. Les types de champignons mycorrhiziens

Parmi les champignons mycorrhiziens, on distingue les plus communs (Garbaye, 2013) :

#### 3.1 Les ectomycorhizes

La plupart des champignons ectomycorhiziens appartiennent au groupe des basidiomycètes et certains autres au groupe des ascomycètes. Ils colonisent seulement 5% des espèces végétales et tout particulièrement les plantes ligneuses, arbres ou arbustes (Fortin et al, 2008). Les ectomycorhizes sont courtes, ramifiées et recouvertes d'un manchon d'hyphes fongiques très enlacés qui forment une croûte à la surface des racines (Hopkins, 2003; Ricklefs et Miller, 2005). Le champignon s'introduit dans les espaces intercellulaires et forme ainsi un réseau communément appelé le réseau de Hartig (Hopkins, 2003). Les hyphes ne pénètrent pas à l'intérieur des cellules végétales, mais se concentrent dans le réseau de Hartig (Wang et Qiu,

2006). Ce dernier est confiné à l'épiderme des racines chez les angiospermes et retrouvé autour des cellules épidermiques et corticales chez les gymnospermes (Peterson et Massicotte, 2004).

### 3.2. Les ectendomycorhizes

Les champignons à ectendomycorhizes regroupent seulement quelques espèces de champignons ascomycètes qui colonisent la plupart des *Pinus spp.* et *Larix spp.* (Peterson et Massicotte, 2004). On retrouve les ectendomycorhizes lorsque les hyphes sont présents autant à l'intérieur qu'à l'extérieur de la racine de la plante hôte. À la façon du champignon ectomycorhizien, le champignon ectendomycorhizien s'étend à la surface des racines, forme un manteau et pénètre entre les cellules du cortex pour constituer le réseau de Hartig (Garbaye, 2013) (Peterson et Massicotte, 2004). La spécificité des ectendomycorhizes est qu'une fois que les hyphes sont présents dans le réseau de Hartig, ils développent des branches qui percent les parois des cellules végétales. Lorsque les hyphes ont pénétré à l'intérieur de la cellule, ils finissent par occuper tout le volume cellulaire (Garbaye, 2013).

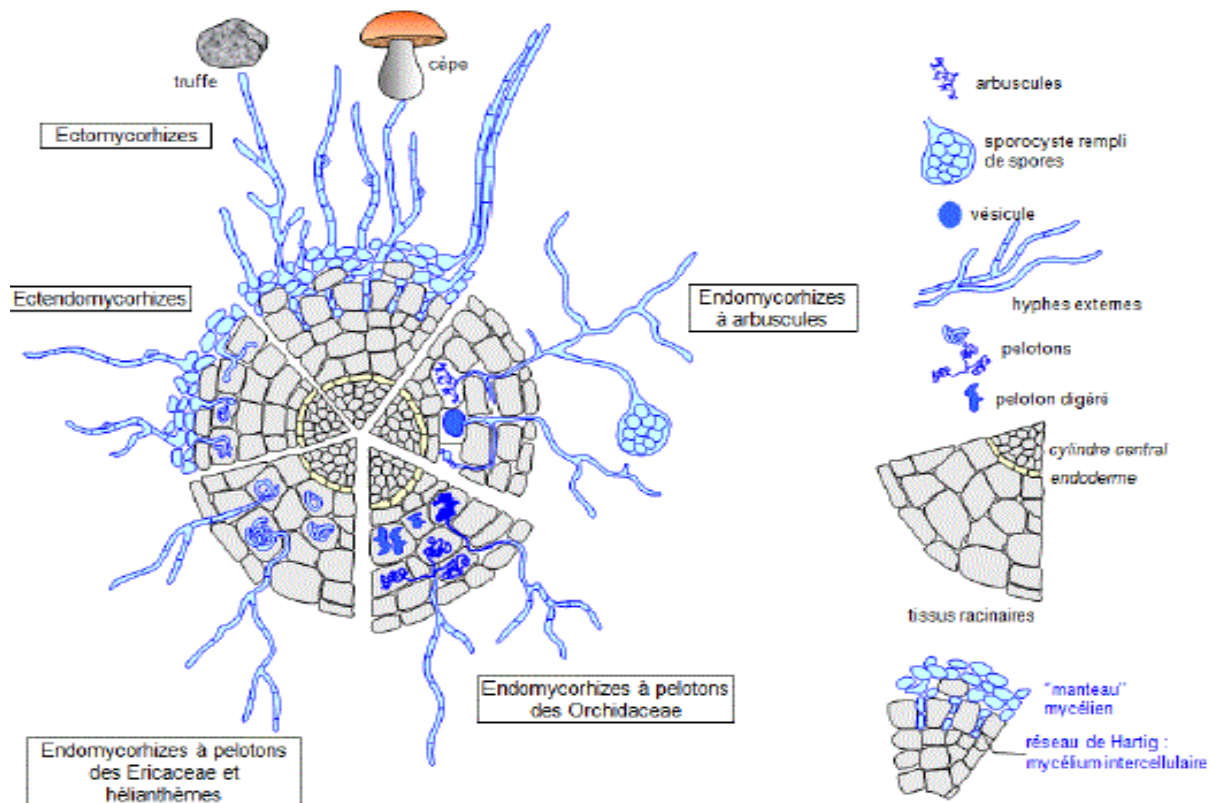
- On différencie deux types des ectendomycorhizes
- Les mycorhizes éricoïdes en symbiose avec les plantes de la famille des éricacées
- Les mycorhizes monotropoïdes en symbiose avec les plantes de la famille des Ericales non chlorophylliennes. Les hyphes forment des pelotons dans les cellules superficielles de la racine.

**3.3. Les endomycorhizes** (ou mycorhizes internes) sont la forme la plus répandue. Ce sont des mycorhizes qui pénètrent à l'intérieur des racines pour mieux s'y associer aux plantes comme les plantes forestières agricoles et horticoles. Les endomycorhizes présentent un mycélium qui pénètre dans le cortex racinaire, en formant des digitations appelées *arbuscules* qui repoussent la membrane plasmique des cellules du parenchyme cortical en créant une surface propice aux échanges entre les deux partenaires ; en outre, il y a souvent formation de *vésicules* dont le rôle est de stocker les nutriments.

Il existe trois types d'endomycorhizes :

- Les endomycorhizes arbutoides en symbiose avec les plantes de la famille des Ericacées.
- Les endomycorhizes orchidoides en symbiose avec les plantes de la famille des Orchidées.
- Les endomycorhizes à arbuscules.





**Figure 08** : principaux types mycorhiziens représentés sur une coupe transversale de racine

(Le Tacon, 1985)

### 3.3.1. Les endomycorhizes à arbuscules

Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont appelés anciennement « endomycorhizes à vésicules et arbuscules ». Sont des micro-organismes du sol omniprésents dans la majorité des habitats. Membres importants du microbiote du sol, ils sont présents dans les racines de plus de 80% des plantes terrestres avec une grande richesse en espèces (Hamel, 1996). Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont caractérisés comme des endomycorhizes par leur interaction avec les cellules racinaires des plantes hôtes et leur morphologie, car leurs hyphes sont à l'intérieur des cellules des racines et forment des structures intracellulaires spécialisées. C'est une association symbiotique très répandue dans le règne végétale. Elles sont présentes aussi bien dans le milieu naturel que chez les plantes cultivées agricoles, horticoles ou forestières. On les rencontre même chez les plantes cryptogames : *Bryophytes* et *Ptéridophytes* (Fortin *et al.*, 2008). Contrairement au ectomycorhizes et ectendomycorhizes, les champignons impliqués ne provoquent pas de changement morphologique évident au niveau du mycorhize.

## 4. L'effet de symbiose mycorhiziens à arbuscules sur les plantes en symbiose

### 4.1. Échange de nutriments

Les arbuscules représentent un point de contrôle entre les deux symbiotes mycorhiziens où une forte activité de transport se produit non seulement de la plante vers le champignon, mais aussi dans le sens champignon vers la plante, via l'interface symbiotique constituée de la membrane périarbusculaire de la plante et de la membrane plasmique du champignon séparées par une zone apoplastique (Hause et Fester, 2005). Chez les plantes mycorhizienne il y a une augmentation nette de la photosynthèse qui se traduit par une augmentation du photoassimilat dans les racines mycorhizienne a arbuscule estimée jusqu'à 20% (Bago et al., 2000).

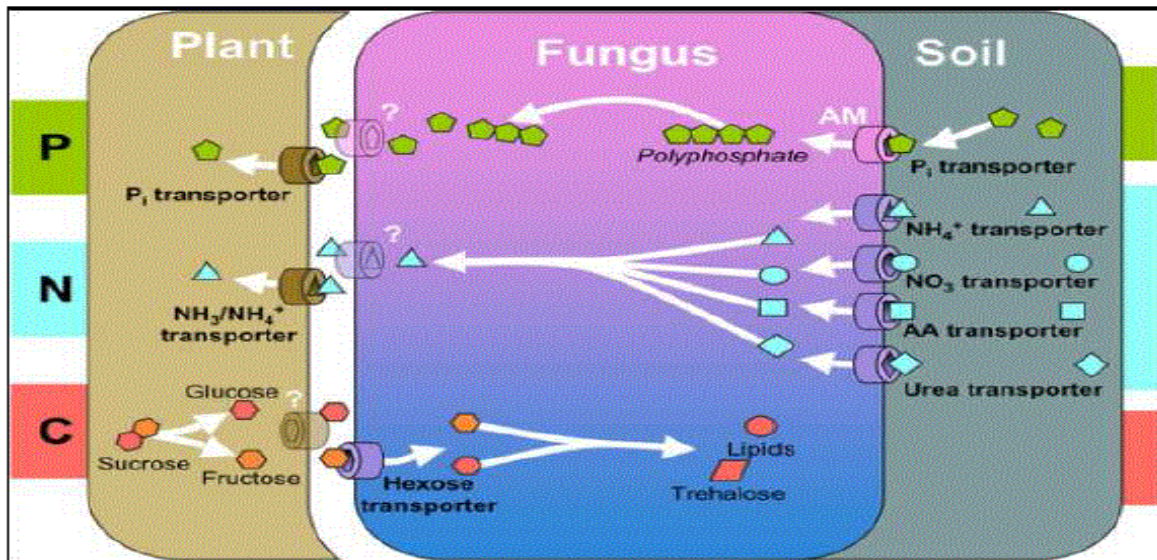
En contrepartie, par l'intermédiaire du champignon mycorhizien, la plante augmente sa surface d'échange avec le sol grâce notamment à deux types d'hyphes : les hyphes d'absorption, fins et ramifiés, permettant d'augmenter la surface de contact avec le sol et les hyphes conducteurs, de diamètre plus élevé, permettant d'amener l'eau et les éléments minéraux à la plante. Ce n'est donc plus seulement la rhizosphère qui est exploitée par la plante, mais la mycorhizosphère. Ce vaste volume de sol désormais exploitable, ajouté au pool enzymatique fongique très divers, permet à la plante de capter des éléments minéraux jusque-là peu accessibles tels que le phosphate. Cette symbiose permet aussi au végétal de prélever les éléments minéraux « classiques » en plus grande quantité comme l'azote (capté sous forme de nitrate, nitrite ou d'ammonium par le mycète), le soufre et les oligoéléments (cuivre, zinc, fer, manganèse,...) (Gavériaux, 2012 ; Scagel, 2000) (figure 09).

Les hydrates de carbone sont transférés sous forme de saccharose via le phloème vers les racines mycorhiziennes. Il est converti en glucose plus fructose (Blee et Anderson, 1998). Le glucose semble être transféré au symbiote fongique (Solaiman et Saito, 1997; Boldt et al., 2011). Cependant, un transporteur de monosaccharide récemment isolé de *Glomus intraradices* n'a pas seulement transporté du glucose, mais aussi du xylose indiquant les sucres de la paroi cellulaire végétale comme source alternative de carbone pour les champignons (Helber et al., 2011). La localisation de son expression suggérait en outre que le transfert des glucides ne se produisait pas uniquement au niveau des arbuscules, mais également au niveau d'autres hyphes intra radicaux.

La voie d'absorption directe du phosphate inorganique (Pi), du sol à la surface des racines est supprimées et remplacée par la voie mycorhizienne qui implique l'importation de Pi dans les hyphes fongiques via les transporteurs du phosphate inorganique. La translocation de Pi vers l'interface arbuscule, et la libération dans les cellules racines où les transporteurs Pi végétaux transfèrent le Pi dans les cellules corticales (Bucher, 2007 ; Smith et al., 2011). De nombreux

transporteurs  $P_i$  végétaux ont été caractérisés et classés en transporteurs à affinité élevée ou faible, dont certains sont spécifiques des mycorhizes à arbuscules.

Le modèle actuel prévoit que le nitrate et l'ammonium sont absorbés par le mycélium extra radical, l'arginine est transportée dans les hyphes fongiques et l'ammonium est finalement transféré vers la plante (Govindarajulu et al. 2005 ; Chalot et al. 2006 ; Guether et al. 2009).



**Figure 09 :** Schéma récapitulant les principaux processus d'échanges de nutriments dans l'ensemble des symbioses mycorhiziennes (Bonfante & Genre, 2010).

Les capacités de transport fongique pour l'azote et le phosphore sont dans une gamme similaire (Smith et Read, 2008), mais la plante a besoin de dix fois plus de l'azote que de phosphore de sorte que le transfert fongique de est probablement de moindre importance pour les effets mycorhiziens sur la croissance des plantes.

## 5.2. Le rôle bioprotecteur des champignons mycorhiziens à arbuscules

Le rôle de bioprotection de champignons arbusculaires contre les agents pathogènes délétères est d'un intérêt considérable. La tolérance au stress biotique des cultures peut être évoquée par l'exploitation des champignons mycorhiziens arbusculaires, en particulier contre les agents pathogènes du sol.

La réduction de la maladie fongique des racines par champignon mycorhizée à arbuscule a été signalée dans un éventail d'espèces végétales. Les champignons mycorhiziens interfèrent de deux façons :

- Dans la rhizosphère, les agents pathogènes sont confrontés à la compétition et à l'antagonisme avec d'autres microorganismes, ce qui a pour effet d'établir une flore microbienne diversifiée et équilibrée (Davet, 1996; Garbaye, 2013). Dans cet environnement, les agents pathogènes ne parviennent pas à proliférer et leur nombre reste relativement faible.
- Les champignons mycorhiziens modifient les activités physiologiques des racines. En effet, une fois agressée par un agent pathogène, la plante dont les racines sont mycorhizées réagit en produisant des substances antibiotiques qui inhibent la croissance de ces ennemis (Fortin et al., 2008). Parmi ces substances, on peut citer les phytoalexines, les enzymes de la voie phénylpropanoïde, les chitinases, les  $\beta$ -1,3-glucanases, les peroxydases, les protéines liées à la pathogénèse (PR), les glycoprotéines et phénoliques riches en hydroxyproline (HRGP) (Gianinazzi-Pearson et al., 1994). Il y a également l'acide jasmonique qui joue un rôle important dans l'amplification de la résistance des plantes contre les agents pathogènes (Koltai et Kapulnik, 2010).

L'inoculation des plantes par les champignons mycorhiziens arbusculaires augmente la tolérance de la plante face aux stress abiotiques (Marschner, 1995; Fortin et al., 2008). Par exemple, les champignons mycorhiziens peuvent améliorer la résistance de la plante dans des sols salins ou à haute teneur en métaux lourds (Bencherif et al., 2015; Liu et al., 2015).

Le contrôle de l'oïdium du blé par champignons mycorhizienne arbusculaires une protection comprenant une activité de peroxydase accrue dans les racines et les pousses, la formation de papilles et une réduction des haustoriums pathogènes. Une forte accumulation de composés polyphénoliques et  $H_2O_2$  s'est manifestée au site de pénétration dans le blé mucohrizée, ainsi qu'une augmentation de l'expression des gènes marqueurs de défense tels que la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) (Mustafa et al., 2017).

Comparativement, les études de la réponse des plantes aux maladies fongiques aériennes à la formation de mycorhizes sont moins abordées, et la champignon mycorhizien est plus susceptible d'être protectrice contre les maladies causées par des champignons nécrotrophes que les champignons biotrophes (Jung et al., 2012).

### 5.3. Résistance induite par le mycorhize (MIR)

La présence de champignons mycorhiziens dans les tissus de l'hôte peut induire des réponses de défense améliorées contre les attaques d'agents pathogènes ; cela soulève la notion de résistance induite par les mycorhizes. Cette notion n'est pas récente ; en fait, les premiers travaux ont déjà montré que la bioprotection des mycorhizes est associée à une stimulation de mécanismes de défense (Baltruschat et Schönbeck, 1972 ; Dehne et Schönbeck, 1979).

Étant donné qu'un champignon arbusculaire est un micro-organisme biotrophe, une voie de signalisation hypothétique comparable à la PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) et à la signalisation des pathogènes biotrophes pourrait exister. Les facteurs Myc des champignons symbiotiques semblent posséder des MAMP (Microbe-Associated Molecular Patterns/Motifs moléculaires associés aux microbes), car les plantes réagissent à la colonisation par l'expression de gènes liés à la défense. Le fait que cette expression ne soit que légère et transitoire (Gianinazzi-Pearson et al., 1996) semble dépendre d'une activité fongique ; dans ce contexte, une petite molécule effectrice (SP7) a été récemment identifiée chez *Glomus intraradices* qui contribue au statut biotrophe du champignon arbusculaire dans les racines en contrecarrant le système immunitaire de la plante (Kloppholz et al., 2011).

Des niveaux endogènes modifiés de phytohormones ont également été observés pendant les interactions de la mycorhization, indiquant un rôle dans la communication entre les champignons à arbuscules et les plantes hôtes (Ludwig-Müller, 2000 ; Hause et al., 2007 ; Herrera-Medina et al., 2007). Les trois phytohormones AS (Acide Salicylique), JA (Acide Jasmonique) et ET (Ethylène), trois molécules signales jouent un rôle majeur dans la régulation des mécanismes de défense des plantes pour l'accumulation de protéines de défense, notamment des protéines PR, qui sont impliquées dans les voies de signalisation de l'expression des gènes de défense. Ceci a conduit à l'hypothèse que le déclenchement direct ou indirect des voies de signalisation régulées par ces phytohormones pourrait être important pour la protection des champignons mycorhiziens arbusculaires contre le stress biotique (Garcia-Garrido et Ocampo, 2002).

# **Chapitre II :**

# **Matériel et Méthodes**

En raison de la situation sanitaire liée aux préventions continues contre le Covid 19, les opportunités de faire des expérimentations sont réduites surtout aux niveaux d'instituts externes. A cet effet, et pour concrétiser un peu l'aspect bibliographique de notre thème, nous avons opté pour une recherche expérimentale tirée de l'article intitulé : Mechanisms involved in mycorrhizal wheat protection against powdery mildew réalisé par Dr Ghalia Mustafa (Université du Littoral Côte d'Opale, 2015. Français). Où nous avons visé surtout le protocole utilisé pour :

- L'optimisation des conditions de mycorhization du blé et l'inoculation par les champignons mycorhizines arbusculaire.
- La mise en évidence de l'effet de l'inoculation mycorhizienne du blé dans la protection contre le *B. graminis*.

# 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

## 1.1. Matériels biologique

### 1.1.1. Matériel végétal

L'expérience a été menée sur un cultivar de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) : Orvantis. Ce cultivar est considéré comme sensible à l'oïdium du blé, causé par *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (Bgt), présentant un niveau de résistance au champ estimé à 5 sur une échelle de 1 à 9. Les graines ont été pré-germées sur de la vermiculite humide pendant 2 jours puis repiquées dans des pots (de volume de 300 ml) et mis en culture dans une chambre de croissance contrôlée à 12-18°C nuit/jour, une durée de 12h- 12h de photopériode et 70% d'humidité.

### 1.1.2. Matériel fongique mycorhizien

Trois types d'inocula ont été utilisés :

1. *Rhizophagus irregularis* (Ri), (Stockinger et al., 2009), produit dans le laboratoire de auteur de l'article, à partir de plants de trèfle (*Trifolium repens* L.) inoculés et cultivés sur un mélange sable/perlite/vermiculite (2/1/1), stérilisé deux fois par autoclavage à 120°C et 1 bar pendant 20 minutes. L'inoculum récupéré au bout de 5 mois est formé de racines séchées et coupées en fragments d'environ 1 cm et mélangées avec le substrat qui contient également les propagules (hyphes et spores).
2. *Funneliformis mosseae* (Fm) produit par la Société MycAgro (MycAgro Ltd, France).
3. SOLRIZE® (SZE) : Mélange des deux champignons Ri+Fm (Agrauxin Ltd, France).

## 1.2. Méthodes expérimentale

### 1.2.1. Préparation de substrat et des cultures

Les cultures sont préparés dans des pots remplis d'un substrat stérilisé composé de sable, de perlite et de vermiculite en ration de (2:1:1), et stérilisés deux fois (120°C et 1 barre pendant 30min). Le grain de blé est préalablement pré-germé sur de la vermiculite humide pendant 2 jours. Puis, ces grains pré-germés sont transférés dans des pots (10 cm de diamètre et capacité de 300 ml). Les plants ont été cultivées dans une chambre de croissance en conditions contrôlées à une température de 12-18 ° C (nuit / jour), avec une photopériode de 12-12h et 70% d'humidité.



### **1.2.2. Inoculum mycorhizien**

Pour tous les traitements, quel que soit le type d'inoculum *Rhizophagus irregularis* (Ri), et *Funneliformis mosseae* (Fm) ou SOLRIZE® (SZE). Chaque pot (capacité : 300 ml) a été additionné de 30 g d'un inoculum constitué de substrat, de spores de champignons mycorhiziens arbusculaires et haché racines fraîches colonisées.

Les plantes mycorhizées (M), un inoculum mycorhizien correspondant à 10% du poids total du substrat, est ajouté dans chaque pot. Pour les plantes témoins non mycorhizées (NM) exempts de propagules de champignons MA infectieux, un inoculum mycorhizien autoclavé, est introduit de la même façon dans le substrat afin d'apporter la même quantité de matière organique à la plante.

L'inoculum mycorhizée et stérilisé a été placé 3 cm en dessous les graines de blé au moment des semailles. Les pots sont ensuite placés dans une chambre de croissance en conditions Contrôlées : photopériode 12/12 (h), température 18/12 °C (jour/nuit) et 70% d'humidité.

Les plantes sont arrosées régulièrement avec de l'eau distillée et avec 50 ml d'une solution de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950) par pot et par semaine.

### **1.2.3. Facteur de concentration de phosphore**

La colonisation mycorhizienne des racines peut entraîner une augmentation de l'absorption de phosphore (P) de dix fois par rapport aux a l'absorbction ordinaire sans mycorhizes.

Pour cela ont teste Trois concentrations de phosphore (P) (P, P/5 et P/10) ont été utilisées, le phosphore représentant la dose moyenne de P appliquée dans les champs de blé en France (P = 62 mg/L correspondant à environ 73 kg/.ha de P, Le Souder, 1998)

### **1.2.4. Infection des plants de blé par l'oïdium (*B. graminis* f. sp. *tritici*)**

Les plants doivent être d'abord mycorhizés pour subir l'infection artificielle par *B. graminis*. L'isolat de *B. graminis* f. sp. *tritici* (MPEbgt1) utilisé dans cette étude a été aimablement fournie par Dr M.-P. Latorse de Bayer Crop Science (Lyon, France). Le champignon a été maintenu sur plantes de blé dans une culture en chambre séparée jusqu'à ce qu'il soit fortement sporulé (10 jours après infection).

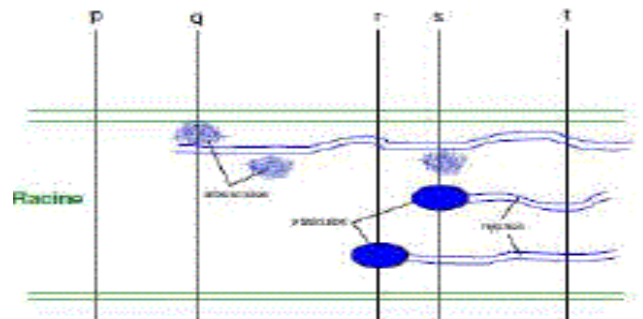
Les conidies sont prélevées à l'aide d'une pompe à vide et sont suspendues dans une solution de FC43 (heptacosafuorotributhylamine - 3M™ Fluorinert™ Liquide électronique, Cergy-Pontoise, France). Les plantes de blé, âgées de 6 semaines, ont été infectées, sur leur parties aériennes (feuilles), par une suspension de conidies de *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*, concentrée à  $5.10^5$  spores/ml. Les feuilles ont été pulvérisées avec une suspension de conidies

(0,5 /ml /plante) lorsque les plantes avaient 6 semaines. Bgt sont apparus 8 jours après l'infection, et le nombre de colonies de feuille de plantes de blé a été compté soit sur toutes les feuilles infectées, soit sur la troisième feuille seulement.

### 1.3. Détermination du taux mycorhization

- La colonisation racinaire du blé par les champignons mycorhisiens arbusculaires à savoir les hyphes internes, les arbuscules et les vésicules ont été visualisés après 6 semaines de culture par observation microscopique a été quantifier après on rinçage les racines à l'eau distillée pour enlever la petite quantité de sable fortement adhérent.
- La coloration au bleu Trypan 0.05% (0,5 g de bleu Trypan/L dans un mélange eau, glycérol et acide lactique (1:1:1)) pendant 1 heure à 70°C et éclaircissement dans une solution de KOH 10% pendant 1 heure à 70°C (Phillips et Hayman, 1970).
- Pour chaque traitement, cinq lames contenant chacune 20 fragments de racine colorés ont été réalisées et 3 coupes par fragment de racine ont été observées au microscope optique (x100).
- Les structures fongiques observées à l'endroit de l'intersection de l'axe de l'objectif et le fragment racinaire ont été quantifiées (McGonigle et al. 1990). Trois lectures par fragment ont été réalisées, soit 300 lectures par traitement au total.

- p : aucune structure fongique.
- q: présence d'arbuscules.
- r: présence de vésicules.
- s: présence d'arbuscules et de vésicules.
- t: présence d'hyphes mycorhiziennes et absence d'arbuscules et de vésicules.
- g: nombre d'intersections.



Les taux de mycorhization total, arbusculaire et vésiculaire ont été déterminés grâce aux Équations suivantes :

Taux total (T)	taux d'arbuscules (A)	taux de vésicules (V)
$H = 100 (g - p)/g$	$A = 100 (q + s)/g$	$V = 100 (r + s)/g$

### 1.4. Mesure des paramètres de croissance des plantes

- Après 6 semaines de culture, différents paramètres de croissance des plantes ont été évalués. La longueur des plantes, le nombre de feuilles et de tiges ont été notés pour chaque plante.
- Les biomasses sèches des pousses et des racines ont été récoltés puis séchés dans une étuve à air chaud à 60°C pendant 48 h jusqu'à poids constant.
- Trois des pots distincts ont été utilisés comme répliques biologiques pour chaque traitement, en considérant chaque pot comme un échantillon unique (5 plantes /pot).

**Chapitre III :**  
**RÉSULTATS et DISCUSSION**

## 1. RÉSULTATS

### 1. Effets des concentrations de phosphore

#### a. sur le taux de mycorhizes du blé.

Les résultats présentés dans le (tableau 02) ont que l'utilisation des concentrations de P/5 et P/10 pendant la culture des plantes a conduit des augmentations significatives des taux de mycorhization racinaire totale par rapport à la concentration élevée de phosphore P, respectivement 2, 3 et 3 fois. Aucune structure mycorhizienne n'a été détectée dans les racines des plantes cultivées en présence d'inoculum autoclavé (plante témoin).

De plus, la concentration P/10 a entraîné une réduction de la croissance du blé, et donc il a utilisé la concentration intermédiaire P/5 dans les expériences suivantes.

**Tableau 0 2.** Impact de la concentration en phosphore (P, P / 5 et P / 10) sur la colonisation mycorhizienne de plantes inoculées ou non par trois types d'inoculums de champignons mycorhiziens arbusculaires : Ri, SZE® et Fm. les lettres différentes (a, b, c) indiquent une différence statistiquement significative entre les taux mycorhiziens.

Taux de mycorhizes en % concentrations de P			
Type d'inoculum	P	P/5	P/10
NM	0	0	0
Ri	11.03 ± 5.54 a	17.02 ± 4.62 a	32.40 ± 5.41 b
SZE	13.88 ± 3.38 a	11.75 ± 2.89 a	15.84 ± 3.23 a
Fm	12.70 ± 7.16 a	53.39 ± 4.06 d	43.69 ± 9.47 c

#### b. Sur la croissance des plantes mycorhize (M) et plantes non mycorhize (NM)

Après 6 semaines de culture, l'impact de la concentration en phosphore sur le développement du blé dans les plantes M et NM a été évaluée en mesurant divers paramètres de croissance des plantes (tableau 03).

Chez les plantes NM, le nombre de feuilles et de tiges était respectivement 1,5 et 2,5 fois inférieur, à la concentration de P/10 la plus faible par rapport à la concentration de P la plus élevée, pas de différence a été enregistrée pour le poids sec des racines ou des pousses entre ces concentrations.

Chez les plantes M, cette résultats ont montré que, à l'exception du poids sec des racines, toute les paramètres de croissance du blé étaient significativement réduits avec la concentration de P/10 par rapport à celle de P. Les réductions ont été estimées à 12% pour la longueur de la plante, 51% pour le poids sec des pousses.

Les nombres de feuilles et de tiges à P/5 présentait des valeurs intermédiaires entre celles obtenus avec des concentrations de P et P/10, alors que d'autres paramètres de croissance n'étaient pas significativement différent à P/5 par rapport à la concentration de phosphore.

**Tableau 03 :** Impact des concentrations de phosphore sur les plants de blé non mycorhizien (NM) et le blé mycorhize (M) croissance après 6 semaines de culture.

Concentrations de phosphore	Plante non mycorhize (NM)			Plante mycorhize (M)		
	P	P/5	P/10	P	P/5	P/10
Longueur de la plante (cm)	42±5 a	46± 3.43	b 44±2 ab	42±1.79 b	41±2.82 b*	37±3.76 a*
Nombre de feuilles /plante	9± 2 b	8 ±1.60 ab	6±1.26a	10±0.94c	8±1.79 b	6.6±0.96a
Nombre de tige /plante	2.5±0.52 b	2±0.87 ab	1± 0.52 a	3±0.56 c	2±0.78 b	1±0.52 a
Poids sec des racines (mg /5plantes)	370±60 a	250±10 a	270±20 a	420±40 a	430±60 a*	420±20 a*
Poids sec des pousses (mg /5 plantes)	1070±120 b	1040±60 b	770±70 a	1630±420 b*	1300±60 ab*	800±40 a

Pour chaque plante le paramètre de croissance, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre les trois concentrations de phosphore pour les plantes NM ou M. \* : indique une différence significative entre les paramètres de croissance des plantes NM et M pour une concentration en phosphore selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ). Les valeurs moyennes ont résulté de 15 plantes échantillonnées de trois pots différents.

La comparaison entre les paramètres de croissance des plantes M et NM à un phosphore donné la concentration a montré une réduction significative de la longueur des plantes M estimée à 11% pour le P/5 et 16 % pour les concentrations de P/10. A l'inverse, le poids sec des racines à P/10 et P/5 a augmenté de 36 et 42 % respectivement. De même, le poids sec des pousses à P/5 et P a augmenté de 20 et 55% respectivement dans les plantes M par rapport aux plantes NM.

### C. Sur l'infection de blé par *B. graminis* f. sp. *tritici*

Dans les plantes NM, l'utilisation des concentrations de phosphore les plus faibles (P/5 et P/10) a significativement réduit le nombre de colonies de Bgt par rapport à la concentration de P de 30 et 33%, respectivement. Cependant, les diminutions du niveau d'infection ont été estimées à 53 et 74% dans les mêmes conditions pour les plantes M (Tableau 04).

Les taux de protection obtenus dans les plantes M par rapport aux plantes NM étaient de 66, 77 et 87 % pour les concentrations de phosphore P, P/5 et P/10, respectivement.

**Tableau 04 :** Impact des concentrations de phosphore sur l'infection du cultivar Orvantis par Bgt ( $5.10^5$  spores/ml). Les tests d'infection ont été effectués sur des plantes âgées de 6 semaines et les colonies ont été comptées 8 jours après l'infection.

Nombre de colonies /feuille	Concentrations de phosphore		
	P	P/5	P/10
NM	81.5 ±11 b a	57.2 ±10 a	54.7±12
M	27.4 ±5 b*	13 ±4 a*	7±2 a*

## 2. l'effet du type d'inoculum mycorhizien

Trois types d'inoculum mycorhizien distincts (Ri, SZE ou Fm) ont également été testés. L'impact de ces inoculums a été déterminé sur le taux de colonisation des racines, la croissance et l'infection par Bgt chez les plantes de blé après 6 semaines de culture en utilisant la concentration P/5 pendant l'irrigation.

### a. Sur la colonisation des racines de blé

Le (tableau 05) montre que le taux de M total le plus élevé a été obtenu avec l'inoculum Fm. C'était estimé à 38,4% contre 8 et 19% obtenus avec SZE et Ri, respectivement.

**Tableau 05 :** Impact du type d'inoculum mycorhizien (Ri, SZE ou Fm) sur le taux de colonisation racinaire totale du cultivar de blé Orvantis après 6 semaines de culture. Les plants de blé ont été irrigués avec une solution de Hoagland contenant du phosphore à une concentration de P/5, [P/5] = 12,4 mg /L.

Inoculum mycorhizien	la Taux total de mycorhize racinaire (%)
Ri	19 b
SZE	8 a
Fm	38.4 c

Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre les taux de mycorhizes radiculaires totaux obtenus avec les inoculums Ri, SZE et Fm selon le test LSD ( $P \leq 0,05$ ). Les observations ont été réalisées sur 100 fragments de racines de 15 plantes prélevées dans trois pots différents.

## b. Sur la croissance des plantes

L'impact des types d'inoculum mycorhizien sur la croissance du blé est présenté dans le (tableau 06). La longueur des plants M inoculés avec Fm a significativement diminué de 11% par rapport à ceux NM, alors qu'elle diminuait davantage (20-24%) chez les plants M inoculés avec Ri et SZE, respectivement. De plus, une augmentation du poids sec des pousses a été obtenue avec l'inoculum de Ri ; cette augmentation variait entre 47 et 30% par rapport à SZE et Fm, respectivement, et 44% par rapport aux plantes NM. Cependant, toutes les plantes M ont montré une augmentation du poids sec des racines, de 34, 28, 42 % pour les inoculums Ri, SZE et Fm respectivement, par rapport aux plantes NM. Aucune différence significative n'a été observée pour les autres paramètres de croissance quelles que soient les conditions de culture des plantes.

**Tableau 06 :** Impact des types d'inoculum mycorhizien sur la croissance du cultivar de blé Orvantis après 6 semaines de culture. Les plants de blé non mycorhiziens (NM) et mycorhiziens (M) ont été irrigués avec une solution de Hoagland contenant phosphore à concentration P/5, [P/5] = 12,4 mg l<sup>-1</sup>. Pour chaque paramètre de croissance des plantes.

	NM	M		
		Ri	SZE	Fm
Longueur de la plante (cm)	46± 3,43c	37±3a	35±1,34 a	41±2,82 b
Nombre de feuilles /plante	8 ±1,60 a	8±2a	7±1,22 a	8±1,79 a
Numéro de tige /plant	2±0,87 a	2±0,82a	2±0,57 a	2±0,78 a
Poids sec des racines (mg /5plantes)	250±10 a 3	380±90 b	320±80 b	430±60 b
Poids sec des pousses (mg /5plantes)	1040±60 a	1870±190 c	1000±20 a	1300±60 b

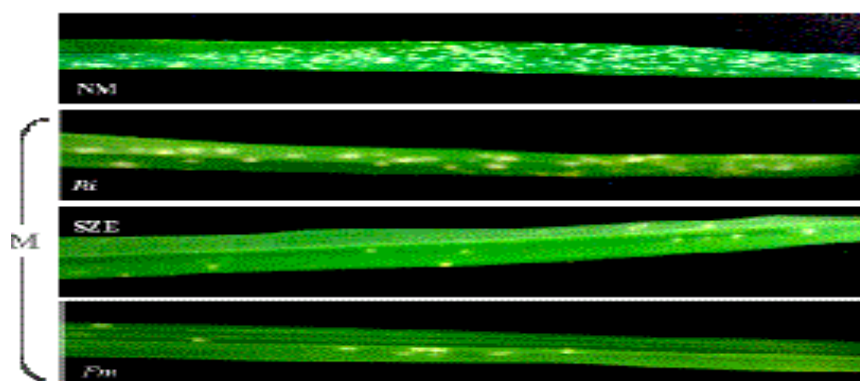
Les lettres différentes indiquent différences significatives entre les différentes conditions testées selon le test LSD (P≤ 0,05). Valeurs moyennes résultant de 15 plantes échantillonnées dans trois pots différents.

## C. Sur la protection contre la *B. graminis f. sp. tritici*

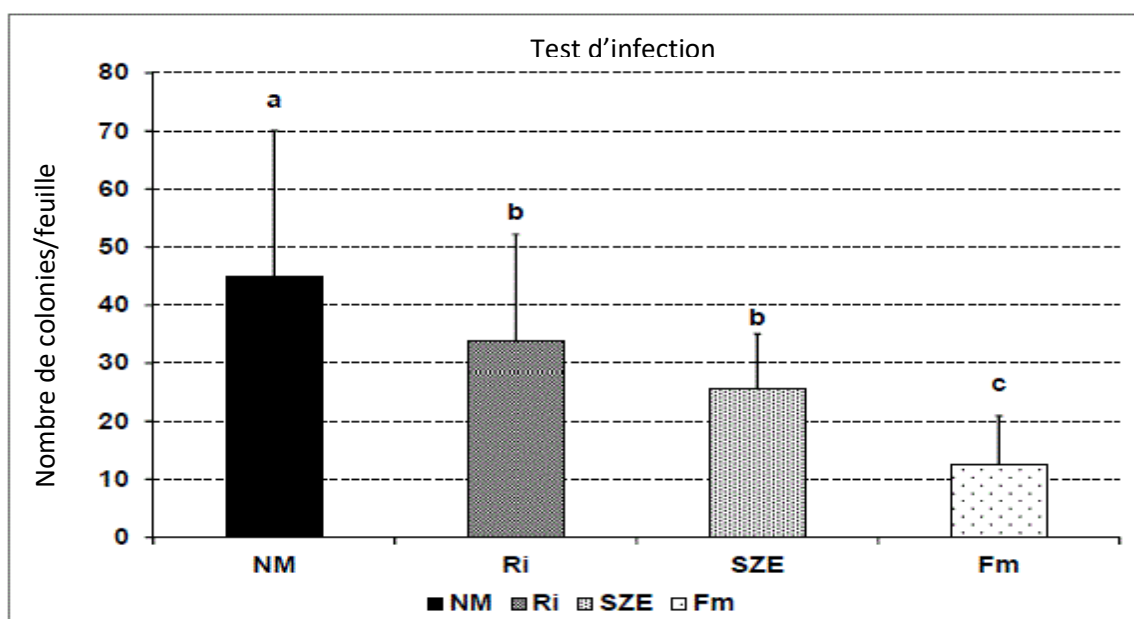
Après 6 semaines de culture, les plantes M et NM ont été infectées par Bgt. Le nombre de colonies sur les feuilles infectées ou sur la 3ème feuille seulement ont été comptées à 8 jours. Environ 96 et 21 colonies de Bgt ont été enregistrées sur des feuilles de blé NM et M, respectivement.

La (figure 10) a montré que l'expression des symptômes de Bgt sur le cultivar de blé Orvantis était plus faible sur les plantes M que sur les plantes NM. L'effet du type d'inoculum sur

l'infection par Bgt est présentée dans la (figure 11). Les inoculations par Ri, SZE et Fm ont significativement réduit l'infection par Bgt de ce cultivar de blé sensible. Le taux de protection le plus élevé a été obtenu avec l'inoculum Fm (74%), suivi par SZE (58%) et enfin Ri (34%), par rapport aux plantes NM



**Figure 10 :** Symptômes foliaires exprimés après 8 jours sur le cultivar de blé Orvantis infecté par Bgt (5.10<sup>5</sup>spores /ml). Les plantes ont été irriguées avec une solution de Hoagland contenant du phosphore à une concentration de P/5, [P/5] = 12,4 mg l<sup>-1</sup>. NM : Non Mycorhiziennes et M : Plantes Mycorhiziennes avec Ri, SZE ou Fm comme inoculum.



**Figure 11.** Impacts de l'inoculation mycorhizienne Sur l'infection par Bgt. Les différentes lettres (a, b, c) indiquent une différence statistiquement significative entre les taux d'infection.

Ces résultats suggèrent une défense systémique du blé contre le *B. graminis* causé par l'inoculation des champignons arbusculaires.



## 2. DISCUSSION

A travers cette étude, il a été démontré que l'efficacité des mycorhizes à arbuscules à protéger le blé contre l'agent pathogène *Blumeria graminis*, causant la maladie de l'oïdium, était lié à la concentration de phosphore, au type d'inoculum mycorhizien à arbuscules et au niveau de résistance du cultivar de blé.

Dans l'ensemble, ces résultats ont révélé que la concentration modérée de phosphore P / 5 (12,5 mg / L) permettait à la fois une croissance satisfaisante du plante de blé, et a conduit à une augmentation de taux de colonisation mycorhizienne. Dans les conditions expérimentales de l'étude ici présente, l'inoculum *Funneliformis mosseae* (Fm) s'est avéré plus efficace que SOLRIZE (SZE) et *Rhizophagus irregularis* (Ri) pour le taux de mycorhizie du blé, ainsi que pour la réduction du taux d'infection par *B. graminis* indiquant la capacité des champignons mycohrziens arbusculaires à protéger le blé contre le *Blumeria graminis* f, sp ,*tritici*.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ratnayake et al, (1978), qui ont découvert que de faibles concentrations de P (0, 6 et 28 ppm P) appliquées pendant 8-10 semaines, augmentaient la mycorhization chez *Sorghum vulgare*. L'amplification de la mycorhization a été expliquée par une augmentation de la perméabilité de la membrane conduit à l'exsudation de métabolites en quantité suffisante pour soutenir la croissance initiale et le développement de la germination des spores mycorhiziennes (Ratnayake et al, 1978).

Cette protection suggère que les champignons mycorhizes arbusculaires sont capables d'induire une résistance systémique contre les agents pathogènes foliaires et oblige le pathogène biotrophique *B. graminis*.

Les résultats indiquent aussi que dans les plantes inoculées avec Fm, confèrent la protection la plus élevée contre le Bgt obtenue à P/5, en association avec un taux mycorhizien élevé, mais pas l'amélioration de la croissance des plantes par rapport aux plantes (NM) de la même Concentration. De plus, la croissance des plantes a été réduite par rapport aux plantes NM cultivées à P, qui est la dose recommandée dans les champs (P = 62 %). Néanmoins, l'augmentation du taux de protection obtenu chez les plantes M à P/5 n'est pas seulement liée à un taux élevé de mycorhize. à un taux mycorhizien élevé, puisque l'inoculum Fm a conféré le meilleur taux de colonisation des racines de blé (38%), comparé à Ri (19%) et SZE (8%), alors que l'inoculation avec Fm et SZE a donné des meilleurs taux de protection similaires.

## Conclusion générale

Le blé est une culture vivrière importante, particulièrement soumise aux attaques de l'oïdium. La lutte contre cet agent pathogène passe par l'épandage de quantités importantes de fongicides. Dans le but de protéger l'environnement, la recherche s'oriente aujourd'hui vers le développement et l'utilisation de moyens moins polluants présentant des propriétés protectrices. L'utilisation de microorganismes, naturellement antagonistes aux agents phytopathogènes, ou bien capables de stimuler les défenses naturelles des plantes, comme les champignons mycorhiziens arbusculaires, constituent l'un des principaux objectifs de la biotechnologie microbienne au service d'une agriculture durable et d'un environnement sain.

Cette synthèse bibliographique a été consolidée par un essai expérimental tiré d'une recherche publiée, intitulée : Mechanisms involved in mycorrhizal wheat protection against powdery mildew qui consiste, entre autre, à étudier l'éventuel effet protecteur de la mycorhization arbusculaire chez le blé contre la maladie de l'oïdium.

A travers cet essai, il a été mis en évidence l'importance de la prise en compte de l'influence de ces différents paramètres (apport de phosphore et inoculation mycorhizienne) autant pour optimiser l'efficacité de la protection du blé contre l'oïdium en réponse aux champignons mycorhiziens arbusculaires, que pour étendre l'utilisation de ces traitements à différents cultivars sensibles ou modérément sensibles à la maladie.

L'ensemble des résultats, obtenus lors du présent article, mettent en évidence le potentiel des champignons mycorhiziens arbusculaires comme agents de biocontrôle des maladies foliaires et en particulier l'intérêt de proposer l'inoculation du blé par les champignons mycorhiziens arbusculaires comme moyen de lutte alternative contre l'oïdium. Il est toutefois important de bien définir les conditions, notamment en termes de doses optimales des éléments nutritifs minéraux tels que le phosphore, susceptible d'assurer une croissance végétale satisfaisante, ainsi qu'un taux de mycorhization suffisant à la mise en place du phénomène de résistance induite par la mycorhize (MIR), mais aussi de choisir l'inoculum mycorhizien adéquat ayant la capacité de protéger le cultivar le plus adapté de la culture.

L'ensemble de ces résultats permettent d'envisager plusieurs perspectives parmi lesquelles :

Optimiser les conditions permettant la protection du blé,

a. en testant d'autres espèces de CMA comme *Glomus fasciculatum*, *Gigaspora gigantea*, *G. etunicatum* et *Gigaspora rosea* dont l'efficacité contre des agents phytopathogènes

responsables de maladies racinaires a été montré chez le poivron, la luzerne et l'orge respectivement.

**b.** en étudiant l'impact d'autres paramètres abiotiques pouvant influencer la mycorhization tels que la température, l'hygrométrie, les éléments nutritifs minéraux autre que le phosphore.

Il est intéressant de tester l'effet de la mycorhization du blé contre un autre pathogène du blé, comme par exemple le champignon hémibiotrophe *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose, maladie responsable d'importantes pertes de rendement chez le blé.

La recherche de nouvelles méthodes de lutte innovantes et respectueuses de l'environnement dans la lutte contre les maladies, pour affiner l'application des micro-organismes sur les organismes cibles et favoriser leur colonisation dans les tissus de la plante ou le substrat, à travers la formulation du produit ou le substrat de culture. En appliquant concrètement la biotechnologie microbienne concrètement à un projet de lutte alternative aux méthodes de lutte chimique conventionnelle.

La lutte biologique par utilisation de micro-organismes offre une diversité d'agents de lutte microbiologique par utilisation de micro-organismes alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement. Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les micro-champignons, les nématodes et les protozoaires.

## Référence bibliographique

**Abis S ; 2012** - Le blé en Méditerranée sociétés, commerce et stratégies. Économie et territoire relations commerciales CIHEAM Paris : 241-247.

**Ait Kaki, S., 2008** - Evaluation de la qualité d'un germoplasme de blé dur (*Triticum durum* Desf) : appréciation de l'aptitude technologique et biochimique. Université : Badji Mokhtar Annaba. Mémoire : de magistère. Spécialité : biologie. Option : amélioration des plantes : 123 p.

**Akhtar S., Anjum F.M., Anjum M.A., 2011-** Micronutrient fortification of wheat flour: Recent development and strategies. *F. Res. Int.* 44: 652–659.

**Anonyme, 2014b** - Résistance aux fongicides : céréales à paille. *Note commune, Arvalis /Inra/Ans.*

**Aouali S. et Douici-Khalfi A., 2009** - Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte ; ITGC, EL Harrach, Alger. P 56.

**Auriau P., Doussinault G., Jahier J., Lecomte C., Pierre J., Pluchard P., Rousset M., Saur L. et Trottet M., 1992** - Le blé tendre. In *Amélioration des espèces végétales Cultivées*. Ed. INRA. Paris. p. 22- 38.

**Bago B., Shachar-Hilly et Pfeffer P.E., 2000-** Dissecting carbon pathways in arbuscular mycorrhizas with NMR spectroscopy. In: Podila GK, Douds DD (eds). *Current advances in mycorrhizae research*, APS, St. Paul, USA, pp 111–126

**Baltruschat, H. et Schönbeck, F., 1972-** The influence of endotrophic mycorrhiza on the infestation of tobacco by *Thielaviopsis basicola*. *Phytopathology*, 84: 172–188.

**Bencherif K. et al. 2015-** *Impact of soil salinity on arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity and microflora biomass associated with Tamarix articulata Vahl rhizosphere in arid and semi-arid Algerian areas*. *Science of the Total Environment*, 533: 488-494.

**Boldt K., Pörs Y., Haupt B., Bitterlich M., Kühn C., Grimm B. et Franken P., 2011.** Photochemical processes, carbon assimilation and RNA accumulation of sucrose transporter genes in tomato arbuscular mycorrhiza. *Journal of Plant Physiology*, 168: 1256-1263.

**Both M., Spanu P.D., 2004** - *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, an obligate pathogen of barley. In : Talbot NJ (Ed) *Plant Pathogen Interactions*. Blackwell Publishing Oxford pp. 202- 218.

**Bozzini A., 1988** - Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. In *Durum: chemistry and Technology*. Etats-Unis. 1-16 p.

**Bradford M.M., 1976** - A rapid and sensitive method for the quantification microgram quantities of proteins utilizing the principal of protein-day binding. *Anal. Biochem.* 72 : 248-254.

**Bucher M., 2007-** Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist*, 173: 11-26.

**Carver T.L.W., Ingerson S.M., et Thomas B.J., 1996** - Influence of host surface features on development of *Erysiphe graminis* and *Erysiphe pisi*. In: *Plant cuticles – an integrated functional approach*. Kierstens, G (eds) Bios Scientific Publishers, Oxford pp. 255–266.

**Chalot M., Blaudez D. et Brun A., 2006** - Ammonia: a candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Trends in Plant Science*, 11: 263-266.

**Chamont S., Gil F., 2014** - Les microorganismes pathogènes des cultures. <http://ephytia.inra.fr>

- Choudhary D.K., Prakash A., Wray V. et Johri B.N., 2009.** Insights of the fluorescent pseudomonads in plant growth regulation. *Current Science*, **97 (2)** :170-179.
- Clarke J.M., McCaig T.N., DePauw R.M., Knox R.E., Ames N.P., Clarke F.R., Fernandez M.R., Marchylo B.A. et Dexter J.E., 2005** - « Commander Durum Wheat» *Can. J. Plant Sci.* Revue canadienne de phytotechnie 85: 901–904.
- Constant N., 2008** - Analyse des stratégies de lutte contre l'oïdium des viticulteurs biologiques en Languedoc- Roussillon – Synthèse d'enquêtes. 14 p.
- Cordier C., Pozo M. J., Barea J. M., Gianinazzi S. et Gianinazzi-Pearson V., 1998** - Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11: 1017-1028.
- Coventry D.R., Gupta R.K., Yadav A., Poswal R.S., Chhokar R.S., Sharma R.K., Yadav V.K., Gill S.C., Kumar A., Mehta A., Kleemann S.G.L., Bonamano A. et Cummins J.A., 2011** - Wheat quality and productivity as affected by varieties and sowing time in Haryana. *India F. Cr. Res.* 123: 214–225.
- Davet P., 1996** - *Vie microbienne du sol et production végétale*. Paris, Éditions Quae, 383p.
- Dehne H.W., et Schönbeck F., 1979-** Untersuchungen zum Einfluss der endotrophen Mycorrhiza auf Pflanzenkrankheiten. *Journal of Phytopathology*, 95: 105-110.
- Ezzahiri B., 2001-** les maladies du blé identification facteurs de développement et méthode de lutte. Transfert de technologie en agriculture bulletin mensuel d'information, et de liaison du PNTTA 77, page4.
- FAO (2014)** Afrique classement des pays producteurs de matières premières : 2p.
- Fortin J.A. et al. 2008** - *Les mycorhizes : la nouvelle révolution verte*. Québec, Édi MultiMondes, 131 p.
- Fritas S., 2012-** Étude bioécologique du complexe des insectes liés aux cultures céréalières dans la région de Batna (Algérie).thèse de Magister en Écologie et biologie des populations. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, 115 pages.
- Galet P., 1999** - Précis de pathologie viticole. P.7–19.
- Garcia-Garrido J.M., et Ocampo J.A. 2002-** Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 53: 1377-1386.
- Garbaye J., 2013** - *La symbiose mycorhizienne : Une association entre les plantes et les champignons*. Paris, Editions Quae, 280 p.
- Gavériaux J. P., 2012** - Les glomeromycota. Bulletin de la Société Mycologique du Nord de la France, 92 :1-17.
- Genre A., Chabaud M., Faccio A., Barker D. G. et Bonfante P., 2008** - Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular mycorrhizal fungi within the root cortex of both *Medicago truncatula* and *Daucus carota*. *The Plant Cell*, 20: 1407-1420.
- Gianinazzi-Pearson V. et al. 1994** - *Gene expression and molecular modifications associated with plant responses to infection by arbuscular mycorrhizal fungi*. In: DANIELS et al. (1994) *Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions*. Dordrecht, Kluwer, p. 179-186.

**Giese H, Hippe-Sanwald S., Somerville S. et Weller J., 1997-** Erysiphe graminis. In: Carroll V, Tudzynski P, eds. Plant Relationships. The Mycota V, Part B. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 55-78.

**Govindarajulu M., Pfeffer P. E., Jin H., Abubaker J., Douds D. D., Allen J. W., Bucking H., Lammers P. J., et Shachar-Hill Y. 2005.** Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, 435: 819-823.

**Güther M., Balestrini R., Hannah M., He J., Udvardi M. K., et Bonfante P., 2009 -** Genome-wide reprogramming of regulatory networks, transport, cell wall and membrane biogenesis during arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Lotus japonicus*. *New Phytologist*, 182:200–212.

**Hales N., Rush C., 2016 -** Algeria Grain and Feed Annual 9: 1-11.

**Hamel C., 1996 -** Prospects and problems pertaining to the management of arbuscular mycorrhizae in agriculture. *Agriculture Ecosystems & Environment* 60, 197-210.

**Hanouni, N, (2012).** Evaluation du métabolisme respiratoire et enzymatique des racines de blé dur (*Triticum durum Desf*) issue de plantes infectée par les maladies cryptogamique et des plantes traité avec un fongicides (ARTEA EC 330). Université : Badji Mokhtar Annaba. Thèse : Doctorat. Spécialité : biologie. Option : toxicologie cellulaire : 142p

**Hause B., Mrosk C., Isayenkov S., et Strack D., 2007 -** Jasmonates in arbuscular mycorrhizal interactions. *Phytochemistry*, 68: 101-110.

**Heath M.C, Skalamera D., 1997 -** Cellular interactions between plants and biotrophic fungal parasites. *Adv Bot Res* 24: 195–225.

**Herrera-Medina M. J., Steinkellner S., Vierheilig H., Ocampo-Bote J. A., et García Garrido J. M., 2007.** Abscisic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 175: 554-564.

**Hoagland D.R. et Arnon D.I., 1950 -** The water culture method for growing plants without soil. *Circ Calif Agric Exp Stn* 347.

**Hopkins W.G., 2003 -** *Physiologie végétale*. Bruxelles, De Boeck Supérieur, 532 p.

**Index species fungorum et MycoBank (2021):** [http://www. Indexfungorum.org](http://www.Indexfungorum.org), [https://www. Mycobank.org](https://www.Mycobank.org).

**Jung S.C., Martinez-Medina A., Lopez-Raez J.A., Pozo M.J., 2012 -** Mycorrhiza-Induced Resistance and Priming of Plant Defenses. *Journal of Chemical Ecology* **38**, 651-64.

**King J.E., Cook R. et Melville S.C., 1983 -** A review of Septoria disease of wheat and barley. *Ann. Appl. Bio.* P 103, P 345-373.

**Kloppholz S., Kuhn H., et Requena N., 2011 -** A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy. *Current Biology*, 21: 1204-1209.

**Koltai H. et Kapulnik Y., 2010 -** *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, 2e ed. London, Springer, 323 p.

**Lacroix., 2002 -** Maladies des céréales et de la luzerne : diagnostique, dépistage et prévention. P 24.

**Liu H. et al. 2015** - Enhancement of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus versiforme*) on the growth and Cd uptake by Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum*. *Applied Soil Ecology*, 89: 44-49.

**Ludwig-Müller J., 2000** - Hormonal balance in plants during colonization by mycorrhizal fungi. In Kapulnik Y., Douds D., (eds) *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam: 263–283.

**Maillet F., Poinso V., Andre O., Puech-Pages V., Haouy A., Gueunier M., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., Martinez E. A., Driguez H., Bécard G., et Dénarié J., 2011** - Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature*, 469: 58-63.

**Marschner H., 1995** - *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd edition*. Cambridge, Academic Press, 889 p.

**Mcgonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L. et Swan J.A., 1990** - A method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 115 : 495-501.

**Milaire H., 1995** - à propos de quelques définitions. *Phytoma, La Défense des Végétaux*. 474: 7-9.

**Mitchell H.J., Hall J. et Barber M.S., 1994** Elicitor-Induced Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase Activity in Lignifying Wheat (*Triticum aestivum*) Leaves. *Plant Physiol.* 104 : 551-556.

**Moreau J.M., 2011** - Lutte contre les maladies. *Livre blanc « Céréales-Gembloux »*, 37 pages.

**Mustafa G., Khong N.G., Tisserant B. et al. 2017** - Defence mechanisms associated with mycorrhiza-induced resistance in wheat against powdery mildew. *Functional Plant Biology* 44, 443-54.

**Newman E. I. et Reddel P., 1987** -The distribution of mycorrhizas families of vascular plants. *New Phytologist*, 106: 745-751.

**Nowara D., Gay A., Lacomme C., Shaw J., Ridout C., Douchkov D., Hensel G., Kumlehn J., et Schweizer P., 2010**. HIGS: host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis*. *The Plant Cell Online*, 22(9), 3130-3141.

**Oberhaensli S., Parlange F., Buchmann J.P., Jenny F.H., Abbott J.C., Burgis T.A., Spanu P.D., Keller B., Wicker T (2011)**. Comparative sequence analysis of wheat and barley powdery mildew fungi reveals gene colinearity, dates divergence and indicates host-pathogen coevolution. *Fungal Genet. Bio.* 48: 327–334.

**Peterson L.R., et Massicotte H.B., 2004** - *Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces*. *Canadian Journal of Botany*, 82: 1074–1088.

**Philips J.M., Hayman D.S., 1970** - Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 55 :158-161.

**Pozo M.J., et Azcón- Aguilar C. 2007** - Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 10: 393-398.

**Poso M.J., Cordier C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Barea J.M., et Azcón- Aguilar C., 2002** - Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*, 53: 525-534.

**Reignault P., 2002** - Mécanismes liés aux interactions entre plantes et agents pathogènes : pouvoir pathogène et dégradation de la pectine. Résistance innée et résistance acquise chez les plantes. Thèse d'habilitation, *Univ. Littoral Côte d'Opale, France, volume I*, 163 p.

**Renard-Merlier D., 2007** - Ioduric acid, salicylic acid, heptanoylsalicylic acid and trehalose exhibit different efficacies and defence targets during a wheat/powdery mildew interaction. *Phytochemistry*. 68 : 1156-1164.

**Ricroch, A., Dattée, Y. et Fellous M., 2011** - Biotechnologie végétale : environnement, alimentation, santé. Ed du Vuibert. Paris. 170-182p.

**Rouzet J., Magnien C., Pueyo C., Jacob S., Jacquin D., 2007.** Un exemple d'OAD: dix ans de travaux sur l'oïdium de la vigne. *Phytoma*, N°603. SRPV Languedoc, SRPV Bourgogne, FREDON Bourgogne. p. 26–29.

**Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z., 1999** - Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Eds I.T.G.C., Alger. 64 p.

**Scigel C.F., 2000** - Effects of mycorrhizal fungi on rooting in woody horticultural crops. United states department of agriculture, 10p.

**Schussler A., Schwarzott D., et Walker C., 2001.** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105: 1413-1421.

**Sekhara-Reddy D.M.R., Svistoonoff S., Breuillin F., Wegmuller S., Bucher M., et Reinhardt D., 2009** - Development and function of the arbuscular mycorrhizal symbiosis in petunia. In T. Gerats & J. Strommer (Eds) *Petunia: evolutionary, developmental and physiological genetics*. Springer, New York: 131-156.

**Shipton W.A., Boyd W.R.J., Rosielle A.A., Shearer B.L., 1971** - The common Septoria diseases of wheat. *Botanical Review* 37. P 231-262.

**Smith, S. E., et Read D. J. al. 2008** - *Mycorrhizal Symbiosis* (Third Edition). Academic Press, London, pp 800.

**Smith S. E., Jakobsen I., Gronlund M. et Smith F. A., 2011** - Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, 156: 1050-1057.

**Stockinger H., Walker C., Schubler A., 2009** - *Glomus intraradices* DAOM 197198, a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. *New Phytologist*. 183: 1176-1187.

**Sutton P.N., Gilbert M.J., Williams L.E. et Hall J.L., 2007**- Powdery mildew infection of wheat leaves changes host solute transport and invertase activity. *Physiol. Plant.*, 129, 787-795.

**Tamasloukht M., Sejalon-Delmas N., Kluever A., Jauneau A., Roux C., Becard G., et Franken P., 2003.** Root factors induce mitochondrial-related gene expression and fungal respiration during the developmental switch from asymbiosis to presymbiosis in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Plant Physiology*, 131: 1468-1478.

**Tamasloukht M., Waschke A., et Franken P., 2007** - Root exudate-stimulated RNA accumulation in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 1824-1827.



**Thirkell T.J., Charters M.D., Elliott A.J., Sait S.M. et Field K.J., 2017-** Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. *Journal of Ecology* **105**, 921-9.

**Verville J.L., 2003** - Le blé, le seigle et le triticales. 18p

**Wang, B., & QIU, Y.L. 2006.** Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16: 299-363.

**Zahri S., Farih A., Badoc A et Douira A., 2014.** Statut des principales maladies, cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. *Journal of Applied Biosciences* **77**, 6543–6549.

# **Annexes**

## Annexe 01 :

Composition de la solution de Hoagland (Hoagland et Arnon, 1950)

Composés	Quantité (g/L)
<b>Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O</b>	236.1
<b>KNO<sub>3</sub></b>	101.1
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	136.1
<b>MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O</b>	246.5
<b>Trace éléments compléter jusqu'à 1L</b>	
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	2.8
<b>MnCl<sub>2</sub>. 4H<sub>2</sub>O</b>	1.8
<b>ZnSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O</b>	0,2
<b>CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O</b>	0,1
<b>NaMoO<sub>4</sub></b>	0,25
<b>FeEDTA</b>	
<b>EDTA. 2Na</b>	10.4
<b>FeSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O</b>	7,8
<b>KOH</b>	56,1

## Annexe 02 :

## MECHANISMS INVOLVED IN MYCORRHIZAL WHEAT PROTECTION AGAINST POWDERY MILDEW

G. MUSTAFA, B. TISSERANT, B. RANDOUX, J. FONTAINE,  
A. LOUNES-HADJ SAHRAOUI and Ph. REIGNAULT

Université Lille Nord de France, FR-59000 Lille

Université du Littoral Côte d'Opale

Unité de Chimie Environnementale et Interactions sur le Vivant (UCEIV)

50, rue Ferdinand Buisson, FR-62228 Calais, France

E-mail: ghalia.mustafa@yahoo.com

### SUMMARY

In France, the Ecophyto 2018 national action plan will set out to reduce the use of pesticides by 50% by 2018, if possible. To achieve this goal, the use of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi could be a potential alternative method allowing the control of crop diseases. The inoculation by AM fungi has been demonstrated to protect plants against soil-borne pathogens, but little is known about their effectiveness against aerial pathogens, such as the biotrophic fungus *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*) causing wheat (*Triticum aestivum*) powdery mildew. In the present study, wheat plants were grown in pots, under controlled conditions. Using various phosphorus (P) concentrations, the effectiveness of three AM inocula (*Rhizophagus irregularis* (*Ri*), *Funnelformis mosseae* (*Fm*)) and Solrize<sup>®</sup>, a mixture of *Ri* and *Fm*) in Orvantis wheat cultivar, were tested. After 42 days of culture, mycorrhizal (M) and non-mycorrhizal (NM) wheat plants were infected by *Bgt*. A satisfactory mycorrhizal rate was obtained with the phosphorus concentration P/5 (P corresponding to the dose used in wheat fields in = 62 mg/L). Our work shows, for the first time, (i) a protective effect of AM inoculation against wheat powdery mildew, reaching up to 73% with *Fm* inocula, and (ii) its ability to induce a systemic resistance in wheat. Thereafter, we investigated mechanisms involved in this protection. Control plants, M plants, infected plants by *Bgt*, and M-infected plants were compared at: (i) cytological level, our results revealed that papillae and whole-fluorescent cells presence was induced, conversely fungal haustorium formation in epidermal cells was reduced within M plants leaves (ii) enzymatic level-by assessing defense enzyme activities (lipoxygenase, peroxidase) known as defense markers were measured 24, 48, 72 and 96 hours after infection (hai). The importance of these activities in the defense pathways induced in wheat by AM fungi will be discussed.

**Key words:** arbuscular mycorrhizal fungi, wheat, powdery mildew, induced resistance, enzymatic markers, cytological markers.

### INTRODUCTION

Wheat is the most widely cultivated cereal in the world, with more than 215 million hectares planted annually. About 600 million tons are produced per year, accounting for two-thirds of the produced cereals. Unfortunately, this crop is attacked by powdery mildew, a foliar disease caused by *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* (*Bgt*), a biotrophic fungus widely distributed throughout the world, particularly in humid regions. Severe yield losses (about 30%) are associated with early infections of highly susceptible cultivars (<http://www1.agric.gov.ab.ca>). Control of this pathogen requires the intensive and systematic use of fungicides, which cause environmental and human health problems (reprotoxicity, neurotoxicity, carcinogenicity). A potential alternative control strategy is to stimulate natural plant defenses by using plant beneficial micro-organisms such as AM fungi. Arbuscular mycorrhizal symbiosis occurs in more than 80% of terrestrial plants and improves crop production and resistance to biotic and abiotic stresses (Pozo *et al.*, 2009). The establishment of AM symbiosis involves remarkable changes in the physiology of the host plant and their potential to improve the nutrition of

crops has largely been overlooked (Smith *et al.*, 2009). Improvement of phosphorus nutrition has received most attention (Gilbert, 2009). In addition, the beneficial effects of AM symbiosis in plant control disease have been mainly observed in the case of soil-borne pathogens and alleviation of damage has been shown for diseases caused by fungi (Poza *et al.* 2010) and parasitic nematodes (Vos *et al.*, 2012). Such a protective role may rely on different mechanisms and unlikely to be exclusively dependent on an improved mineral nutrition (Liu *et al.*, 2007). On the other hand, information on the effects of the AM symbiosis on pathogens attacking above-ground parts of plants is scarce and more controversial. Different mechanisms of defense were noticed. Concerning AM fungi-colonized root defense pathways, the accumulation of phenolic compounds in the plant cell wall may result in an increased lignification (Cordier *et al.*, 1998). Lignification, as an essential mechanism for disease resistance (Morandi *et al.*, 1984), could be explained by high activity levels of enzymes involved in its formation such as peroxidases (POX) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL). Lignification may contribute to the reduction in pathogen proliferation directly in mycorrhizal roots and defense-associated activities may participate indirectly in plant shoot resistance thanks to AM signals transferred from plant roots to aerial parts. Additionally, the products of lipoxygenase (LOX) activity such as jasmonic acid (JA), methyl jasmonate (MeJA) and their precursors, commonly referred as jasmonates, are signal molecules involved in plant defenses (Hause *et al.*, 2009).

The objectives of the present work were (i) optimization of wheat mycorrhization conditions including: P concentration and AM fungi inocula type, (ii) studying the effect of wheat mycorrhizal inoculation in the protection against *Bgt* and (iii) understanding the cytological and enzymatic mechanisms involved in AM wheat defense.

## MATERIALS AND METHODS

### Biological material

Wheat (*Triticum aestivum* cv. Orvantis) sensitive to powdery mildew caused by (*Bgt*) was used in this study. Seeds were pre-germinated, transplanted into pots and grown in a controlled room culture at 12-18°C night/day, with a 12-12h photoperiod and 70% humidity.

### Experimental design and inoculation by am fungi

Pots were filled with an autoclaved substrate consisted of sand, perlite and vermiculite (2:1:1). Three types of inocula were used:

1. *Rhizophagus irregularis* (*Ri*), (Stockinger *et al.*, 2009), produced in our laboratory.
2. *Funneliformis mosseae* (*Fm*) (MycAgro Ltd, France)
3. SOLRIZE® (SZE): Mix of both fungi *Ri+Fm* (Agrauxin Ltd, France).

Non-mycorrhizal (NM) plants were supplemented with equivalent amounts of autoclaved inocula, which were free from infective AM fungi propagules in order to provide plants with the same organic substances as AM fungi-inoculated plants. Plants were irrigated with a Hoagland's solution (Hoagland and Arnon, 1950) (50 mL/pot/week). Three phosphorus (P) concentrations (P, P/5 and P/10) were used, with P representing the average dose of P applied in wheat field in France (P = 62 mg.L<sup>-1</sup> corresponding to approximately 73 kg.ha<sup>-1</sup> of P, Le Souder, 1998).

### **Estimation of mycorrhizal rate**

Roots were cleared in KOH 10% for 1 h at 70 °C and stained with Trypan Blue 0.05% for 1 h at 70 °C (Phillips and Hayman, 1970). Total (%T), arbuscular (%A) and vesicles (%V) root colonizations were estimated according to the method of McGonigle *et al.* (1990). For each treatment, five slides containing each 20 stained root fragments were made and 3 sections per root fragment were observed under an optical microscope (x100).

### **Pathogen infection**

After 6 weeks of culture, wheat seedlings were infected by *Bgt.* conidia suspension is  $5.10^5$  spores/mL, except for the cytological test, conidia suspension was  $6.10^5$  spores/mL. The symptoms appeared 8 days after infection and the number of colonies/leaf was counted.

### **Enzyme activities**

After 6 weeks of culture, LOX and POX activities were assessed to determine their basal levels in M and NM plants infected or not by *Bgt.* These activities were then measured at 24, 48, 72 and 96 hai. One hundred mg of fresh weight were taken from the third leaf from each plant for LOX assay and/or for measurement the POX activity. LOX assay was performed according to Renard-Merlier *et al.*, (2007) and POX assay was measured as described by Mitchell *et al.* (1994). Proteins were quantified by the method of Bradford (1976).

### **Cytological observation of *Bgt* haustorium formation and fluorescent papillae.**

The third leaf of M and NM infected wheat plant was harvested 48 hai by *Bgt.*, cleared in ethanol: acetic acid solution (3:1) then stained with trypan blue. Conidia germination, papilla and haustorium formation were observed and counted under transmitted light and fluorescence microscope (EX450-490, DM505, BA520).

### **Statistical analysis**

Overall, we used 3 distinct pots as biological replicates for each treatment, (5 plants/pot). Data were analyzed statistically by mean comparison by the least significant difference (LSD) test, using Statgraphics release 5.1 (Manugistic, 278 Inc., Rockville, MD, USA). All values in percentages as the mycorrhizal rate were transformed into arcsine values prior to analysis of variance.

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Effect of phosphorus concentration on wheat mycorrhizal rate**

Our results in Table 1 showed that P/5 and P/10 concentrations led to more important mycorrhizal rates with *Ri* and *Fm*, compared to the high P concentration. These results are in accordance with those obtained by Ratnayake *et al.*, (1978), who found out that low levels of P (0, 6 and 28 ppm P) applied for 8-10 weeks, increased mycorrhization in *Sorghum vulgare*. The amplification of mycorrhization was explained by an increase in the membrane

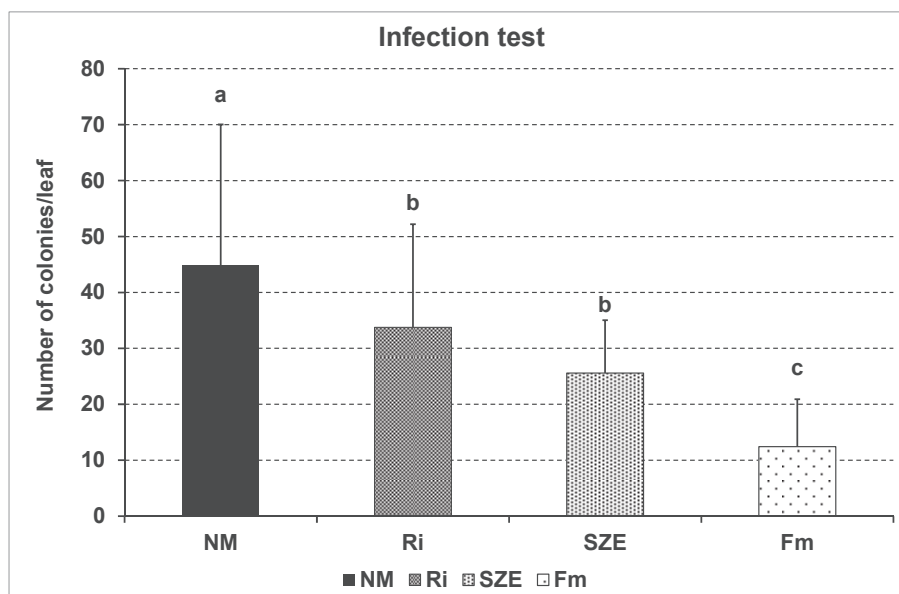
permeability leads to exudation of metabolites in sufficient amounts to sustain the initial growth and development of mycorrhizal spore germination, Ratnayake *et al.*, (1978). In addition, the P/10 concentration resulted in reduced wheat growth (data not shown), and we therefore used the intermediate P/5 concentration in subsequent experiments.

### Effect of phosphorus concentration and am fungi inocula type on wheat infection by *Bgt*.

All types of mycorrhizal inocula (*Ri* and SZE® and *Fm*) have conferred a systemic protection against wheat powdery mildew. The best protection rate reached 73% with *Fm* inocula compared to control (Figure 1). These results suggest a systemic defense of wheat against *Bgt* caused by AM inoculation.

**Table 1.** Impact of phosphorus concentration (P, P/5 and P/10) on the mycorrhizal colonization of plant inoculated or not by three AM fungi inocula types: *Ri*, SZE® and *Fm*. Different letters (a, b, c) indicate statistical significant difference between mycorrhizal rates.

Inocula type	Mycorrhizal rate %		
	P concentrations		
	P	P/5	P/10
NM	0	0	0
<i>Ri</i>	11.03 ± 5.54 a	17.02 ± 4.62 a	32.40 ± 5.41 b
SZE	13.88 ± 3.38 a	11.75 ± 2.89 a	15.84 ± 3.23 a
<i>Fm</i>	12.70 ± 7.16 a	53.39 ± 4.06 d	43.69 ± 9.47 c



**Figure 1.** Impacts of mycorrhizal inoculation on infection by *Bgt*. Different letters (a, b, c) indicate statistical significant difference between infection rates.

### Cytological observation

Ungerminated conidia percentage on M plants leaves was 2 fold higher than that of the NM plants (Table 2). Moreover, in the case of appressorial germ tube and haustorium formation without fluorescent papillae was less frequent (16 fold) within M plants leaves than that of NM plants, the establishment of a mature haustorium representing a key step for successful fungal infection. In contrast, fluorescent papillae presence was more frequent (1,7 fold) on M plants. Usually, papillae formation contribute to the plant's resistance (Schwessinger and Ronald, 2012). Chemical analyses allowed the identification of papillae chemical components, such as phenolic compounds and lignin, cell wall polymer, callose, reactive oxygen species (ROS), and cell wall proteins such as peroxidases (Voigt., 20014). Moreover, we found that the number of whole-cells fluorescence was higher in M plants leaves compared to NM one (Table 2). The appearance of this last phenomenon correlate to the hypersensitive-reponse-like cell death (Hückelhoven *et al.*, 1999).

**Table 2.** Cytological parameters observed under a fluorescence microscope on wheat plants inoculated with *Fm* and infected by *Bgt* after 42 days of culture; plants were irrigated with the P/5 phosphorus concentration.

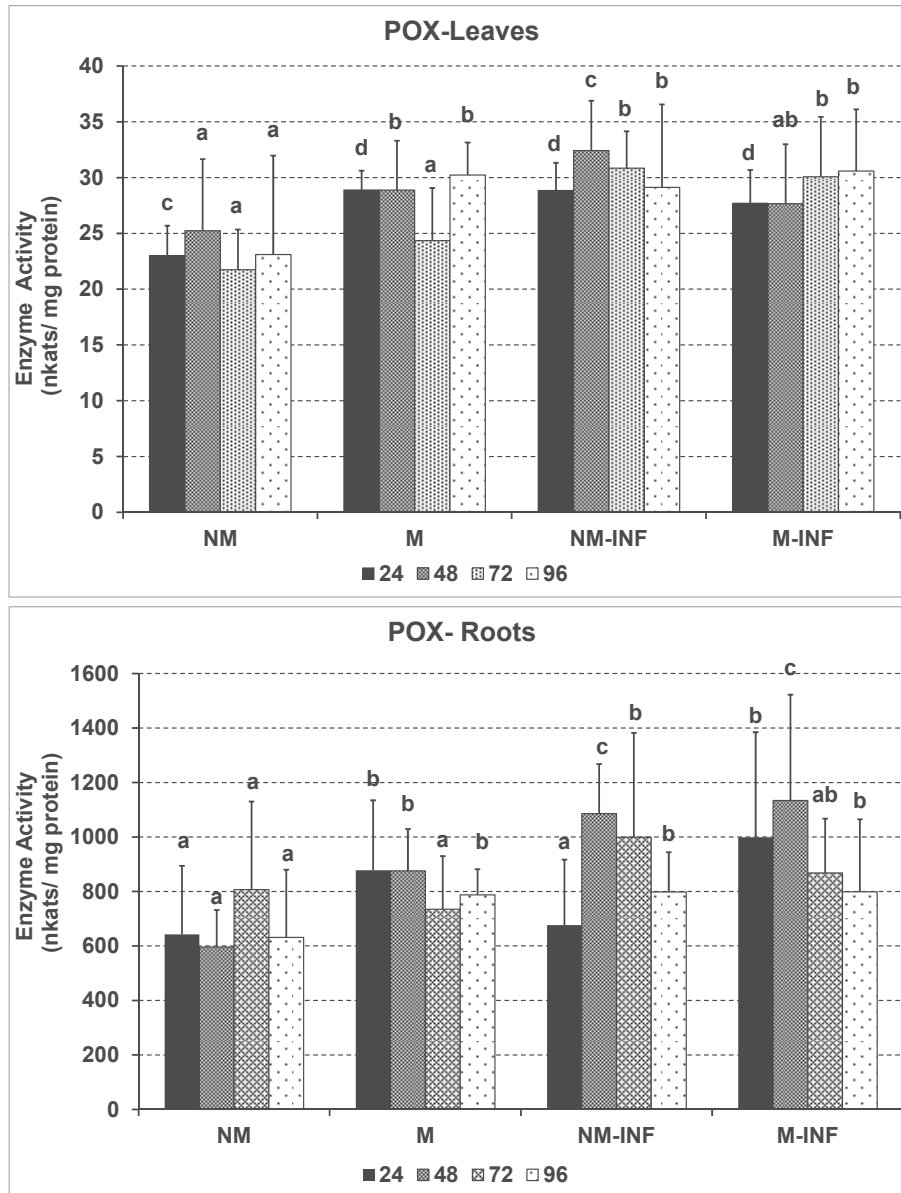
Phenomenon	Conidia (%)		
	NM	M	
Ungerminated conidia	11	21*	
Primary germ tube	8	7	
Aporitive germ tube	1	8*	
Appressorial germ tube without and/ with haustorium	Without fluorescent papillae	48	3*
	With fluorescent papillae	31	53*
	Auto-fluorescent cell	1	8*

\*: indicate statistical significant difference between M and NM plants, LSD ( $P \leq 0.05$ ). Observations were performed 48 hours subsequent to infection

### Effect of mycorrhizal inoculation on pox and lox activities in wheat roots and leaves

Overall, our results demonstrated a slight significant increase of POX activity in M plants roots and leaves, compared to NM plants (control) in non-infectious test (Figure 2). These results suggest a systemic induction of POX activity by mycorrhizal inoculation in wheat leaves. Conversely, neither AM fungus inoculation nor *Bgt* infection induced LOX activity in wheat plants (data not shown).





**Figure 2.** Impact of AM inoculation and *Bgt* infection on POX activity in wheat leaves and roots at 24, 48, 72 and 96 hai of mycorrhizal plants non-infected by *Bgt* (M), non-mycorrhizal plants infected by *Bgt* (NM-INF) and mycorrhizal plants-infected by *Bgt* (M-INF), non-mycorrhizal plants-non-infected by *Bgt* (NM). Different letters (a, b, c) indicate a significant difference between the different treatments in the same day.

Taken together, our findings highlighted that the moderate P/5 phosphorus concentration (12.5 mg/L) allowed both satisfactory wheat growth and mycorrhizal rate. In our experimental conditions, *Fm* inoculum was found to be more efficient than SZE and *Ri* for wheat mycorrhizal rate as well as for reduction of infection rate by *Bgt* indicating the capacity of AM fungi to protect wheat against *Bgt*. This protection suggested that AM fungi are able to induce a systemic resistance against the foliar and obligate biotrophic pathogen *Bgt*. Peroxidase activity was increased in both roots and leaves of M plants compared to NM plants. Moreover, our cytological study demonstrated that fluorescent papillae were more induced in M wheat plants than in NM plants; this may be due to the accumulation of phenolic compounds. For a better understanding of the mechanisms involved in AM wheat protection against *Bgt*, it will be interesting to assess (i) PAL activity, a key enzyme in phenylpropanoid biosynthesis and/or lignine pathway (ii) and to study defense gene expression (*i.e.* genes encoding PR-proteins like, PR1, PAL and Chitinases...).

## REFERENCES

- BRADFORD M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification microgram quantities of proteins utilizing the principal of protein-day binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- CORDIER C., POZO M.J., BAREA J.M., GIANINAZZI S. and GIANINAZZI-PEARSON V. (1998). Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol Plant-Microbe Interact.* 11:1017-1028
- GILBERT N. (2009). Environment: the disappearing nutrient. *Nature.* 461:716-718.
- HAUSE, B. and CHAARSCHMIDT, S. 2009: The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-born microorganisms. *Phytochemistry.* 70: 1589-1599.
- HOAGLAND D.R. and ARNON D.I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circ Calif Agric Exp Stn* 347.
- HÜCKELHOVEN R., FODOR J., PREIS C. and KOGEL K. (1999). Hypersensitive Cell Death and Papilla Formation in Barley Attacked by the Powdery Mildew Fungus Are Associated with Hydrogen Peroxide but Not with Salicylic Acid Accumulation. *Plant Physiology.* 119: 1251-1260.
- LIU J., MALDONADO-MENDOZA I., LOPEZ-MEYER M., CHEUNG F., TOWN C.D. and HARRISON M.J. (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant Journal.* 50:529-544
- MCGONIGLE T.P., MILLER M.H., EVANS D.G., FAIRCHILD G.L. and SWAN J.A. (1990). A method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist.* 115: 495-501
- MORANDI D., BAILEY J.A. and GIANINAZZI PEARSON V. (1984). Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Physiological Plant Pathology.* 24: 357-364.
- MITCHELL H.J., HALL J. and BARBER M.S. (1994). Elicitor-Induced Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase Activity in Lignifying Wheat (*Triticum aestivum*) Leaves. *Plant Physiol.* 104: 551-556
- PHILLIPS J.M., HAYMAN D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society.* 55:158-161.
- POZO M.J., VERHAGE A., GARCÍA-ANDRADE J., GARCÍA J.M. and AZCÓN-AGUILAR C. (2009). Priming plant defenses against pathogens by arbuscular mycorrhizal fungi. In: AZCÓN-AGUILAR, C., BAREA, J.M., GIANINAZZI S., GIANINAZZI-PEARSON, V. (eds) *Mycorrhizas: functional processes and ecological impact.* Springer, Heidelberg. 123-136
- POZO M.J., JUNG S.C., LOPEZ-RAEZ J.A., and AZCÓN-AGUILAR C. (2010). Impact of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis on Plant Response to Biotic Stress: The Role of Plant Defence Mechanisms. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function.* 193-207.
- RATNAYAKE M., LEONARD R.T. and MENGE J.A. (1978). Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytol.* 81: 543-552.