

Université Ibn Khaldoun, Tiaret  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



## Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

## Master académique

en

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la Vie.  
**Filière :** Sciences Biologiques.  
**Spécialité :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :  
ANACER Djahida  
SAMET Nourelhouda  
SOUID Marwa

Intitulé

## Effet antagoniste de quelques souches bactériennes sur l'agent du mildiou de la pomme de terre

Soutenu publiquement le /06/2019.

Devant les membres de jury :

Président	M. BENAÏSSA T.	MAA
Examineur	M. YEZLI W.	MCB
Encadreur	Mme. AIT ABDERRAHIM L.	MCB
Encadreur	M. TAÏBI K.	MCA

## Remerciements

Au terme de ce travail, nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a permis de réaliser ce travail en nous donnant force et volonté.

Nous sommes très honorées de vous avoir comme encadreur **Dr. AIT ABDERRAHIM Leila**. Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail. Nous avons eu le grand plaisir de travailler avec vous, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance. Vous êtes et vous serez pour nous l'exemple de rigueur et de droiture dans l'exercice de la profession. Veuillez, chère professeur, trouvé dans ce modeste travail l'expression de notre haute considération, de notre sincère reconnaissance et de notre profond respect.

Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur **Dr. TAIBI K.** pour avoir accepté de diriger ce travail nous tenons à vous remercier chaleureusement et respectueusement pour votre contribution concrète, votre affection, votre appui, votre soutien moral et vos conseils.

Nos vifs remerciements s'adressent aux membres du jury de soutenance ; **M. BENAÏSSA T.** et **M. YEZLI W.** qui ont bien voulu évaluer notre travail. Vos remarques ne contribueront qu'à améliorer la qualité de celui-ci.

Notre profonde gratitude va à **M. BENKHETTOU AEK.** pour son aide et ses précieux conseils.

Nous remercions également les ingénieurs de laboratoire de la faculté des Sciences de la Nature et de la vie, particulièrement **M. SAÏD AEK., Mlle SOUALEMI K.** et **M. BENHALIMA.**

Enfin, nous adressons notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation durant tout le cursus universitaire.

**Merci à tous**

## *Dédicace*

*A l'être le plus cher à mon cœur, à celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminée mes nuits sombres et a ensoleillée mes jours avec son inépuisable affection, à ma jolie mère « **Fatma** » à qui je voue tous mes sentiments.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir ;  
à mon père « **Djillali** ».*

*A Mon frère, le bijou de la famille « **Sahraoui** » je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité, je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

*A mes sœurs les prunelles de mes yeux « **Sakina, Malika, Amina, Hadjira, Saadia, Fouzia et Wafaa** »*

*En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance ; je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*À mes chers petits neveux et nièces « **Rayane, Aya, Abdel halim, Fadewa, Khaled, Ritadje, Mohamed, Joury, Nada et Yanisse** »*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour vous,  
Votre joie et votre gaieté me comblent de bonheur.*

*Une spéciale dédicace à ma grande mère chérie « **maa Kheira** »*

*Elle m'a accompagné par ses prières et sa douceur*

*Puisse Dieu lui donner longue vie, beaucoup de santé et de bonheur.*

*A mes chères collègues mon coup de cœur **Houda** et la douce **Marwa** ; Les mots ne suffisent pas pour vous exprimer toute ma reconnaissance. Vous êtes pour moi des personnes très chères sur qui je peux toujours compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.*

***Djahida***

# *Dédicace*

## *A mes parents*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que Dieu te garde et te protège, à toi **mon père**.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **mes mères** que j'adore.*

## *A ma chère sœur Nawel*

*Mon amie fidèle, qui m'a assistée dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles. Je te suis très reconnaissante, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité et ton aide précieuse.*

## *A mes Chers et Adorables sœurs et frère Hichame*

*La prunelle de mes yeux Bakhta, la douce Marwa, l'aimable Sarah mes petites Wissal et Manel.*

*Mon frère que j'adore Hichame.*

## *À mes chers petits neveu et nièce Mohamed et Amina*

## *À Mes amies de toujours*

*Marwa, les deux Imene ; en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

## *A mon trinôme Djahida et Marwa*

*Pour leur soutien moral, leur patience et leur compréhension tout au long de ce projet je vous aime.*

## *À mes chers oncles, tantes*

## *À mes chers cousins et cousines*

*Une spéciale dédicace à ma cousine Aïcha qui compte chère pour moi.*

**NOURELHOUDA**

# Dédicace

## À MES CHÈRES PARENTS

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en m'acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A MES TRÈS CHÈRES ET ADORABLE FRÈRES «**Nourelaine et ismail mon petit frère que j'adore** », sans oublier ma grand-mère et mes beaux-parents que j'aime. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé.*

***UNE SPECIALE DEDICACE A MON TRÈS CHÈRE EPOUX «YOUNES Walid»** aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, mon amour et mon respect. Je remercie le bon Dieu qui a croisé nos chemins. Puisse le bon Dieu nous procurer santé et longue vie.*

*A mes chères collègues, la prunelle de mes yeux **Zahia** et la douce, au cœur si grand, **Amel**, les mots ne suffisent pas pour vous exprimer toute ma reconnaissance. Vous êtes pour moi des personnes très chères sur qui je peux toujours compter. En témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

*A mon trinôme **Djahida** et **Houda**, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.*

*A tous les membres de ma famille, petits et grands, veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.*

**Marwa**

## ملخص

العفن الفطري الناتج عن فيتوفثورا واحد من أكثر الأمراض تدميرا لمحصول البطاطا. حتى الآن، لا توجد وسيلة فعالة للقضاء على هذه الآفة.

كان الهدف من هذه الدراسة تقييم تأثير بعض السلالات البكتيرية على *Phytophthora infestans* ، مع العلم أن هذه السلالات أثبتت سابقاً أن لها تأثيراً مضاداً على *Phytophthora sp.* في المختبر. وقد تم ذلك من خلال مقارنة العامل الممرض مع العامل المضاد في أطباق بتري، ثم عن طريق التطبيق على نبات البطاطا.

من بين 18 سلالة بكتيرية تم اختبارها، معظمها ينتمي إلى جنس العصيات، أظهرت ست سلالات تشبيهاً كبيراً يتراوح بين 22 إلى 62% من نمو *P. infestans* على طبق بتري. وقد تم تطبيق *P. infestans* على نبات البطاطا، لم تلاحظ أي أعراض على الأوراق أو أي جزء آخر من نبات البطاطا مما أجبرنا على إيقاف الاختبار في المختبر. على الرغم من عدم الحصول على نتائج من خلال اختبار نبات البطاطا ، فإن النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر واعدة.

هذا العمل هو إضافة إلى الأعمال الأخرى المتعلقة بالتحكم البيولوجي في اللفحة المتأخرة وخاصة فيما يتعلق بدورها المهم في مكافحة الأمراض المسببة للأمراض النباتية وتقليل المخاطر الناتجة عن استخدام العوامل الكيميائية.

**الكلمات المفتاحية :** البطاطا ، اللفحة المتأخرة ، فيتوفثورا ، مكافحة البيولوجية ، مقاومة.

## **Abstract**

Potato late blight caused by the oomycete *Phytophthora infestans* is one of the most devastating diseases of this crop. To date, there is no effective method to eradicate this scourge.

This study aimed to evaluate the impact of some bacterial strains on *P. infestans in vitro* and *in vivo*, knowing that these strains were previously demonstrated having an *in vitro* antagonistic effect on *Phytophthora* sp.

To achieve this goal, a direct confrontation between the phytopathogen and the bacterial isolates was done in Petri dishes containing growth medium. After that, confrontation, *in vivo*, by direct application of these agents on potato plantations infected with *P. infestans* was performed.

Of the eighteen bacterial strains tested, mostly belonging to the genus *Bacillus*, six strains showed significant inhibition of *P. infestans* growth *in vitro* ranging from 22 to 62 %.

However, after applying *P. infestans* on potato plantations no symptoms were observed on the leaves or on any other part of the plant which led us to stop the *in vivo* testing.

Although no results were obtained by the *in vivo* test, the results obtained *in vitro* are promising.

This work constitutes an add value to other works regarding the biological control of late blight especially with regard to its important role in the control of phytopathogenic diseases and the reduction of the risks generated by the use of chemical agents.

## **Key words**

*Solanum tuberosum* L., late blight, *Phytophthora infestans*, biological control, antagonism.

## Résumé

Le mildiou de la pomme de terre causé par l'oomycète *Phytophthora infestans* est l'une des maladies les plus dévastatrices de cette culture. A ce jour, il n'existe aucune méthode efficace pour éradiquer de ce fléau.

L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'impact de quelques souches bactériennes sur *P. infestans in vitro* et *in vivo*, sachant que ces souches ont été démontrées préalablement ayant un effet antagoniste sur *Phytophthora sp. in vitro*.

Ceci a été réalisé à travers la confrontation du phytopathogène avec l'agent antagoniste *in vitro* dans des boîtes de Petri, puis *in vivo* par application sur des plants de pomme de terre. Sur les dix-huit souches bactériennes testées, pour la plupart appartenant au genre *Bacillus*, six souches ont démontré une importante inhibition allant de 22 à 62 % de la croissance de *P. infestans* sur boîte de Petri. Celles-ci ont été sélectionnées et testées pour leur activité antagoniste *in vivo*. Cependant, après l'application de l'agent phytopathogène sur les plants de pomme de terre, aucun symptôme n'a été observé sur les feuilles ni sur aucune autre partie des plants de pomme terre ce qui nous a forcé à arrêter l'essai au niveau *in vitro*.

Quoiqu'aucun résultat n'a été obtenu par l'essai *in vivo*, les résultats obtenus *in vitro* sont prometteurs.

Ce travail s'ajoute aux autres recherches concernant la lutte biologique contre le mildiou notamment en vue de son rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes et la diminution des risques engendrés par l'utilisation des agents chimiques.

## Mots clés

*Solanum tuberosum* L., mildiou, *Phytophthora infestans*, lutte biologique, antagonisme.



## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Cycle de végétation de la pomme de terre.....	05
<b>Figure 2.</b> Symptômes du mildiou sur les feuilles de la pomme de terre.....	08
<b>Figure 3.</b> Symptômes du mildiou sur la tige de la pomme de terre.....	08
<b>Figure 4.</b> Symptômes du mildiou sur les tubercules.....	09
<b>Figure 5.</b> <i>Phytophthora infestans</i> .....	10
<b>Figure 6.</b> Cycle de vie de <i>Phytophthora infestans</i> .....	11
<b>Figure 7.</b> Fragments de feuilles de pomme de terre sur la gélose PDA/ Sabouraud.....	16
<b>Figure 8.</b> Tubercules de pomme de terre utilisés .....	16
<b>Figure 9.</b> Protocole expérimentale.....	17
<b>Figure 10.</b> Confrontation directe entre <i>Phytophthora infestans</i> et les bactéries.....	18
<b>Figure 11.</b> Suspensions bactériennes préparées.....	18
<b>Figure 12.</b> Plant de pomme de terre.....	19
<b>Figure 13.</b> Inoculations du plant de pomme de terre par <i>P. infestans</i> sur les feuilles ..	19
<b>Figure 14.</b> Inoculation des isolats bactériens sur la partie racinaire .....	19
<b>Figure 15.</b> Mycélium obtenu à partir feuilles de pomme de terre.....	21
<b>Figure 16.</b> Culture pure de <i>Phytophthora infestans</i> .....	21
<b>Figure 17.</b> Observation microscopique de <i>Phytophthora infestans</i> (Gx100).....	22
<b>Figure 18.</b> Taux d'inhibition (%) de <i>P. infestans</i> par les isolats bactériens testés.....	22
<b>Figure 19.</b> Confrontation directe entre les isolats bactériens et <i>P. infestans</i> .....	23
<b>Figure 20.</b> Absence des symptômes du mildiou après inoculation par <i>P. infestans</i> ....	24

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Principales maladies de la pomme de terre (Bermoul et al. 2008).....	06
--	----

## Sommaire

Résumés

Liste des figures

Liste des tableaux

## Sommaire

Introduction .....01

### Synthèse bibliographique

1. Pomme de terre .....	03
1.1. Description.....	03
1.2. Variétés de pomme de terre.....	03
1.3. Cycle végétale de la pomme de terre.....	04
1.4. Pomme de terre en Algérie.....	05
1.5. Principale maladie de pomme de terre .....	06
2. Mildiou .....	07
2.1. Description .....	07
3. <i>Phytophthora infestans</i> .....	09
3.1. Description morphologique .....	09
3.2. Cycle biologique .....	10
4. Moyens de lutte .....	11
4.1. Lutte culturale.....	12
4.2. Lutte génétique .....	12
4.3. Lutte chimique.....	12
4.4. Lutte biologique .....	12
4.4.1. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique.....	13
• Antibiose .....	13
• Compétition .....	13
• Parasitisme .....	13
4.4.2. Lutte biologique contre les agents phytopathogènes.....	14

## Partie expérimentale

1. Objectif du travail.....	15
2. Méthodologie.....	15
2.1. Matériel .....	15
2.1.1. Matériel biologique .....	15
2.2. Méthodes.....	17
2.2.1. Protocole expérimental.....	17
2.2.2. Evaluation de l'activité antagoniste entre <i>P. infestans</i> et les bactéries isolées.....	17
3. Analyse statistique .....	20

## Résultats

1. Isolement de <i>Phytophthora infestans</i> .....	21
2. Evaluation de l'activité antagoniste entre <i>P. infestans</i> et les bactéries isolées.....	21

<b>Discussion</b> .....	24
-------------------------	----

<b>Conclusion et perspectives</b> .....	27
---	----

## Références bibliographiques

# Introduction

## Introduction

La pomme de terre est une plante à fleurs appartenant à la famille des Solanaceae (Rousselles et al. 1996). Elle se classe parmi les plantes à tubercules les plus nutritives avec une teneur énergétique élevée. Sa consommation occupe la première place parmi les cultures maraichères dominantes (Daoud et al. 2017). De plus, elle constitue une ressource financière des populations à l'échelle mondiale ; en effet sa culture occupe la quatrième place après le maïs, le blé et le riz (Chebah 2016). La production mondiale de pomme de terre a été estimée à 385 millions de tonnes en 2013/2014, réparties entre 151 pays producteurs dans une surface de 20 millions d'hectares (FAO 2013).

Cette culture maraichère est soumise à l'attaque de maladies diverses dues à des oomycètes, des virus, des champignons, des bactéries, des insectes et des nématodes. Certains se manifestent pendant la période de culture, d'autres causent des dégâts lors du stockage (Daoud et al. 2017).

Parmi les maladies les plus dévastatrices des cultures de pomme de terre ; le mildiou provoqué par l'oomycète *Phytophthora infestans*. Les dégâts causés par celui-ci peuvent atteindre 90 % de la culture selon la sensibilité variétale et les conditions climatiques. Le mildiou se développe sur les organes aériens des plants de pomme de terre, mais il peut également contaminer les tubercules et les rendre impropre à la consommation. Cette maladie occasionne des dégâts avec des conséquences très importantes sur le rendement et la qualité des récoltes. D'ailleurs, le mildiou a été à l'origine de la grande famine qui a frappé l'Irlande entre les années 1845 et 1851 où il a ravagé les récoltes pendant plusieurs années successives. Cette maladie reste encore aujourd'hui le facteur limitant la production de pomme de terre à l'échelle mondiale (Nelson 2008 ; Belkhiter 2013 ; Bakkar 2014).

A ce jour, il n'existe aucune méthode permettant de lutter efficacement contre cette maladie. L'une des solutions alternatives contre les agents phytopathogènes est le biocontrôle de ceux-ci tout en diminuant l'emploi de produits chimiques qui ont des effets secondaires néfastes (Chagloufa 2017).

Parmi ces mesures de contrôle alternatif, l'utilisation d'antagonistes est une piste à explorer. Cette stratégie est basée sur l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs dérivés

qui ont soit un potentiel inhibiteur de l'agent phytopathogène, soit l'habilité d'accroître les défenses de la plante (Nautiyal 2000).

Dans cette perspective, et en complément aux travaux déjà initiés, notre étude a eu pour objectif d'évaluer l'impact de quelques souches bactériennes, démontrées antagonistes vis-à-vis de *Phytophthora* sp. lors d'un travail précédent, sur l'espèce *P. infestans*. L'antagonisme sera évalué à travers des essais *in vitro* et *in vivo*.

# **Synthèse bibliographique**



## Synthèse bibliographique

### 1. Pomme de terre

La pomme de terre *Solanum tuberosum* L. est une plante appartenant à la famille des Solanaceae. Le genre *Solanum* regroupe environ 2000 espèces dont plus de 200 sont tubéreuses (Hamnache 2017). Cette famille englobe plusieurs plantes utilisées dans l'alimentation humaine et cultivées dans le monde (Mahbou Somo Toukam 2010).

#### 1.1. Description

La pomme de terre est une plante vivace, herbacée, dicotylédone et tubéreuse. C'est une plante à fleurs avec un tubercule riche en amidon et possédant des qualités nutritives. La partie aérienne de la plante est composée d'une ou plusieurs tiges (tiges principales et latérales) de port plus ou moins dressé et portant des feuilles alternes disposées en spirale (Rousselles et al. 1996). Le fruit est une baie sphérique contenant une quantité significative de solanine, un alcaloïde toxique avec de petites graines plates. Les inflorescences sont des cimes axillaires, composées de 8 à 10 fleurs, de couleurs violettes, bleutées et rouge violacé (Chebbah 2010).

La partie souterraine comprend les tubercules qui donnent à la pomme de terre sa valeur alimentaire. Généralement les tubercules ont une couleur de peau jaune, mais peut être rouge, noire, brune ou rosée. La couleur de la chair est blanche, jaune plus ou moins foncée, rose ou violette selon les variétés (Boufares 2012). Cette partie est composée du tubercule mère desséché avec des racines et des stolons qui prennent naissance au niveau des nœuds basaux des tiges. Les racines de la pomme de terre sont constituées par des entre nœuds, courts et portent des bourgeons qu'on appelle les « yeux » situés dans de petites dépressions. Ces bourgeons se développent et donnent les germes et les futures tiges aériennes (Chebbah 2010).

#### 1.2. Variétés de pomme de terre

Les variétés de pomme de terre sont nombreuses ; dans les variétés à peau blanche on trouve la Spunta, Fabula, Sigma, Sieglinde alors que dans les variétés à peau rouge on trouve la Désirée, Kondor, Bintje et Hermes.

- **Variété Désirée**

Selon Boufares (2012) ;

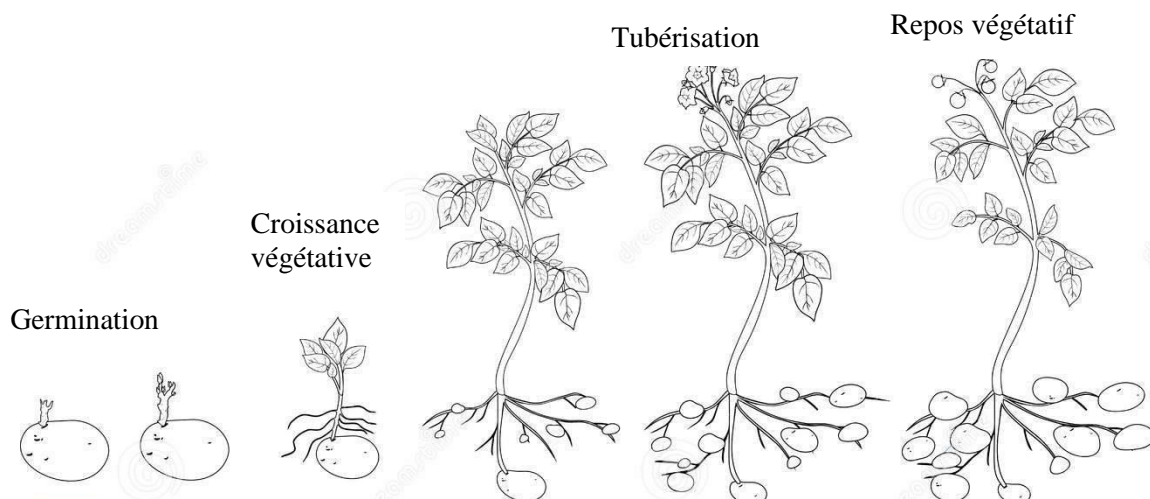
- ✓ Origine génétique : Urgenta X Depesche.
- ✓ Obtenteur(s) : BV de ZPC (entreprise néerlandaise spécialisée dans la production et la commercialisation de plants de pomme de terre).
- ✓ Année d'inscription au catalogue national : 1988.
- ✓ Le plant de cette variété est court à moyen et semi dressé, avec une tige épaisse et vigoureuse.
- ✓ Les nœuds et entre-nœuds sont de couleur rouge pourpre.
- ✓ Les feuilles ont une couleur vert gris mat. Elles sont moyennement longues et rigides. Les nervures médianes et les pétioles sont entièrement rouges pourpres sauf, les surfaces inférieures qui sont vertes.
- ✓ Les fleurs sont nombreuses avec des grandes corolles roses, les pédoncules longs et rougeâtres.
- ✓ La forme des tubercules est oblongue, moyenne à grosse. Sa peau est rouge, lisse avec des yeux superficiels à mi profonds, et une chair jaune pâle.
- ✓ Le stade du repos végétatif est long.
- ✓ Le germe est d'une forme cylindrique et fortement pigmentée par contre l'apex est légèrement pigmenté.
- ✓ Forte résistance à la sécheresse et bonne résistance au virus  $\gamma$  et à la gale poudreuse.
- ✓ Sensible au nématode à kyste de la pomme de terre et aux déformations sur les sols lourds.
- ✓ Modérément sensible aux virus de la panachure et de la mosaïque bénigne.

### 1.3. Cycle végétale de la pomme de terre

La durée du cycle végétatif de la pomme de terre varie de 90 à 150 jours ; elle dépend de l'état physiologique des tubercules qui sont plantés, de l'ensemble des facteurs agro-climatiques et des variétés utilisées (Rousselle et al. 1996). Les étapes de développement de la pomme de terre (Fig. 1) sont :

- ✓ **Germination** : Après la plantation du tubercule, ses germes s'allongent jusqu'à atteindre le niveau du sol, ce qui constitue le stade de la levée. Dans le même temps, les racines commencent leur élongation et leur ramification.

- ✓ **Croissance végétative** : Les germes poursuivent leur croissance au-dessus du sol en devenant des tiges feuillées. Les bourgeons aériens des tiges donnent des rameaux, et les bourgeons souterrains généralement des stolons.
- ✓ **Tubérisation** : Selon les variétés et les conditions du milieu pour une même variété, les stolons cessent leur élongation et leurs extrémités se renflent pour former les ébauches des tubercules. Les ébauches différenciées vont grossir en emmagasinant des réserves.
- ✓ **Repos végétatif** : Pendant leur grossissement, les tubercules se trouvent dans un état de repos végétatif et leurs bourgeons sont incapables de croître pour donner des germes (phase de dormance). Ce repos continue après la récolte pendant une période d'environ 3 à 4 mois. A la fin de ce repos, la croissance des germes redevient possible, ce qui constitue le point de départ d'un nouveau cycle de végétation (Bekkar 2014).



**Figure 1.** Cycle de végétation de la pomme de terre (Houidi et Ahmadi 2007).

#### 1.4. La pomme de terre en Algérie

La pomme de terre a probablement été introduite en Algérie au 16<sup>ème</sup> siècle par les Maures andalous, elle a été cultivée principalement pour l'exporter vers le marché Français. En 1962, lorsque le pays acquit son indépendance, il produisait 25 000 tonnes par an et en exporte le tiers. Après l'indépendance la pomme de terre est devenue la première culture maraîchère de point de vue superficie et production. La superficie cultivée atteint une production de 2,18 millions de tonnes en 2006.

### 1.5. Principales maladies de pomme de terre

Les principales maladies de la pomme de terre sont décrites dans le tableau 1.

**Tableau 1.** Principales maladies de la pomme de terre (Bermoul et al. 2008).

Maladie	Agent phytopathogène		Symptômes
Gale commune	Bactérie	<i>Sterptomyces scabies</i>	Formation de gale basse liée à l'épiderme des organes de réserves.
Jambre noire		<i>Erwinia carotorova</i>	Une pourriture complète. Les feuilles s'enroulent, jaunissent et sèchent. Pourriture humide au niveau des organes de réserves.
Mildiou	Oomycète	<i>Phytophthora infestans</i>	Formation de taches larges sur les feuilles. Taches diffuses brunes irrégulières sur les tubercules.
Gale poudreuse	Champignon	<i>Spongospora subterranea</i>	Petite nodosité sur les racines. Pustules au niveau des tubercules et stolons.
Gale verruqueuse		<i>Synchytrium endobioticum</i>	Excroissance verruqueuse en forme d'éponge au niveau des tubercules et stolons.
Maladie de dégénérescence	Virus	Virus : PLRV/ PVX/ PVY	Enroulement des feuilles frisolées, mosaïques bigarrés, nécroses.

## 2. Mildiou

Le mildiou est la maladie la plus grave de la pomme de terre. Cette maladie touche également la tomate et le poivron, ainsi que d'autres plantes de la même famille. Le mildiou est originaire du Mexique et s'est propagé en Europe et en Amérique du Nord au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle, provoquant de redoutables famines ; en Irlande notamment. En Afrique la maladie a été détectée pour la première fois en 1941 en Afrique du sud (Bekkar et Bousiala 2014).

Chaque année, cette maladie entraînerait des pertes de rendement pour les producteurs de pomme de terre estimées à plus de trois milliards d'euros à travers le monde (Fry 2008) dont 900 millions d'euros en Europe (Haverkort et al. 2008).

### 2.1. Description

Le mildiou est une maladie cryptogamique, causée par l'oomycète *Phytophthora infestans*. Cette maladie peut toucher la plupart des organes de la plante, elle détruit le feuillage et les tubercules de la pomme de terre sur lesquels elle provoque des nécroses. L'agent du mildiou *P. infestans* peut survivre entre les périodes de végétation sous forme de mycélium dans les tubercules et dans les tissus végétaux de la pomme de terre, ainsi que sur les hôtes facultatifs de la famille Solanaceae (Lepoivre 2003). Les symptômes de cette maladie sont :

- **Feuilles**

Les tous premiers symptômes de la maladie au champ sont habituellement visibles sur les feuilles (Fig. 2). Ces symptômes sont des taches aqueuses circulaires ou irrégulières à l'extrémité et à la marge des feuilles. Ce sont des taches variantes de couleurs de vert pale ou vert foncé qui se transforment plus tard en lésion brunes ou noires (Platt 2008). Les lésions commencent fréquemment aux pointes des feuilles ou sur les bords. Les taches sont d'abord vert foncé, grandissent et deviennent brunes à un stade plus avancé de l'infection par l'agent pathogène, qui produit à l'extérieure des taches sous les feuilles ayant l'aspect d'une substance blanche. Une bande vert pale ou jaune de quelques millimètres de large sépare souvent les tissus morts des tissus sains. En condition de forte humidité et de basse température, les lésions se répandent rapidement (Platt 2008).

La sporulation ressemblant à un duvet blanchâtre entourant les lésions et peut être visible sur la face des feuilles les plus basses. La maladie peut se répandre à partir des premières

folioles infectées de quelques plantes à la plupart des plantes d'un champ en moins d'une semaine (Platt 2008).



**Figure 2.** Symptômes du mildiou sur les feuilles de la pomme de terre.

- **Tiges**

Les lésions peuvent se développer en surface ou à l'intérieur de pétioles et des tiges à partir des feuilles et se répandre longitudinalement (Fig. 3). Les tiges infectées sont affaiblies et peuvent entraîner l'affaissement de la plante entière (Rousselle et al. 2002).



**Figure 3.** Symptômes du mildiou sur la tige de la pomme de terre.

- **Tubercules**

Les tubercules infectés présentent une décoloration superficielle, sombre et irrégulière. Les lésions nécrotiques sèches et brunes se répandent de la peau vers le tissu interne du tubercule (Fig. 4). En raison de la présence de pathogènes secondaires, la pourriture sèche

caractéristique de *P. infestans* peut devenir une pourriture molle dégageant souvent une odeur nauséabonde (Björn 2007).



**Figure 4.** Symptômes du mildiou sur les tubercules.

### 3. *Phytophthora infestans*

Les oomycètes appartenant au genre *Phytophthora* sont parmi les agents pathogènes les plus invasifs et dévastateurs des cultures, ils ont été identifiés en 1876 par le botaniste allemand Anton de Bary qui leur a donné le nom de *Phytophthora* signifiant en grec le destructeur des plantes. Plus de 70 espèces de *Phytophthora* ont été identifiées, celles-ci ont une très grande facilité pour infecter les plantes avec souvent une grande spécificité d'hôte c'est le cas de *Phytophthora infestans* (Fig. 5) responsable du mildiou de la pomme de terre (Suty 2010). La plupart des caractères morphologiques de *P. infestans* peuvent uniquement être observés au microscope. Le mycélium est caractérisé par une absence presque totale de cloisons transversales. Le mycélium se développe entre les cellules (intercellulaire) des tissus de l'hôte infecté, des extensions pénètrent les cellules individuelles (Suty 2010).

Les conditions chaudes et humides favorisent le développement rapide et la propagation de cet agent phytopathogène (James 2010). Celui-ci survit pendant des années dans les sols humides même en l'absence de plantes hôtes appropriées, et se propage par l'intermédiaire des tissus végétaux en décomposition (James 2010).

#### 3.1. Description morphologique

*P. infestans* possède un mycélium coenocytique hyalin à développement endogène via la formation d'haustoria. Le mycélium produit des sporangiophores qui forment à leurs extrémités des sporanges. Les sporanges germent soit par la formation d'un tube

germinatif, lorsque la température est supérieure à l'optimum de germination des sporanges; soit par la différenciation de leur cytoplasme en zoospores, si la température est inférieure à l'optimum de germination du mycélium et en présence de l'eau. Les sporanges sont de forme ovoïde à elliptique effilé à la base (Fig. 5). Les zoospores sont mobiles possédant deux flagelles : un flagelle postérieur lisse et un flagelle antérieur portant des mastigonèmes. *P. infestans* est un organisme hétérothallique possédant deux types de compatibilité sexuelles A1 et A2 (souche A1 et A2). La rencontre de souches de type opposé (A1 et A2) sur une même plante, peut conduire à la formation d'oospores (Bekkar et Bousiala 2014).



**Figure 5.** *Phytophthora infestans*

### 3.2. Cycle biologique

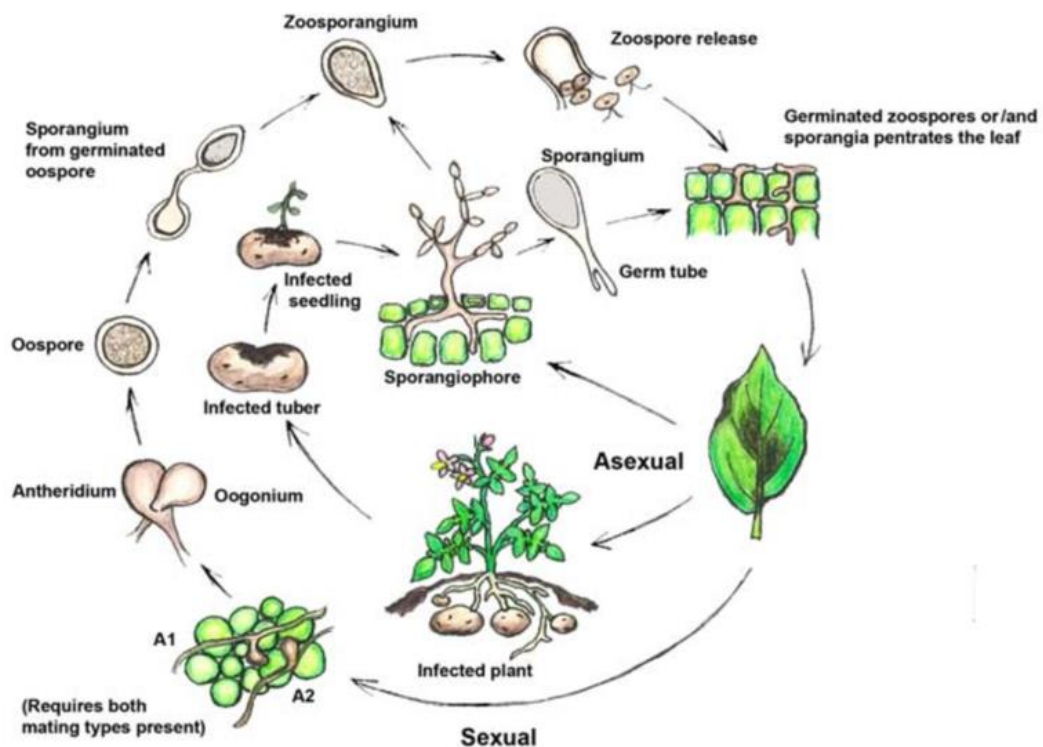
*P. infestans* comprend deux phases, une phase asexuée assurée par les sporanges et une autre phase sexuée assurée par les oospores (Fig. 6). Une fois sur les folioles, les sporanges libèrent des zoospores flagellées ; la température optimale de leur libération est de l'ordre de 13°C. Ces zoospores, une fois fixées, perdent leurs flagelles et s'enkystent puis émettent un tube germinatif qui pénètre dans la foliole le plus souvent via les stomates mais aussi, parfois directement au travers de la cuticule des cellules épidermiques. Les sporanges peuvent donner aussi naissance à un filament germinatif (Belkhiter 2013).

Les tissus foliaires sont par la suite rapidement envahis par les mycéliums non cloisonnés dans des conditions favorables qui vont désorganiser progressivement les tissus colonisés. Après être installé dans l'hôte, le mycélium émet des sporangiophores sur la face inférieure des folioles par les stomates, parfois directement au travers de l'épiderme. Ces



sporangiophores produisent de nombreux sporanges citriformes (Agrios 2005). Cette étape nécessite la présence d'une forte humidité (égale ou supérieure à 90 %) et des températures comprises entre 3 et 26°C (Grünwald et Flier 2005). Les sporanges sont aisément entraînés par le vent et la pluie, parfois sur des longues distances et gagnent de nouvelles plantes encore saines, assurant des contaminations secondaires (Belkhiter 2013).

La dissémination de la maladie s'effectue parfois par l'intermédiaire des plants contaminés et si la contamination des semences par les oospores s'est confirmée sur le terrain, elles pourraient assurer une dispersion de la maladie sur de longues distances. Pour les tubercules, les sporanges contaminent le sol et libèrent des zoospores. Ces dernières pénètrent dans les tubercules à travers les lenticelles ou les blessures. Dans le tubercule, le mycélium se développe entre les cellules et envoie des haustoria à l'intérieur des cellules.



**Figure 6.** Cycle de vie de *Phytophthora infestans* (Pierre 2016).

#### 4. Moyens de lutte

Pour être efficace, la lutte contre le mildiou est réalisée de manière préventive, avant la contamination. La priorité de la stratégie de lutte est donc d'empêcher autant que possible l'implantation du pathogène dans la parcelle à protéger (Rousselle et al. 2002).

#### **4.1. Lutte culturale**

Ces pratiques ont pour but essentiel de réduire les sources d'inoculum primaire ; elles consistent à mettre en œuvre toutes les mesures permettant d'éviter l'excès d'humidité (aérer au maximum les abris, privilégier le système d'arrosage au goutte à goutte, programmation de l'arrosage par aspersion adaptée...) et à planter des tubercules sains. Il est également très important d'éliminer les adventices sensibles à la maladie ainsi que le maximum de débris végétaux en fin de culture (Howard et Morrall 1975 ; Maufras 2001).

#### **4.2. Lutte génétique**

Plusieurs gènes de résistance ont été identifiés et utilisés pour sélectionner des variétés capables de contrôler *P. infestans*. L'utilisation des variétés résistantes constitue actuellement la seule méthode techniquement satisfaisante, mais les impératifs économiques font qu'elle demeure trop peu exploitée (Benani 2004).

#### **4.3. Lutte chimique**

Les premiers essais de lutte chimique contre les maladies des plantes a commencé en 1865 avec l'utilisation de la bordelaise (fongicide à base de cuivre) contre l'Oïdium et le mildiou de la vigne. L'utilisation des sels de cuivre sont aujourd'hui largement remplacés par des fongicides de synthèse. Les fongicides systémiques utilisés pour traiter les plantes entières sont absorbées par le feuillage et les racines, et transportés par le xylème. Apparus sur le marché au cours des 45 dernières années, trois groupes de matières actives définis par leur niveau de translocation dans la plante, sont aujourd'hui disponibles (Chagloufa 2017).

L'utilisation massive des fongicides systémiques a conduit à l'isolement de souches résistantes à ces matières actives, ce qui a rendu ces traitements inefficaces. Les méthodes de lutte chimique ont été recherchées mais, à ce jour, malgré de multiples expérimentations conduites dans plusieurs pays, aucun produit ne donne satisfaction en raison de problème d'efficacité, de cout ou d'environnement (Rousselle et al. 2002). Les traitements chimiques ont augmenté considérablement, jusqu'à devenir dans certains cas insupportables sur le plan économique (Corbaz 1990).

#### **4.4. La lutte biologique**

La lutte biologique consiste à combattre une maladie causée par un organisme nuisible au moyen d'autres organismes ou de leurs produits. Elle est considérée comme une voie

alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger pour l'environnement et pour l'homme (Bouzerida 2016). Plusieurs êtres vivants ; bactéries et champignons, ont fait l'objet d'étude où ils ont été utilisés dans des applications de lutte biologique (Cook 2014). L'utilisation de plusieurs modes d'action par un seul agent antagoniste et sa capacité d'adaptation à la rhizosphère contribuent à ce que la lutte biologique devienne plus durable que les produits chimiques (Bouzerouata 2017).

#### **4.4.1. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique**

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, oxygène, espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogènes et l'induction de la résistance chez la plante (Bouzerouata 2017).

##### **a. Antibiose**

L'antibiose consiste en la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène. La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites interfèrent avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes. D'autres entraînent le relargage de composés cellulaires suite à la perturbation de la perméabilité cellulaires. L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (Jijakli 2003).

##### **b. Compétition**

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément, consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (Jijakli, 2003).

##### **c. Parasitisme**

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (Helluy et Holmes 2005).

#### **4.4.2. Lutte biologique contre les agents phytopathogènes**

Pour lutter contre les agents phytopathogènes il importe de bien connaître le cycle végétatif de cet agent et les conditions qui favorisent son développement. La lutte biologique est réalisée pour diminuer la densité d'inoculation des agents pathogènes dans le but de réduire leur capacité à induire la maladie. Les agents de lutte biologique des plantes sont généralement développés à partir de la constatation d'un antagonisme entre deux microorganismes (Suty 2010). La lutte biologique peut être conduite de manière directe ou indirecte (Giguère 2002) :

- L'approche directe consiste en l'utilisation d'amendement du sol de façon à augmenter la population antagoniste microbienne indigène contre un agent pathogène spécifique (Suty 2010).
- L'approche indirecte consiste en la protection croisée c'est-à-dire la stimulation des défenses naturelles des plantes contre un agent pathogène virulent en faisant une préinoculation de la plante avec une souche virulente (Suty 2010).

# Méthodologie

# Méthodologie

## 1. Objectif du travail

Détermination de l'effet antagoniste de quelques souches bactériennes préalablement isolées et purifiées sur l'agent du mildiou *P. infestans* in vitro. Par la suite, application des souches bactériennes antagonistes par irrigation sur la partie racinaire sur des plants de *Solanum tuberosum* infectés par *P. infestans*.

## 2. Méthodologie

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel biologique

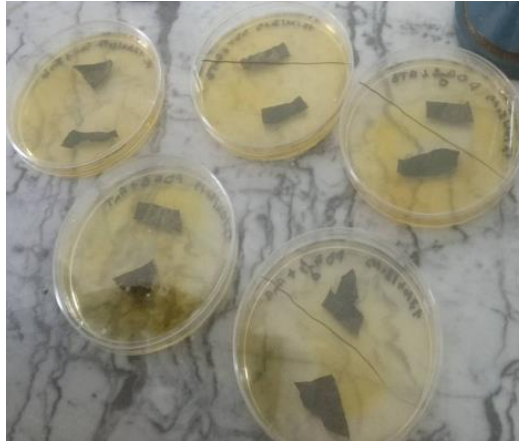
##### a. Souches bactériennes antagonistes

Dans notre étude nous avons utilisé des souches bactériennes, isolées lors d'un travail précédent, ayant un effet antagoniste contre *Phytophthora sp.* Dix-huit isolats ont été testés et la plupart semblent appartenir au genre *Bacillus*. L'observation macroscopique des cultures sur boîte de Petri montre l'aspect typique des colonies des bactéries du genre *Bacillus*. De plus, l'observation microscopique après coloration de Gram montre des bacilles à Gram positif sporulants (Benabdallah 2014).

##### b. Isolement et purification de *Phytophthora infestans*

*P. infestans* (Fig. 7) a été isolé à partir de feuilles de pommes de terre infectées suivant le protocole décrit par Meszka et Michalecka (2016) avec de légères modifications. L'isolement a été réalisé sur les géloses PDA (Potato Dextrose Agar) et Sabouraud additionnées d'antibiotiques (Gentamycine et Rifamycine).

Brièvement, des feuilles de pomme de terre présentant des symptômes du mildiou ont été prélevées. Celles-ci sont désinfectées dans l'eau de Javel 13° dilué à 30 % pendant 3 min puis rincées dans l'eau distillée stérile 3 fois. Les fragments de feuilles sont ensuite déposés sur les géloses Sabouraud et PDA additionnées d'antibiotiques. Des repiquages successifs sont réalisés afin d'obtenir des cultures pures du microorganisme recherché.



**Figure 7.** Fragments de feuilles de pomme de terre sur la gélose PDA/ Sabouraud.

### **c. Pomme de terre**

Notre étude a portée sur la variété de pomme de terre Désiré G1 (Fig. 8). Les tubercules ont été ramenés de l'institut National de la Recherche Agronomique, Sebaine –Tiaret (Algérie), et plantés dans des pots sur un sol préalablement tamisé, afin d'éliminer les éléments grossiers et d'assurer une granulométrie homogène puis autoclavé.

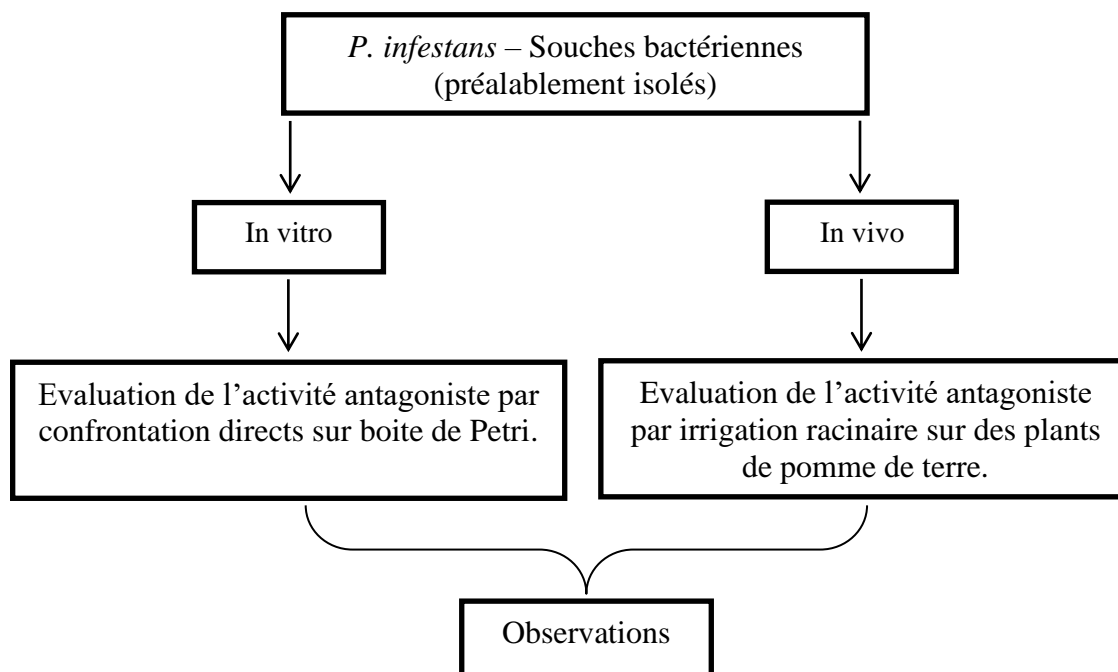


**Figure 8.** Tubercules de pomme de terre utilisés.

## 2.2. Méthode

### 2.2.1. Protocole expérimentale

Afin de réaliser notre expérimentation on a suivi le protocole décrit dans la figure 9:



**Figure 9.** Protocole expérimentale

### 2.2.2. Evaluation de l'activité antagoniste entre *P. infestans* et les bactéries isolées

#### a. *In vitro*

- **Confrontation directe en boîte de Petri**

Afin d'évaluer l'interaction antagoniste entre *P. infestans* et les bactéries isolées, la méthode décrite par Harir (2010) a été adoptée. Brièvement, un disque du phytopathogène est mis au centre de la boîte de Petri et deux disques du même agent antagoniste sont mis de part et d'autre de la boîte de Petri préalablement coulée avec la gélose Sabouraud (Fig. 10). Une boîte de Petri témoin contenant un disque de *P. infestans* au centre est préparée à part. le tout est incubé à 25°C pendant 5 jours. Les résultats sont exprimés en taux d'inhibition de l'agent phytopathogène calculé par la formule :

$$I (\%) = (R_{\text{Témoin}} - R_{\text{Test}}) / R_{\text{Témoin}} \times 100$$

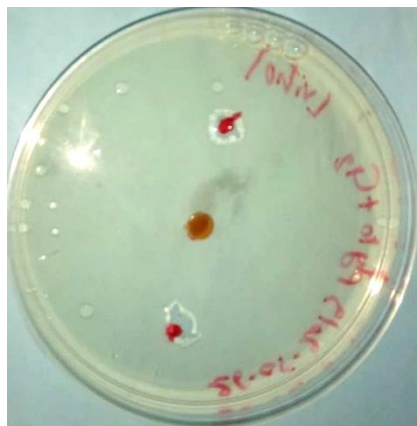
Où :

- I % : taux d'inhibition en %.



- $R_{\text{Témoin}}$  : distance radiale maximale de croissance du phytopathogène témoin.
- $R_{\text{Test}}$  : Distance radiale de croissance du phytopathogène sur une ligne en direction de l'antagoniste.

\* Il est à noter qu'en plus de tester les souches bactériennes à part, des combinaisons de souches ont été testées pour évaluer l'effet antagoniste du consortium.



**Figure 10.** Confrontation directe entre *P. infestans* et les bactéries.

#### *b. In vivo*

##### • Préparation de la suspension de *P. infestans*

Une suspension de *P. infestans* a été préparée dans de l'eau distillée stérile et homogénéisée à l'aide d'un vortex.

##### • Préparation des suspensions bactériennes

Les souches bactériennes présentant un effet antagoniste contre *P. infestans* in vitro, sont sélectionnées pour l'essai in vivo. Des cultures de 48 h sont réalisées, par la suite des suspensions dans l'eau distillée sont préparées à partir de chaque souche retenue (Fig. 11).



**Figure 11.** Suspensions bactériennes préparées.

- **Application par irrigation racinaire sur des plants de pomme de terre**

Les plants de pomme de terre ayant développés des feuilles sont utilisés dans ce travail. Les pots (Fig. 12) contenant ces plants sont divisés en trois groupes, le premier groupe est inoculé avec la suspension de *P. infestans* à part sur la partie aérienne et souterraine (Fig. 13). Le deuxième groupe contient des plants de pomme de terre inoculés chacun avec une de chaque suspension bactérienne sur la partie souterraine (Fig. 14). Le dernier groupe est inoculé par l'agent phytopathogène puis par l'agent antagoniste afin d'évaluer l'effet antagoniste.



**Figure 12.** Plant de pomme de terre.



**Figure 13.** Inoculations du plant de pomme de terre par *P. infestans* sur les feuilles.



**Figure 14.** Inoculation des isolats bactériens sur la partie racinaire.

### **3. Analyse statistique**

Tous les essais sont répétés au moins trois fois. Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance afin de déterminer la variation entre les différents antagonistes testés. La comparaison entre les différents groupes est réalisée en utilisant le test Duncan. Les différences significatives entre les moyennes sont déterminées au seuil de sécurité  $P < 0.05$ . Les résultats sont représentés graphiquement en tant que moyenne  $\pm$  écart type (page 23).

# Résultats

## Résultats

### 1. Isolement de *P. infestans*

Après incubation des boîtes de Petri contenant les fragments des feuilles de pomme de terre atteintes de mildiou sur gélose Sabouraud et PDA, un mycélium s'est développé à partir des feuilles (Fig. 15). Celui-ci a été repiqué sur une autre boîte contenant les mêmes éléments et ainsi de suite jusqu'à l'obtention d'une culture pure (Fig. 16). On remarque que l'agent isolé présente les caractéristiques morphologiques des oomycètes du genre *Phytophthora* à savoir les colonies poussant de façon radiale compacte sans marges nettes, duveteuses et présentant de courts hyphes aériens. Les observations microscopiques ont montré que l'agent isolé présente les caractéristiques morphologiques de l'espèce *P. infestans* (Fig. 17). L'une des principales caractéristiques morphologiques de ce genre sont les zoosporanges portés par des branches sporangiophoriques peu différenciées des hyphes végétatifs (Nelson 2008).



**Figure 15.** Mycélium obtenu à partir des feuilles de pomme de terre.



**Figure 16.** Culture pure de *P. infestans*.



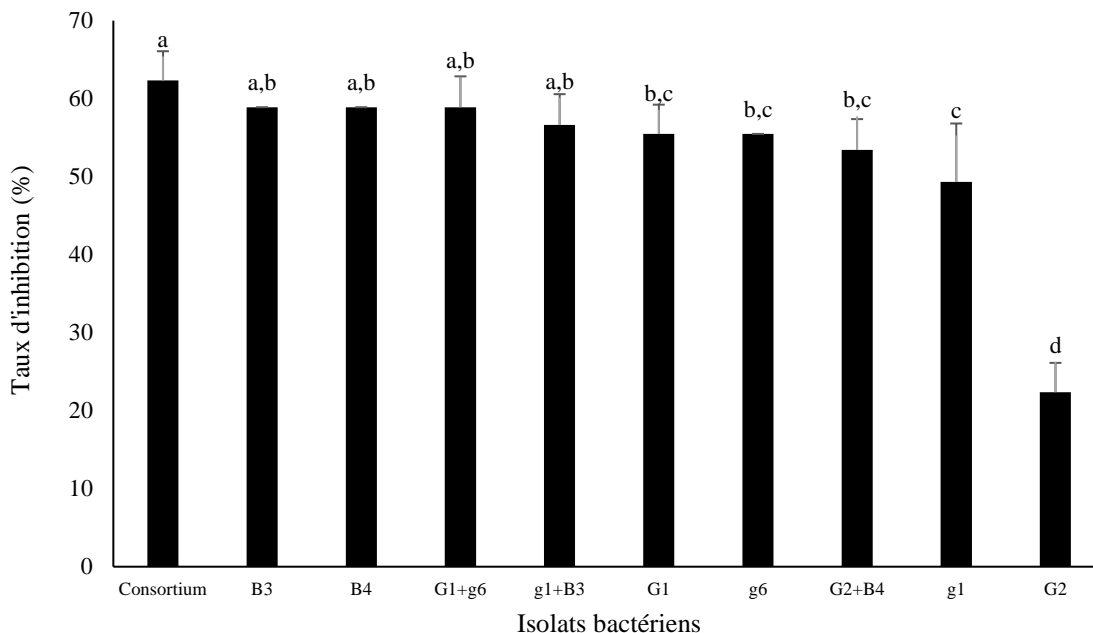
**Figure 17.** Observation microscopique de *Phytophthora infestans* (Gx100).

## 2. Evaluation de l'activité antagoniste entre *P. infestans* et les bactéries isolées

### a. *In vitro*

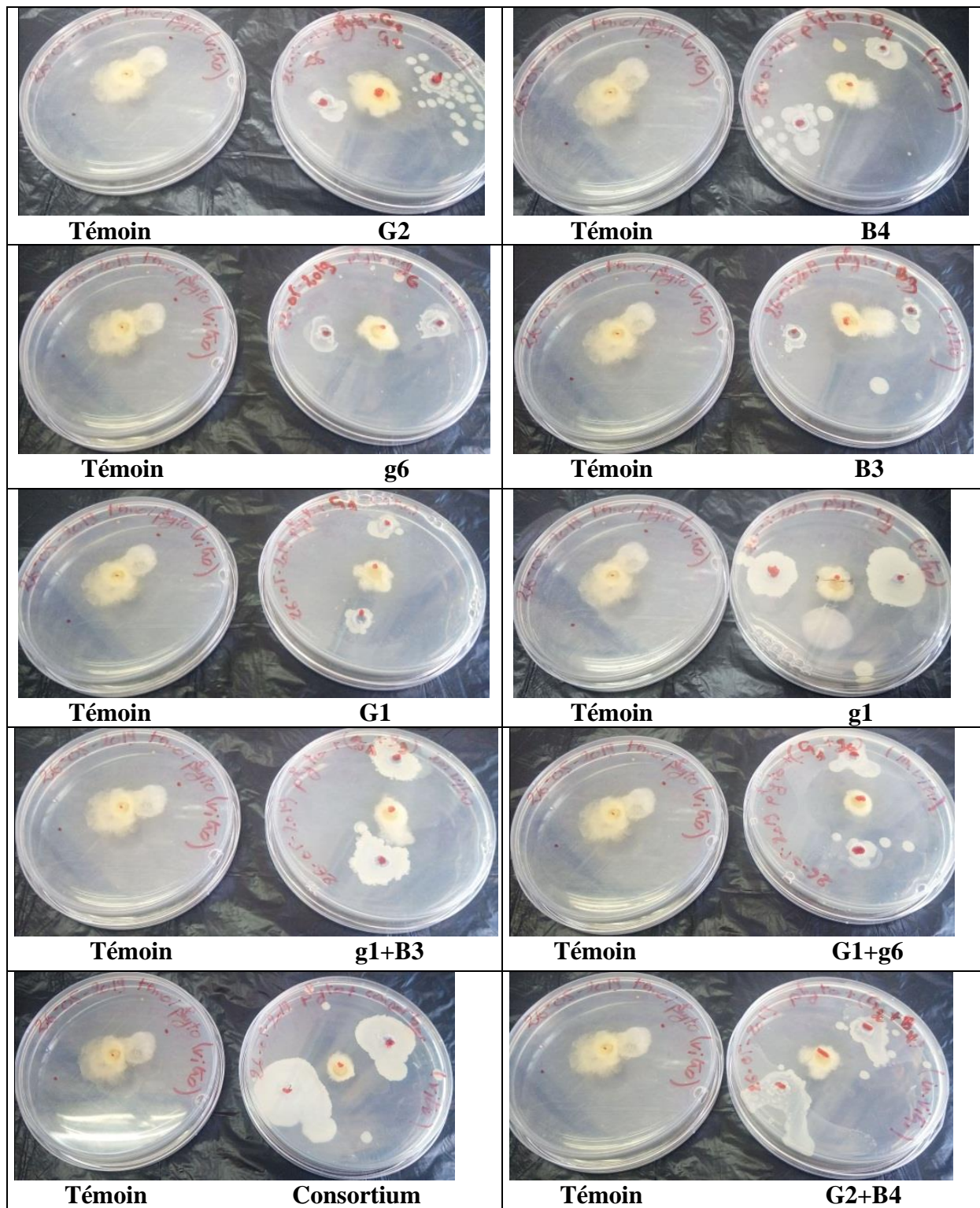
- **Confrontation directe en boîte de Petri**

Sur les 18 isolats testés, les six présentant le meilleur effet antagoniste vis-à-vis *P. infestans*, en termes de taux d'inhibition (en %) de la croissance mycélienne du phytopathogène, ont été sélectionnés. Des combinaisons de deux souches et la combinaison de l'ensemble des souches sélectionnées (consortium) ont aussi été testées pour évaluer l'effet antagoniste. Les résultats sont représentés dans les figures 18 et 19.



**Figure 18.** Taux d'inhibition (%) de *P. infestans* par les isolats bactériens testés.

\* Les lettres alphabétiques indiquent les groupes homogènes, ceux comportant les mêmes lettres montrent aucune différence significative.



**Figure 19.** Confrontation directe entre les isolats bactériens et *P. infestans*.

On remarque que toutes les souches bactériennes isolées ont présenté une activité antagoniste vis-à-vis de *P. infestans*. L'antagonisme est observé par l'arrêt de la croissance du mycélium

du phytopathogène en présence de l'agent antagoniste. L'analyse statistique des résultats obtenus montre une hétérogénéité faible dans les taux d'inhibition. En outre, la combinaison de toutes les souches (consortium) semble être la plus efficace avec un taux d'inhibition de la croissance de  $62,3 \pm 3,7$  % alors que la souche G2 semble présenter le taux d'inhibition le plus faible ( $22,4 \pm 3,7$  %) comparée avec le reste des souches. Le reste des souches seules ou en combinaison présente un effet inhibiteur qui ne diffère pas de façon significative entre elles.

***b. In vivo***

• **Application par irrigation racinaire sur des plants de pomme de terre**

Après la réalisation des tests *in vitro*, les souches bactériennes isolées ont été également testées *in vivo*, séparément puis en consortium, sur des plants de pomme de terre cultivés sous des conditions contrôlées de laboratoire.

Des suspensions de *P. infestans* ont été appliquées sur des plantes saines de pomme de terre pour servir comme contrôles aux autres plantes ayant subi un apport exogène des suspensions de souches antagonistes.

Malheureusement, aucun symptôme n'a été observé sur les feuilles ni sur aucune autre partie des plants de pomme de terre (Fig. 20) malgré que les conditions de propagation de ce phytopathogène ont été presque toutes respectées surtout en ce qui concerne la température et l'humidité. De ce fait, le travail n'a pas été achevé pour permettre l'évaluation de l'activité antagoniste des souches bactériennes et l'agent phytopathogène *in vivo*.



**Figure 20.** Absence des symptômes du mildiou après inoculation par *P. infestans*.



# Discussion

## Discussion

Cette étude a eu pour objectif d'évaluer l'impact de quelques souches bactériennes préalablement isolées à partir du sol sur *P. infestans* *in vitro* et *in vivo*.

Les résultats ont démontré que sur les dix-huit souches bactériennes testées, six ont présenté les meilleurs taux d'inhibition de la croissance de *P. infestans* en culture sur gélose Sabouraud. Ces bactéries semblent appartenir au genre *Bacillus*.

En effet, la plupart des microorganismes isolés du sol appartiennent au genre *Bacillus*. Etant des organismes sporulant, ceux-ci présentent une forte résistance aux conditions défavorables et constituent une forte proportion de la flore du sol (Bouzerouata 2017).

Plusieurs études ont démontré que les bactéries du genre *Bacillus* et *Pseudomonas* ainsi que les champignons du genre *Trichoderma* possèdent des activités antagonistes intéressantes vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes. Ainsi ils constitueraient d'importants agents de biocontrôle des maladies végétales (Williams et Asher 1996 ; Daayf et al. 2003 ; Essalmani et Lahlou 2004).

Les agents de biocontrôle agissent à travers la production d'agents antibiotiques ou de métabolites à effets délétères sur le phytopathogène ainsi que par la faculté d'accroître ou d'induire la résistance de la plante (Daayf et al. 2003 ; Gupta et al. 2015 ; El Arbi 2016). D'autres organismes peuvent contrôler la croissance des pathogènes par la compétition pour les éléments nutritifs, comme par exemple, la compétition pour le carbone et la compétition pour le fer dont la biodisponibilité dans le sol est très faible (Lemanceau et al. 2009).

Dayf et al. (2003) ont montré que certaines bactéries telles que *Bacillus pumilus* étaient des inhibiteurs efficaces de *P. infestans* *in vitro*. Un des mécanismes par lesquels les bactéries du genre *Bacillus* exercent un effet antagoniste est la production d'enzymes telles que la chitinase dégradant la chitine ; le composant majeur de la membrane des phytopathogènes fongiques (Said et al. 2009). Selon Bouzerouata (2017), les souches de *Bacillus* spp. mésophiles sont capables de produire des lipopeptides de type fengycine et iturine, qui permettent d'augmenter la résistance des plantes contre les pathogènes. Ces substances sont impliquées dans l'induction du phénomène de résistance systémique.

En outre, nous avons observé que la combinaison de la totalité des souches testées a montré un effet inhibiteur supérieur à celui des souches testées séparément ou en combinaison deux à deux. Ceci suggère une synergie entre les différentes souches pour limiter la croissance du pathogène. Des études ont montré que dans les milieux naturels les communautés microbiennes exercent leurs activités en groupes ceci afin d'assurer leur nutrition et leur défense et dans certains cas ceux-ci confèrent une protection aux plantes contre les agents pathogènes. En effet, chaque agent de biocontrôle exploite un ensemble spécifique de mécanismes pour éliminer les maladies des plantes et améliorer leurs croissances. Ainsi il est possible de créer une combinaison de ces agents avec de multiples modes d'actions ce qui augmenterait la protection des plantes contre les phytopathogènes et permettrait la suppression de ces derniers plus facilement (Hussein et al. 2018). De plus, l'utilisation de plusieurs antagonistes avec différents modes d'actions peut améliorer l'efficacité du biocontrôle dans un large éventail de conditions environnementales (Johnson 2016). Des études ont rapporté l'utilisation de consortiums de bactéries des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* avec efficacité dans le contrôle biologique de certaines maladies végétales (Kumar et Jagadeesh 2016).

Cependant, la relation entre deux agents de biocontrôle n'est pas toujours synergique, il peut y avoir une action antagoniste entre ces agents eux-mêmes. Par exemples, la combinaison des mycorhizes avec *Trichoderma* a démontré une interaction négative des uns sur les autres malgré qu'ils soient utilisés comme agents de biocontrôle contre plusieurs phytopathogènes séparément (Hussein et al. 2018).

Lors de notre étude l'application de *P. infestans* sur les plants de pomme de terre n'a donné aucun résultat c'est-à-dire qu'aucun des symptômes caractéristiques du mildiou n'est apparu. Cela peut être expliqué par des facteurs liés à la plante tels que la résistance de la variété de pomme de terre étudiée "Désirée" ou par des facteurs liés à l'agent phytopathogène tels que les conditions du laboratoire qui n'ont pas favorisé son développement, soit les deux. Mis à part ces facteurs, lorsque les conditions du milieu sont favorables, l'évolution de l'épidémie dépend de l'agressivité du pathogène et du système de défense de la plante hôte (Hammi 2003).

En ce qui est de *P. infestans*, la température et l'humidité sont les facteurs les plus importants dont dépend son développement. L'intervalle optimal de température favorisant la formation des sporanges est compris entre 18 °C et 22 °C. A 20 °C les sporanges germent formant un hyphes en croissance alors qu'à 12 °C ou moins les sporanges

produisent des zoospores mobiles. Si la température est à 26 °C ou plus, les hyphes meurent en une semaine. Quant à l'humidité relative, l'optimum est de 100 % et d'un minimum de 9 % pour la formation des sporanges (Belkhiter 2013). Ainsi, la période de latence et la croissance du pathogène dépendent essentiellement de la température alors que l'intensité de l'infection dépend de l'humidité c'est-à-dire que dans des conditions de fraîcheur et d'humidité la fructification sera abondante alors que dans des conditions de chaleurs et de sécheresse elle sera réduite (Hammi 2003).

En ce qui concerne la plante, les facteurs affectant la sensibilité des cultivars face au mildiou sont l'état des semences, la nutrition, la photopériode, l'intensité lumineuse et la présence d'autres pathogènes dans les plants. De plus, la densité de l'inoculum et la méthode d'inoculation influencent remarquablement la résistance de la plante. Par ailleurs, des études ont montré que la sévérité de la maladie varie avec l'âge de la plante et des feuilles (Hammi 2003).

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion et perspectives

Le mildiou provoqué par *Phytophthora infestans* est une maladie redoutable vis-à-vis des Solanacées, principalement, la pomme de terre dont les pertes en rendement de culture peuvent atteindre les 90 %.

L'objectif de cette étude a été de déterminer l'effet antagoniste de quelques souches bactériennes, préalablement démontrées ayant un effet antagoniste sur *Phytophthora* sp., sur l'agent du mildiou *P. infestans in vitro*. Par la suite, application des souches bactériennes antagonistes par irrigation sur la partie racinaire des plants de *Solanum tuberosum* L. infectés par *Phytophthora infestans*.

A l'issue de ce travail, six souches ayant un important effet antagoniste contre l'agent du mildiou *P. infestans* ont été sélectionnées. La combinaison de toutes les souches en consortium a démontré une efficacité supérieure à celle des souches utilisées seules dans l'inhibition de la croissance de l'agent pathogène ce qui suggère une synergie entre les souches testées. Par ailleurs, l'application de *P. infestans* directement sur des plants de pomme de terre n'a pas abouti à l'apparition des symptômes de la maladie ce qui ne nous a pas permis d'évaluer l'effet antagoniste des souches bactériennes testées *in vitro*.

Ce travail s'ajoute aux autres travaux concernant la lutte biologique contre le mildiou notamment en vue de son rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes et la diminution des risques engendrés par l'utilisation des agents chimiques.

L'étude approfondie de l'action de ces bactéries sur *P. infestans* ainsi que les molécules responsables de l'action antagoniste est à envisager.

Par ailleurs, un vaste travail mériterait d'être mené en expérimentant *in situ* le concept de l'utilisation des bactéries antagonistes en combinaison. Le développement d'un consortium microbien basé sur leur compatibilité peut réduire la possibilité d'échec d'inoculants microbiens potentiels dans la rhizosphère.

# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

Agrios GN., Ait-Kaki A., Kacem-Chaouche N., Ongena M., Kara-Ali M., Dehimat L., Kahlat K. and Thonart P. 2014. In vitro and in vivo characterization of plant growth promoting Bacillus strains isolated from extreme environments of Eastern, Algeria. *Applied biochemistry and biotechnology*. 172(4): 1735.

Belkhiter S. 2013. Evaluation de la résistance de la pomme de terre à l'égard de *Phytophthora infestans* (Mont). de Bary agent du mildiou. Mémoire de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harache, Alger, Algérie.

Benabdallah A. 2014. Screening de souches extrêmophiles halophiles du genre Bacillus de la Sebkhia D'Oran (caractérisation phénotypique). Mémoire de Master. Université de Tlemcen, Tlemcen, Algérie.

Blancard D. 1997. Les maladies de la tomate : Observer, identifier, lutter. Station de Phytopathologie Végétale. 12: 170- 179.

Benani Y. 2014. Le mildiou de pomme de terre. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.

Bekkar M. et Bousiala K. 2014. Etudes de facteurs abiotiques et nutritionnels sur la production d'oospores chez *Phytophthora infestans*. Mémoire de Magister. École National Supérieure de Sciences Agronomiques El Harache, Alger, Algérie.

Bermoul R., Khanfar D., Mihoubi M. 2008. Evaluation de la résistance de trois variétés de pomme de terre (Spunta- Amorosa-Désiré) vis-à-vis de genre globodera (nematode tylenichaidae). Mémoire de master. Université d'Ibn-Khaldoun, Tiaret, Algérie.

Björn A. 2007. Sexual reproduction in *Phytophthora infestans* epidemiological consequence. Thèse de Doctorat. Swedish University of Agricultural Science. Uppsala, Suède.

Boufares K. 2012. Comportement de trois variétés de pomme de terre (Spunta, Désiré, Chubaek) entre deux milieux de culture substrat et hydroponique. Mémoire de Magistère. Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

Bouzerouata A. 2017. Application de Bacillus spp. Mésophile dans la lutte biologique. Mémoire de Master. Université Abou-Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.



Bouzerida K., Mandi R., Lahlouh B. 2016. La lutte biologique contre les insectes nuisibles par utilisation des plantes et extraits de plante. Mémoire de Master. Université Frères Mantouri, Constantine, Algérie.

Chebbah A. 2016. Contribution à l'étude de la production de pomme de terre dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Algérie.

Chagloufa K. 2017. Lutte biologique contre l'agent pathogène (*Aspergillus niger*) via actinobactérie chez le maïs (*Zea mays* L.). Mémoire de Master. Université Mohamed Boudiaf, Msila, Algérie.

Cook R. 2014. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 31: 53–80.

Corbaz R. 1993. Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.

Daoud H. et Doudou O. 2017. Etude comparative de 4 variétés de pomme de terre cultivées (*Solanum tuberosum* L.) dans la région de Mostaganem. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem, Algérie.

Daayf F., Adam L. and Fernando WGD. 2003. Comparative screening of bacteria for biological control of potato late blight (strain US-8), using in vitro, detached-leaves, and whole-plant testing systems. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 25(3): 276-284.

Essalmani H. et Lahlou H. 2011. Induction, par *Trichoderma harzianum*, de la résistance des plantes de lentille contre *Fusarium oxysporum* f. sp. lentis. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*. 24(1): 51-58.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. Statistiques de la FAO pour l'oléiculture en 2013.

Fry WE., Goodwin SD., Matuszak JM., Spielman LJ., Milgroom MG. and Drenth A. 1992. Population genetics and intercontinental migration of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of phytopathology* 30: 107-129.

Grünwald G. et Flier J. 2005. The Biology of *Phytophthora infestans* at its centre of origin. *Annual Review of phytopathology* 43: 171-190.

Gupta G., Singh Parihar S., Kumar Ahirwar N., Kumar Snehi S. and Singh V. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*. 7(2) : 96-102.

Hamnache H. 2017. Durabilité de la culture de pomme de terre à Ouargla. Mémoire de Master. Université Kasdi-Merbah, Ouargla, Algérie.

- Helluy S. and Holmes JC. 2005. Parasitic manipulation: further considerations. *Behaviour Processes*. 68: 185-99.
- Houidi H. et Ahmadi I. 2007. Contribution à l'étude de l'effet de la fertilisation azotée-potassique sur pomme de terre (*Solanum tuberosum* L. var CONDOR) dans la région du Souf. Mémoire de Master. Université Kasdi-Merbah, Ouargla, Algérie.
- Howard RJ. and Morrall RAA. 1975. The epidemiology of leaf spot disease in a native prairie. I. The progression of disease with time. *Canadian Journal of Botany*. 53(10): 1040-1050.
- Hussein AN., Abbasi S., Sharifi R. and Jamali S. 2018. The effect of biocontrol agents consortia against *Rhizoctonia* root rot of common bean *Phaseolus vulgaris*. *Journal of Crop Protection*. 7(1): 73-85.
- James B., Atha-Ahowé C., Godonou I., Baimey H., Goergen G., Sikirou R. et Toko M. 2010. Gestion intégrée des nuisibles en production maraîchère : Guide pour les agents de vulgarisation en Afrique de l'Ouest. Edition Institut International d'Agricultures Tropicales (IITA), Ibaden, Nigeria.
- Jijakly MH. 2003. La lutte biologique en phytopathologie, In: *Phytopathology*. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles.
- Johnson I., Ramjegathesh R., Sheela J., Shoba N. and Maheshwarappa HP. 2017. Development of microbial consortia for the management of leaf blight disease of coconut. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*. 52(1): 1-14. DOI: 10.1556/038.52.2017.007
- Kumar KH. and Jagadeesh K. 2016. Microbial consortia-mediated plant defense against phytopathogens and growth benefits. *South Indian Journal of Biological Sciences*. 2: 395-403.
- Lepoivre P. 2003. *Phytopathologie base moléculaire et biologie des pathologies de système et fondement des stratégies de luttés*. Presses Agronomiques de Gembloux Bruxelles : De Boeck.
- Suty L. 2010. *La lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologiques*. Edition Quae.
- Mahbou Somo Toukam G. 2010. Diversité de *Ralstonia solanacearum* au Cameroun et bases génétiques de la résistance chez le piment (*Capsicum annuum*) et les solanacées. Thèse de Doctorat. L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech). France.

## Références bibliographiques

Maufras M. 2001. The role of the cropping method in the elimination of hazardous fungicides (*Tilletia caries*). Mémoire d'Ingénieur. IST. Université de Tebessa, Algérie.

Nautiyal CS. 2000. Biocontrol of diseases for agricultural sustainability in Biocontrol potential and its exploitation in sustainable agriculture. Upadhyay RK., Mukherji and Chamola BP. Kluwer Academic Publisher, USA.

Nelson C. 2008. Late blight of Tomato (*Phytophthora infestans*). College of Tropical Agriculture and Human Resources. University of Hawaii at Manoa Cooperative Extension Service PD-45.

Pierre M. 2016. Utilisation d'effecteurs de *Phytophthora* spp. pour aider à la recherche de géniteurs résistants chez les Solanacées. Mémoire de Master. Unité de Recherche 1052 Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes Equipe Résistances Durables chez les Solanacées (RDS) Centre INRA - Provence-Alpes-Côte d'Azur.

Platt R. 2008. Maladies de la pomme de terre causées par des oomycètes. Cahiers Agricultures. 17: 361-367.

Giguère R. 2002. Botanique et horticulture dans les jardins du Québec. Editions Multimodes.

Rousselle P., Robert Y. et Crosnier JC. 1996. La pomme de terre. I.N.R.A. Paris.

Emmert EAB. and Handelsman J. 2003. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. FEMS Microbiology Letters banner. 171(1): 1-9.

Saidi N., Kouki S., M'Hiri F., Hajlaoui MR., Mahrouk M., Ouzari H. and Hassen A. 2009. Characterization and selection of *Bacillus* sp. strains, effective biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, the causal agent of Fusarium crown and root rot in tomato. Annals of microbiology. 59(2): 191-198.

Williams G. et Asher M. 1996. Selection of rhizobacteria for the control of *Pythium* and *Aphanomyces cochlioides* on sugar-beet seedlings. Crop protection. 15: 479-486.