

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

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 de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire

Présenté par

Melle. HOUARI Kenza

Melle. ZOUAOUI Asma

Melle. ZOUGAR Fatma

Thème

Effet antagoniste de métabolites microbiens sur l'agent du mildiou de la pomme de terre par application foliaire

Soutenu publiquement le :

Devant les membres de jury :

Président	M. DAHMANI W.	MAA
Promotrice	Mme. AIT ABDERRAHIM L	MCB
Co-promoteur	M. TAIBI K.	MCA
Examineur	M. YEZLI W.	MCB

Année universitaire 2018-2019

ملخص

آفة البطاطا المتأخرة أو اللفحة المتأخرة هي أكثر الأمراض تدميرا لهذا المحصول. يحدث هذا بسبب الفطريات الدنيا، الأوميسيت، التي تقع أساسا في الأرض و بالأخص عن طريق المسبب الفطري فيتوفثورا إنفستنس والذي ينتشر عندما يكون الطقس رطبًا وتكون درجات الحرارة معتدلة بحيث يؤثر على جميع أعضاء النبات (الأوراق والسيقان والدرنات) ويمكن أن يكون تطوره سريعًا للغاية ليتمكن من تدمير حقل كامل في غضون أيام قليلة.

تهدف هذه الدراسة الى تجربة التأثير المعاكس لمستخلصات تحتوي على ابيضيات من سلالات بكتيرية على العامل المسبب للفة المتأخرة من خلال المواجهة المباشرة بين الابيضيات والعامل الممرض للنباتات في طبق بتري (في المختبر) والمواجهة على نباتات البطاطا عن طريق رش الابيضيات على الجزء العلوي للنبات الذي تم تلويثه بالعفن الفطري.

تم اختيار ست سلالات بكتيرية للنمو في الوسط المغذي في وجود العامل الممرض و تم الحصول على المستخلصات البكتيرية عن طريق عملية الطرد المركزي.

تم إجراء مواجهة مباشرة على طبق بتري بين الابيضيات البكتيرية و العامل الممرض. بالإضافة إلى ذلك، تم تلويث نباتات البطاطا بالعامل الممرض ثم رشها بالايضيات لتقييم التأثير المضاد.

أظهرت النتائج أن جميع الايضيات البكتيرية المختلفة وكذلك مخاليطها لها تأثير مضاد على اللفة المتأخرة. لسوء الحظ، لم ينجح الاختبار بالتطبيق المباشر على النبات لكن النتائج المحصل عليها في المختبر واعدة للغاية.

يعتبر هذا العمل إضافة إلى الأعمال الأخرى المتعلقة باستخدام المستقلبات البكتيرية على العوامل المسببة للأمراض النباتية.

كلمات مفتاحية

العفن الفطري، البطاطا، فيتوفثورا إنفستنس، الأيضات البكتيرية، التحكم البيولوجي، الرقابة البيولوجية

Résumé

Le mildiou de la pomme de terre est la maladie la plus dévastatrice de cette culture. Celle-ci est causée par l'oomycète *Phytophthora infestans* qui se manifeste quand le temps est humide et les températures sont douces. Elle affecte tous les organes de la plante (feuille, tiges et tubercules) et son développement peut être très rapide comme elle peut détruire la plantation en quelques jours seulement.

Cette étude a eu pour objectif l'évaluation de l'effet antagoniste de suspensions contenant des métabolites issus de souches bactériennes sur l'agent du mildiou *P. infestans*. Ceci à travers une confrontation directe entre les suspensions et l'agent phytopathogène en boîte de Petri (*in vitro*) et une confrontation sur des plants de pomme de terre par aspersion des suspensions sur la partie aérienne de la plante inoculée par l'agent du mildiou (*in vivo*).

Six souches bactériennes ont été sélectionnées et cultivées sur bouillon nutritif en présence de l'agent pathogène. Les suspensions contenant les métabolites bactériens sont obtenues par centrifugation des cultures bactériennes et récupération du surnageant.

Une confrontation directe est réalisée sur boîte de Petri entre les métabolites et *P. infestans*. De plus, des plants de pomme de terre seront inoculés par l'agent pathogène puis aspergés par les suspensions de métabolites afin d'évaluer l'effet antagoniste.

Les résultats ont démontré que toutes les suspensions des différentes souches bactériennes ainsi que leurs mélanges présentent un effet antagoniste vis-à-vis de *P. infestans* en confrontation sur boîte de Petri.

Malheureusement l'essai *in vivo* n'a pas abouti cependant les résultats *in vitro* sont très prometteurs.

Ce travail s'ajoute aux autres travaux concernant l'utilisation des métabolites bactériens sur les agents phytopathogènes dans une éventuelle perspective d'utilisation *in situ*.

Mots clés

Mildiou, pomme de terre, *Phytophthora infestans*, antagonisme, métabolites bactériens, lutte biologique, contrôle biologique.

Abstract

Potato late blight is one of the most devastating diseases of this crop. It is caused by the oomycete *Phytophthora infestans*. When environmental conditions are suitable, the disease spreads rapidly and can affect all parts of the plant (leaf, stems and tubers).

The aim of this work is to study the antagonistic effect of suspensions containing metabolites from bacterial strains on the agent of late blight *P. infestans*. This was performed through a direct confrontation between the suspensions and the phytopathogenic agent in Petri dish (*in vitro*) and a confrontation on potato plants by sprinkling the suspensions on the aerial part of the plant inoculated by the phytopathogen agent (*in vivo*).

Six bacterial strains were selected and grown on nutrient broth in the presence of the pathogen. Suspensions containing the bacterial metabolites are obtained by centrifugation of the bacterial cultures and recovery of the supernatant.

A direct confrontation is carried out on a Petri dish between the metabolites and *P. infestans*. In addition, potato plants was inoculated with the pathogen and then sprayed with the suspensions of metabolites to evaluate the antagonistic effect.

Results demonstrated that all the suspensions of the different bacterial strains as well as their mixtures have an antagonistic effect against *P. Infestans* when confronted on Petri dish.

Unfortunately, the *in vivo* test did not succeed however the *in vitro* results were very promising.

This work constitutes an addition to other works concerning the use of bacterial metabolites on phytopathogenic agents in a possible perspective of their use *in situ*.

Key words

Potato late bight, *Phytophthora infestans*, antagonism, bacterial metabolites, biological control.

Remerciements

Avant tout

Nous remercions Allah tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

*Au terme de ce travail nous tenant à remercier tout d'abord nos encadreurs **Mme AIT ABDERRAHIM L.** et **M. TAIBI K.** pour leur encadrement, leur précieuse aide, leur appui et leurs conseils.*

*Nous remercions également **M. DAHMANI W.** d'avoir accepté de présider le jury et **M. YEZLI W.** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nous tenant également à exprimer nos remerciements :

A tout le corps enseignant de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Ibn Khaldoun, Tiaret, et particulièrement aux enseignants de la spécialité Biologie Moléculaire et Cellulaire.

En fin, nous remercions les étudiants de la promotion 2018-2019 Biologie Moléculaire et Cellulaire de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Ainsi tous ceux qui ont contribués de près ou de loin pour réalisation de ce modeste travail.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux êtres les plus chers au monde pour toute leur tendresse et les sacrifices consentis à mon éducation et ma formation et qui n'ont d'égal que le témoignage de la profonde reconnaissance.

*Mon père «**Khaled**» et Ma mère «**Menouar Aicha**»*

*A ma chère sœur «**Bakhta**»*

*A mes chers frères «**Ameur, Mohamed, Lazreg et Hamid**»*

*A mes chers neveux et nièces «**Amine, Rania, Younes, Fatima, Khaoula**»*

*A mes chères belles sœurs «**Kheira et Nawal**»*

*Et bien sûr je dédie ce travail à mes chères amies «**Fatima, Asma, Toti,***

***Kheira, Hibat El-Rahman, Amira, Khalida, Zieneb**»*

A toute ma famille et tous mes amis.

Kenza

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux personnes, les plus chers au monde que je ne remerciais jamais assez : leur aides, l'encouragement, soutiens, sacrifices et leur patience toute

*ma vie : Mes chers parents M. **Mohamed** et Mme **BRAHIM Raya**.*

*A tous mes chers frères **Khaled, Nadir** et sœurs **Amel, Amel, Khitam***

*Toutes mes chers amis **Fatma, Kheira, Kenza, Toti, Aicha, Ahlem***

*Et toute la famille **ZOUAOUI** et **BRAHIM***

*A mes chères collègues et amis de la promotion **Biologie Moléculaire et cellulaire2018-2019***

A tous les étudiants, enseignants et personnel du

*Département de **Biologie***

A vous qui m'avez encouragé durant la période d'étude

ASMA

Dédicace

Je dédie ce travail

*À mes chers parents, mon père **LAKHDAR**, et ma mère **BERROUBA Aicha**
qui m'ont accompagnés et soutenus durant cette année de formation, Puisse
Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et
bonheur.*

À mes sœurs Ghania, Assil

À mes frères Abdou, Mohamed

Mon mari Mahi

Que dieu vous protège

À ma tante Fatima et Khaldia

Et la famille ZOUGAR et BERROUBA

À mes chers binômes Asma, kenza

À mes amies : Hasna, Zineb et Aicha et Karima.

Fatma

Liste des figures

Figure 1. Production de la pomme de terre dans le Maghreb (tonnes/an).....	3
Figure 2. Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre	5
Figure 3. Cycle végétatif de la pomme de terre.....	6
Figure 4. Les principales variétés de la pomme de terre	6
Figure 5. Cycle biologique de <i>Phytophthora infestans</i>	9
Figure 6. Symptômes du mildiou sur la feuille	10
Figure 7. Symptômes de mildiou sur les boucaux terminaux.....	10
Figure 8. Symptômes de mildiou sur le tubercule	10
Figure 9. Souches bactériennes antagonistes étudiées.....	14
Figure 10. Fragments de feuilles de pomme de terre sur la gélose Sabouraud/PDA	15
Figure 11. Tubercules de pomme de terre utilisés.....	15
Figure 12. Pots utilisés pour la plantation des tubercules de pomme de terre.....	15
Figure 13. Protocole expérimentale	16
Figure 14. Suspension de métabolites bactériens obtenus.....	16
Figure 15. Confrontation directe entre <i>P. infestans</i> et la suspension de métabolites	17
Figure 16. Plant de pomme de terre ayant développé des feuilles.....	18
Figure 17. Inoculations de <i>P. infestans</i> sur le plant de pomme de terre	18
Figure 18. Mycélium obtenu à partir des feuilles de pomme de terre	20
Figure 19. Culture pure de <i>P. infestans</i>	20
Figure 20. Observation microscopique de <i>Phytophthora infestans</i> (Gx100)	21
Figure 21. Confrontation directe entre les suspensions de métabolites bactériens et <i>P. infestans</i>	22
Figure 22. Taux d'inhibition (%) de <i>P. infestans</i> par les métabolites bactériens testés	23
Figure 23. Confrontation directe entre les mélanges des suspensions de métabolites bactériens et <i>P. infestans</i>	25
Figure 24. Taux d'inhibition (%) de <i>P. infestans</i> par les métabolites bactériens testés seuls et en combinaisons	26
Figure 25. Absence des symptômes du mildiou après inoculation par <i>P. infestans</i>	26

Table des matières

ملخص

Résumé

Abstract

- Liste des figures

Table des matières

- Introduction 1

Synthèse bibliographique

1. Les solanacées	3
2. La pomme de terre <i>Solanum tuberosum</i> L.	3
2.1. Origine de la pomme de terre	4
2.2. Caractéristiques de la plante	4
2.3. Cycle de développement de la pomme de terre	5
2.4. Variétés de pomme de terre	6
2.5. Principales maladies et ravageurs de la pomme de terre	7
2.6. La pomme de terre en Algérie	7
3. Mildiou	7
3.1. Origine de la maladie.....	8
3.2. Description de l'agent causale du mildiou	8
4. Moyens de lutte contre le mildiou	11
a. Lutte prophylactique	11
b. Lutte chimique	11
c. Lutte génétique	12
d. Lutte biologique.....	12

Méthodologie

1. Objectif du travail.....	13
2. Méthodologie.....	13
2.1. Matériel biologique	13
2.2. Méthode	16
2.2.1. Protocole expérimental	16
2.2.2. Préparation de la suspension contenant les métabolites bactériens	16
2.2.3. Evaluation de l'activité antagoniste entre <i>P. infestans</i> et les suspensions de métabolites bactériens	17
3. Analyse statistique.....	19

Résultats

1. Isolement de <i>P. infestans</i>	20
2. Evaluation de l'activité antagoniste entre <i>P. infestans</i> et les suspensions de métabolites bactériens	21

Discussion	27
-------------------------	----

Conclusion et perspectives	29
---	----

Références bibliographiques	30
--	----

Introduction

Introduction

La pomme de terre *Solanum tuberosum*, de la famille des Solanaceae, est une culture qui joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde, elle se classe en quatrième position après la culture du riz, du maïs et du blé (Beninal 2011).

En Algérie, la pomme de terre sous ses différentes formes occupe une place très importante dans l'alimentation humaine (Daoud et Doudou 2017).

Malheureusement, cette plante peut être la cible de plus de 200 maladies qui peuvent être d'origine fongique, bactérienne ou virale et qui peuvent toucher tant les cultures que les tubercules en conservation (Rousselle et al. 1996).

La maladie la plus connue et la plus dévastatrice de cette culture est le mildiou provoqué par l'oomycète *Phytophthora infestans*. Cette maladie peut causer des pertes économiques importantes dans un champ de pommes de terre en quelques semaines et parfois même en l'espace de quelques jours. *P. infestans* attaque principalement les feuilles mais l'infection peut s'étendre sur les tiges et les tubercules. Il sévit dans toutes les régions où les conditions environnementales lui sont favorables d'ailleurs il fut responsable de la famine et la mort de pas moins d'un million et demi de personnes en Irlande dans les années 1840 et il continue de faire des ravages à ce jour (Glais et Corbière 2005).

Diverses méthodes préventives existent pour limiter ces attaques, celles-ci portent sur le contrôle des foyers primaires de la maladie (Vannetzel 2013) mais aussi sur l'application de produits chimiques tels que les fongicides sur les plants de pomme de terre. Cependant, ces techniques ne réussissent pas toujours à contrôler la propagation du phytopathogène et peuvent même avoir des effets secondaires sur l'environnement et la santé humaine et peuvent même créer des souches pathogènes plus résistantes (Bennani 2011).

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques. Elle consiste en l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs dérivés pour lutter contre ou contrôler d'autres organismes néfastes. Parmi ces mesures de contrôle alternatif, l'utilisation de microorganismes antagonistes vis-à-vis des agents phytopathogènes est une piste à explorer ; cette stratégie est basée sur l'utilisation de leur potentiel inhibiteur de l'agent phytopathogène, soit de leur habilité d'accroître les défenses de la plante (Nautiyal 2000).

Dans ce contexte, notre étude a pour objectif d'étudier l'activité de suspensions contenant des métabolites issus de quelques souches bactériennes ayant un effet antagoniste contre l'agent du mildiou de la pomme de terre *P. infestans* par confrontation directe sur boîte de Petri (*in vitro*) et par application foliaire sur des plants de pomme de terre infectés par l'agent du mildiou (*in vivo*).

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

1. Les solanacées

Les solanacées sont une famille de plantes dicotylédones incluant près de 90 genres et plus de 3000 espèces principalement natives du sud et du centre de l'Amérique (Shah et al. 2012). Ce sont des plantes herbacées, des arbustes, des arbres ou des lianes. Elles peuvent être annuelles, bisannuelles ou pérennes. Cette famille renferme des plantes d'importance alimentaire et économique cruciale à travers le monde entier telles que la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), l'aubergine (*Solanum melangena* L.), le tabac (*Nicotiana tabacum*L.), etc.... (Bessadat 2014).

2. La pomme de terre *Solanum tuberosum* L.

La pomme de terre ou patate est une plante annuelle à multiplication végétative. Sa reproduction est assurée par un tubercule comestible mais elle peut aussi se reproduire par semis de graines et par boutures (Nandris 1977). Elle est classée parmi les plantes les plus nutritives avec une teneur énergétique élevée. Connue à l'échelle mondiale par sa grande consommation, elle est classée en deuxième position après les céréales (FAO 2008). La région méditerranéenne produit 12% de la production mondiale de la pomme de terre (Khedir et Letoufa 2007). L'Algérie est classée le premier pays magrébin dans la production de pomme de terre avec une production de 4,4 millions de tonnes par an (Fig. 1) (Daoud et Doudou 2017).

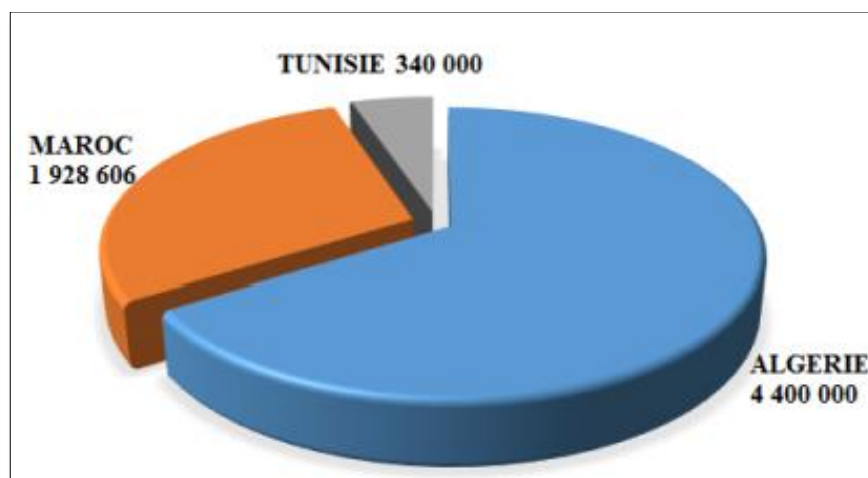


Figure 1. Production de la pomme de terre dans le Maghreb (tonnes/an) (Daoud et Doudou 2017).

2.1. Origine de la pomme de terre

La pomme de terre semble avoir pris naissance et avoir vécu à l'état spontané dans les rivages de l'ouest de l'Amérique latine. Sa consommation par la population indienne date des temps immémoriaux. Elle fut introduite en Europe, vers la deuxième moitié du 16^{ème} siècle par les navigateurs ou les pirates et a été cultivée jusqu'à la fin du 18^{ème} siècle sur une faible étendue. Celle-ci s'est répandue de manière prodigieuse durant le 19^{ème} siècle en Europe. Ceci fut l'entrée de la pomme de terre dans l'alimentation humaine qui a éloigné pour toujours la famine qui sévissait périodiquement (Chevaugnon 1979). On distingue généralement trois types de productions (Montarry 2007) :

- La pomme de terre de consommation (primeurs et conservation), destinée au marché du frais ou à la transformation pour l'alimentation humaine (frites, chips, flocons).
- Pomme de terre féculière, destinée à la transformation industrielle en fécule et aux utilisations multiples (chimie, pharmacie, papeterie, biocarburants...)
- La pomme de terre de semences ou plants.

2.2. Caractéristiques de la plante

La pomme de terre est composée de deux systèmes différents (Fig. 2):

a. Le système aérien

Le système aérien est annuel et composé de (Soltner 1979):

- Tiges au nombre de 2 à 10, parfois plus, avec un port plus au mois dressé et une section irrégulière.
- Feuilles composées permettent, par leurs différences d'aspect et de coloration, de caractériser les variétés.
- Fleurs, dont la couleur et le nombre caractérisent les variétés. Elles sont généralement autogames, mais souvent stériles.
- Fruits ou baies contiennent des graines dont l'intérêt est nul en culture.

b. Le système souterrain

Le système souterrain porte des (Khedir et Letoufa 2007):

- Tubercules vivaces, ce sont les organes de conservation qui permettent de classer la pomme de terre.
- Racines nombreuses et fines, fasciculées et peuvent pénétrer profondément le sol, s'il est suffisamment meuble.

- Tiges souterraines ou rhizomes, ou stolons, sont courtes et leurs extrémités se renflent en tubercules.

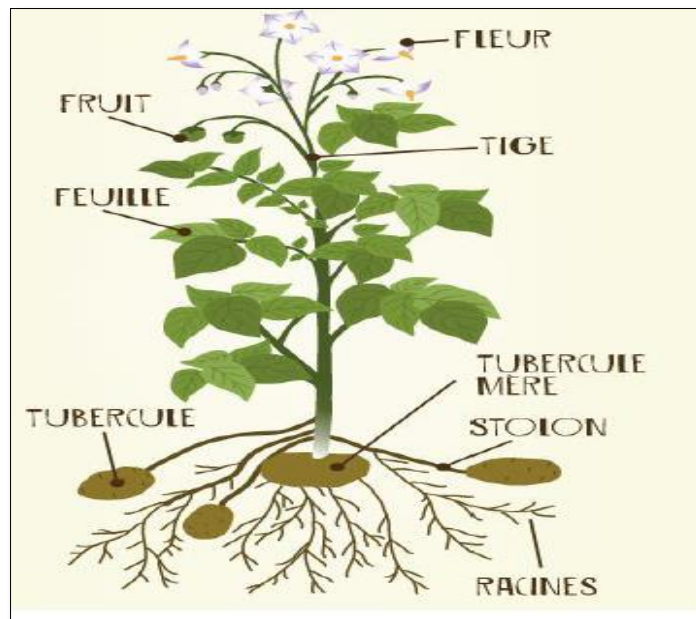


Figure 2. Caractéristiques morphologiques de la pomme de terre (Lahouel 2015).

2.3. Cycle de développement 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 sont résumées dans la figure 3.

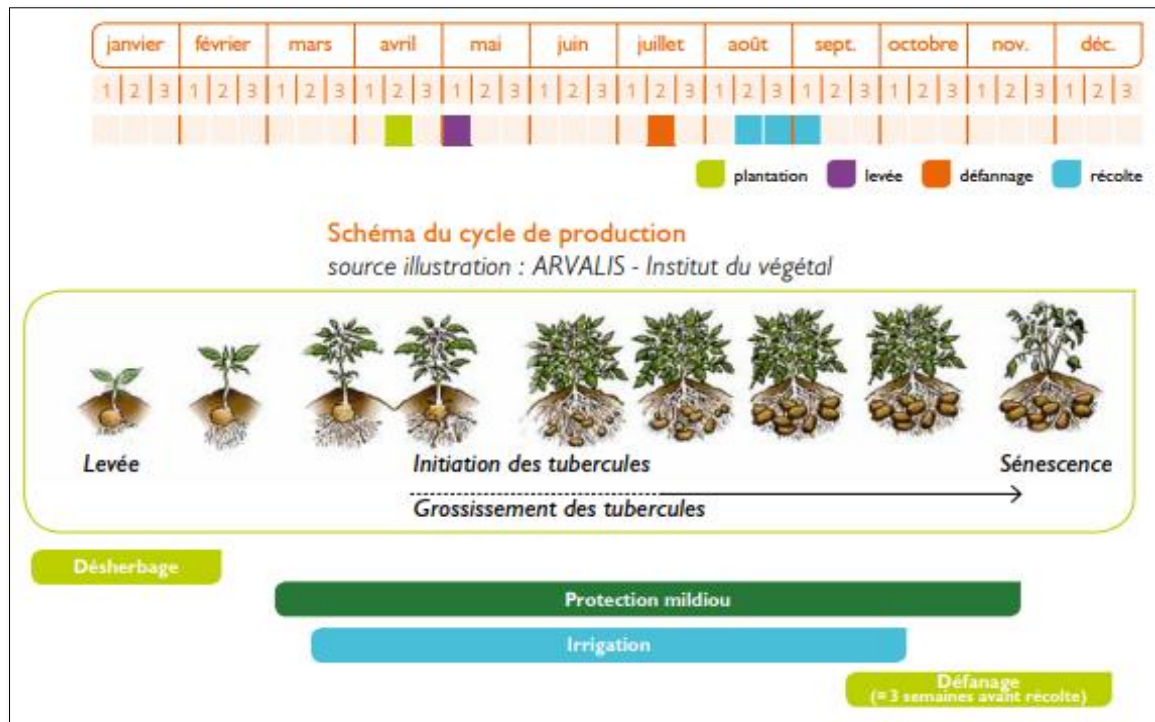


Figure 3. Cycle végétatif de la pomme de terre (Vannetzel 2013).

2.4. Variétés de pomme de terre

Il est quasiment impossible de dresser une liste complète des espèces de pommes de terre puisqu'on en dénombre plus de 3 000 dans le monde qui sont très différentes, chaque variété possède une description officielle basée sur de nombreux caractères morphologiques et quelques caractères physiologiques de par leur taille, leur forme, leur couleur, leur usage culinaire et leur goût (Fig. 4) (Beninal 2010).

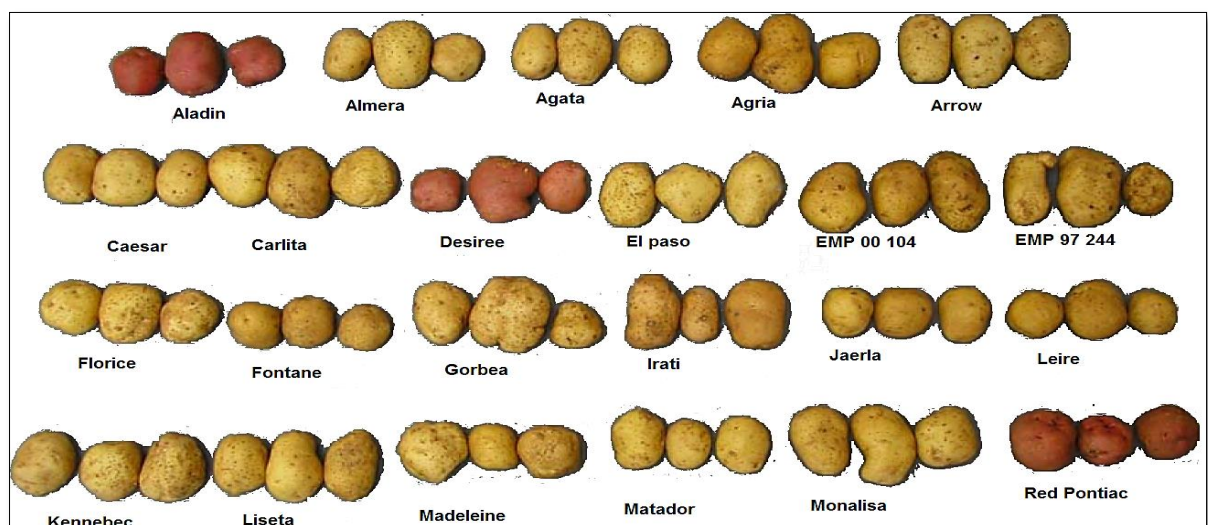


Figure 4. Principales variétés de pomme de terre.

2.5. Principales maladies et ravageurs de la pomme de terre

Les pommes de terre sont menacées par de nombreuses maladies causées par différents agents qui affectent toutes les parties de la plante (racines, tiges, feuilles et tubercules) pendant la phase de végétation ou même pendant la phase de conservation des tubercules. On peut citer : les gelées, le mildiou, l'alternariose, la rhizoctonie, la gangrène, les gales, les virus, le vers blanc, la teigne et les nématodes (Giban 2004).

2.6. La pomme de terre en Algérie

En Algérie, la pomme de terre est considérée parmi les principales cultures du marché, elle occupe une place alimentaire de plus en plus importante dans l'agriculture et l'économie algérienne avec 1 506 859 quintaux en 2007. Ce chiffre a presque doublé en l'espace de trois ans avec une production de 3 290 000 quintaux en 2010 selon le Ministère de l'Agriculture. Son introduction a été faite par les français dans les années 1856 et 1898. L'Algérie est ainsi le deuxième producteur de pomme de terre dans le monde arabe après l'Égypte et le troisième producteur en Afrique (Benimal 2010).

La pomme de terre de saison est la plus importante avec 62.7 % de la superficie globale et une production de 66.5 %. D'après les données du Ministère de l'Agriculture (2006) la surface cultivée en pomme de terre en Algérie occupe environ 38 % de la superficie cultivée en culture maraîchère et 30 % de la production totale (Khedir et al. 2007).

Les principales variétés cultivées en Algérie sont : Spunta (à chair blanche), Désirée (à chair jaune), Bartina et Lisita (Lahouel 2015).

Le président de la Fédération nationale des producteurs de pomme de terre annonce le Mardi, 27 Mars 2018 que la production nationale de pomme de terre, toutes saisons confondues (saisonnaire, arrière-saison et précoce) pour la campagne agricole 2017/2018, a atteint les 4,5 millions de tonnes, prévoyant une hausse de la production durant les deux ou trois prochaines années à venir, pour atteindre les cinq millions de tonnes de pomme de terre/an (ASP 2018).

3. Mildiou

Le mildiou de la pomme de terre est l'ennemi juré de la culture de la pomme de terre à l'échelle mondiale. C'est une maladie causée par l'oomycète *Phytophthora infestans* (Bouzerouata 2017). Cette maladie est considérée comme la maladie de la pomme de terre causant le plus des dégâts, car elle fut responsable de la famine et la mort d'au moins un

million et demi de personnes en Irlande dans les années 1840 (Rousselle et al. 1996). Le mildiou peut aussi s'attaquer à d'autres plantes de la famille des Solanacées (Rakotonindraina 2012). Il attaque tous les organes de la plante au-dessus et en dessous de la terre (feuilles, pétioles, tiges, tubercules, ...) entraînant souvent la mort de la plante. Le mildiou est caractérisé par sa rapidité de progression sur des grandes distances lorsque les conditions météorologiques lui sont favorables (Al-Mughrabi 2011).

3.1. Origine de la maladie

Deux hypothèses sont énoncées pour expliquer l'origine du *P. infestans* ; la 1^{ère} théorie montre que le mildiou actuel dériverait de populations des Andes du Pérou, et la 2^{ème} théorie montre que le centre d'origine de la maladie serait la vallée de la Toluca au Mexique. Une autre théorie alternative basée sur des évidences historiques et des évidences génétiques explique son origine par la migration de l'agent pathogène du centre du Mexique vers l'Amérique du sud puis sa migration de l'Amérique du sud vers les Etats Unies en 1841-1842, enfin sa migration vers l'Europe à partir de l'Amérique du sud et/ou Etats Unies dans les années 1843-1844 (Andrivon 1996).

3.2. Description de l'agent causale du mildiou

3.2.1. Etymologie

Phytophthora infestans est un nom inventé au XIX^{ème} siècle par le botaniste Anton de Bary qui signifie en Grec: (phyton) = (plante) et (phthora) = (destruction), c'est-à-dire littéralement destructeur de plante (Beninal 2011).

3.2.2. Caractéristiques de *P. infestans*

P. infestans est un oomycète appartenant au règne des Chromista, c'est un microorganisme fongiforme qui diffère des vrais champignons par la présence des parois à base de cellulose au lieu de la chitine, des stérols des membranes plasmique à base de fucostérol au lieu de l'ergostérol ainsi que par la nature de leur substance de réserve les mycolaminarines au lieu du glycogène. L'agent pathogène possède un thalle non septé qui se termine par un sporange citroforme ou limoniforme, les sporanges renferment des cellules mobiles biflagellé appelée zoospores (Beninal 2011).

3.2.3. Cycle de vie de *P. infestans*

Cet oomycète est caractérisé par une reproduction sexuée et asexuée. Le cycle de reproduction sexuée aura lieu lorsque la forme A1 confronte la forme A2, la communication hormonale entre ces derniers stimule la formation des gamétanges (anthéride et oogone) qui fusionneront pour former une oospore diploïde qui peut survivre quelque année dans le sol. La reproduction asexuée, quant à elle, est réalisée par les zoospores biflagellées libérées par les sporanges permettant ainsi à *P. infestans* de se disséminer facilement via l'action du vent ou par la pluie. Les sporanges et les zoospores ont une durée de vie très courte contrairement aux oospores qui ont une durée de vie en dehors du tissu hôte relativement longue (Rakotonindraina 2012).

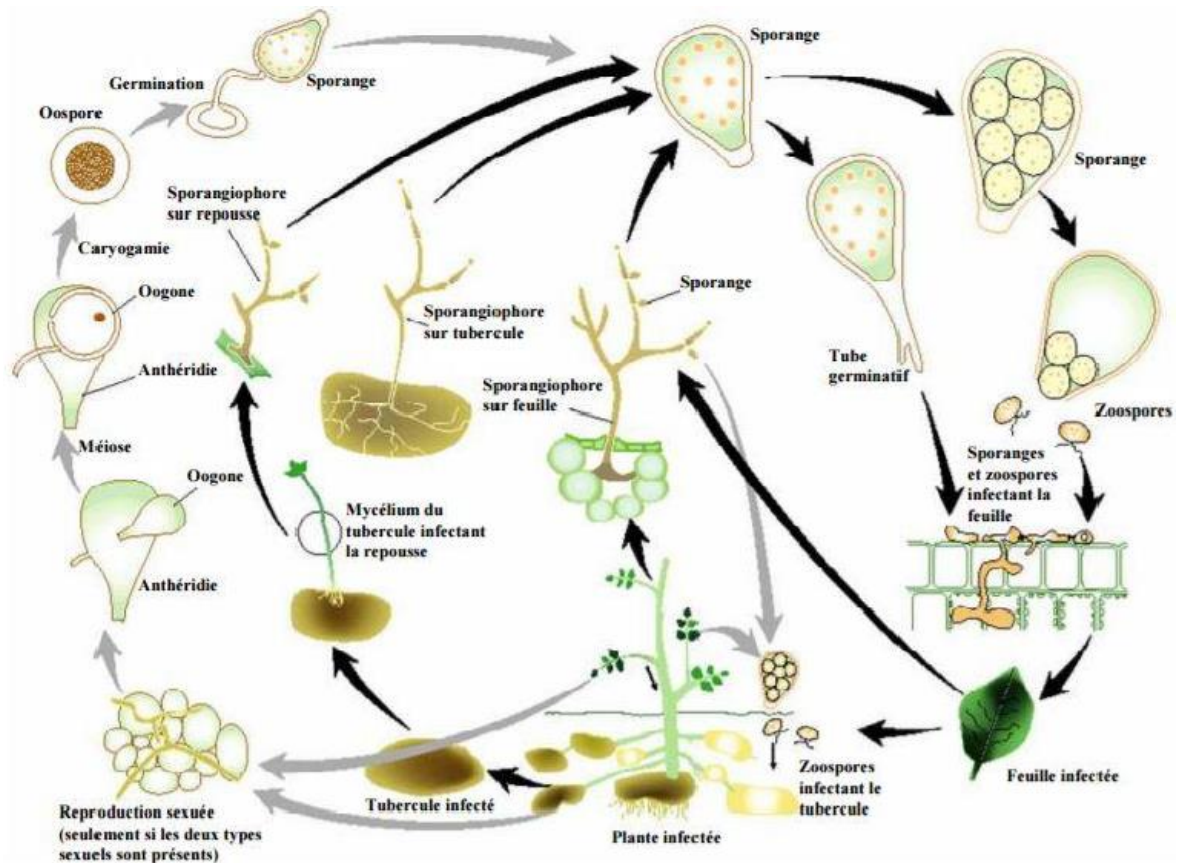


Figure 5. Cycle biologique de *P. infestans* (Montarry 2007).

3.2.4. Symptômes

Ce pathogène est capable d'infecter tous les organes de la pomme de terre (feuillages, tiges, tubercules, et même les racines). Les symptômes apparaissent d'abord sur les feuilles par temps frais et pluvieux (Vannetzel 2013).

Sur la feuille, des petites taches brunes apparaissent et se développent en de grandes lésions irrégulières et nécrotiques. Les bords de lésions peuvent présenter des taches ressemblant au duvet blanc sur la face inférieure de la feuille (Fig. 7) (FREDON 2009).



Figure 6. Symptômes du mildiou sur la feuille.

Sur la tige, de longues lésions brunes apparaissent et qui peuvent présenter sur les bords du duvet blanc en croissance. Ultérieurement la tige peut se casser (Fig. 8) (FREDON 2009).



Figure 7. Symptômes de mildiou sur les boucaux terminaux.

Sur le tubercule, des taches brunes sur la peau, plus prononcée au niveau du stolon apparaissent. L'infection peut s'étendre à l'intérieur du tubercule et causer sa pourriture (Fig. 9) (FREDON 2009).



Figure 8. Symptômes de mildiou sur le tubercule.

4. Moyens de lutte contre le mildiou

Dans de nombreuses régions les conséquences économiques du mildiou sont graves car une fois l'épidémie déclarée la maladie est difficile à combattre. Pour être efficace, la lutte contre le mildiou est réalisée de manière préventive, avant la contamination. Face à ce problème plusieurs stratégies de lutte sont appliquées pour limiter le plus possible l'implantation de *P. infestans* dans la parcelle pour préserver le feuillage et éviter la contamination des tubercules (Rakotonindraina 2012).

a. Lutte prophylactique

Cette méthode de lutte consiste à limiter au maximum les sources d'inoculum primaire par rotation culturale et élimination des tas de déchets issus de la récolte précédente, plantation de variétés de pommes de terre résistantes au mildiou et plantation de tubercules de semences saines et certifiées (Rakotonindraina 2012). Il est possible d'utiliser des modèles prévisionnels pour déterminer les conditions météorologiques propices au développement du mildiou utilisant les données sur la température, la pluie et l'humidité relative. Ces modèles peuvent déterminer avec une bonne précision le moment optimal pour appliquer les traitements fongicides (Al-Mughrabi 2011).

b. Lutte chimique

Les premiers essais de lutte contre le mildiou ont été réalisés dans les années 1880 en utilisant des sels de cuivre. A l'heure actuelle, ces derniers sont remplacés par des fongicides qui peuvent être divisés en trois groupes de matières actives selon leurs niveaux de translocation dans la plante. Le premier groupe comporte des produits de contact qui ne peuvent pas être mobilisés par la plante et ne protègent donc que les organes traités inhibant ainsi la germination des spores en bloquant diverses enzymes du phytopathogène. Le deuxième groupe comprend les matières actives pénétrantes qui peuvent pénétrer dans les organes traités, ceux-ci sont réduits au cymoxanil. Ce composé pénètre dans les organes traités, ne se transfère pas par la sève. De par son pouvoir pénétrant, le cymoxanil est susceptible de détruire le mycélium du champignon jusqu'à 2 jours après la contamination. Enfin, le groupe des matières actives systémiques qui sont distribués dans l'ensemble de la plante traitée, ce qui leur confère une action curative et la possibilité de protéger des organes non encore contaminés. Les produits de l'industrie chimique ont apporté des solutions rapides, générales, simples et efficaces aux problèmes de protection des cultures, mais l'utilisation massive de ces pesticides chimiques a ressortie des isolats résistants aux matières actives utilisées, ce qui a rendu ces traitements inefficaces, ils peuvent avoir aussi

de graves conséquences sur la santé. Ils peuvent provoquer des maladies cutanées, digestives, oculaires, neurologiques, etc. (Rousselle et al. 1996 ; Bennani 2011).

c. Lutte génétique

La création de variétés qui résistent aux parasites est la meilleure alternative pour limiter l'utilisation des pesticides et donc leurs effets néfastes sur les producteurs, les consommateurs et l'environnement (Rousselle et al. 1996). De nombreux programmes reposant sur l'introduction des gènes de résistance ont été engagés avec pour but la sélection de variétés ayant une bonne valeur agronomique et une résistance durable au mildiou. Ces programmes se sont longtemps basés sur l'introduction de résistances spécifiques, à caractère monogénique issues des espèces sauvages. Actuellement, onze de ces gènes (dénommés R1 à R11) ont été identifiés et introduits chez *S. tuberosum*, ces gènes sont plus ou moins rapidement contournés par les populations parasitaires, entraînant la perte de leur efficacité et ne peuvent constituer à eux seuls une méthode de lutte durable. Les sélectionneurs s'orientent donc actuellement vers la recherche de résistances partielles, polygéniques dont l'effet principale est de réduire la vitesse d'expansion de la maladie et offre une meilleure garantie de durabilité (Beninal 2011).

d. Lutte biologique

La lutte biologique se définit par l'utilisation des microorganismes bénéfiques vivants, ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou les dommages causés par l'agent pathogène, cette méthode de lutte est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger pour l'environnement et pour l'homme. La protection est faite par un ou plusieurs mécanismes d'antagonismes (compétition, l'antibiose, parasitisme, production de sidérophores, ...), réalisés par un ou plusieurs agents antagonistes (Bouzerouata 2017). Les plus importants sont les microorganismes, les nématodes, les insectes et les arachnides. Les organismes bénéfiques utilisés en lutte biologique doivent avoir un bon taux de reproduction, être spécifiques et avoir une bonne capacité d'adaptation (Gherrou et Salhioui 2016).

Méthodologie

Méthodologie

1. Objectif du travail

Ce travail a eu pour objectif de tester l'effet antagoniste d'une suspension issue de la culture sur bouillon de quelques souches bactériennes, préalablement isolées et purifiées, sur l'agent du mildiou de la pomme de terre *Phytophthora infestans*. Ceci à travers la confrontation directe sur boîte de Petri (*in vitro*) et par application sur des plants de pomme de terre infectés par *P. infestans* par aspersion de la partie foliaire (*in vivo*).

2. Méthodologie

2.1. 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.* (Kouider et al. 2018). Parmi ces souches, six, semblant appartenir au genre *Bacillus* (Fig. 9), ont présenté un effet antagoniste contre *P. infestans*. En effet, 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.

b. Isolement et purification de *Phytophthora infestans*

P. infestans 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 ont été 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 ont été ensuite déposés sur les géloses Sabouraud et PDA additionnées d'antibiotiques (Fig. 10). Des repiquages successifs sont réalisés afin d'obtenir des cultures pures du microorganisme recherché.

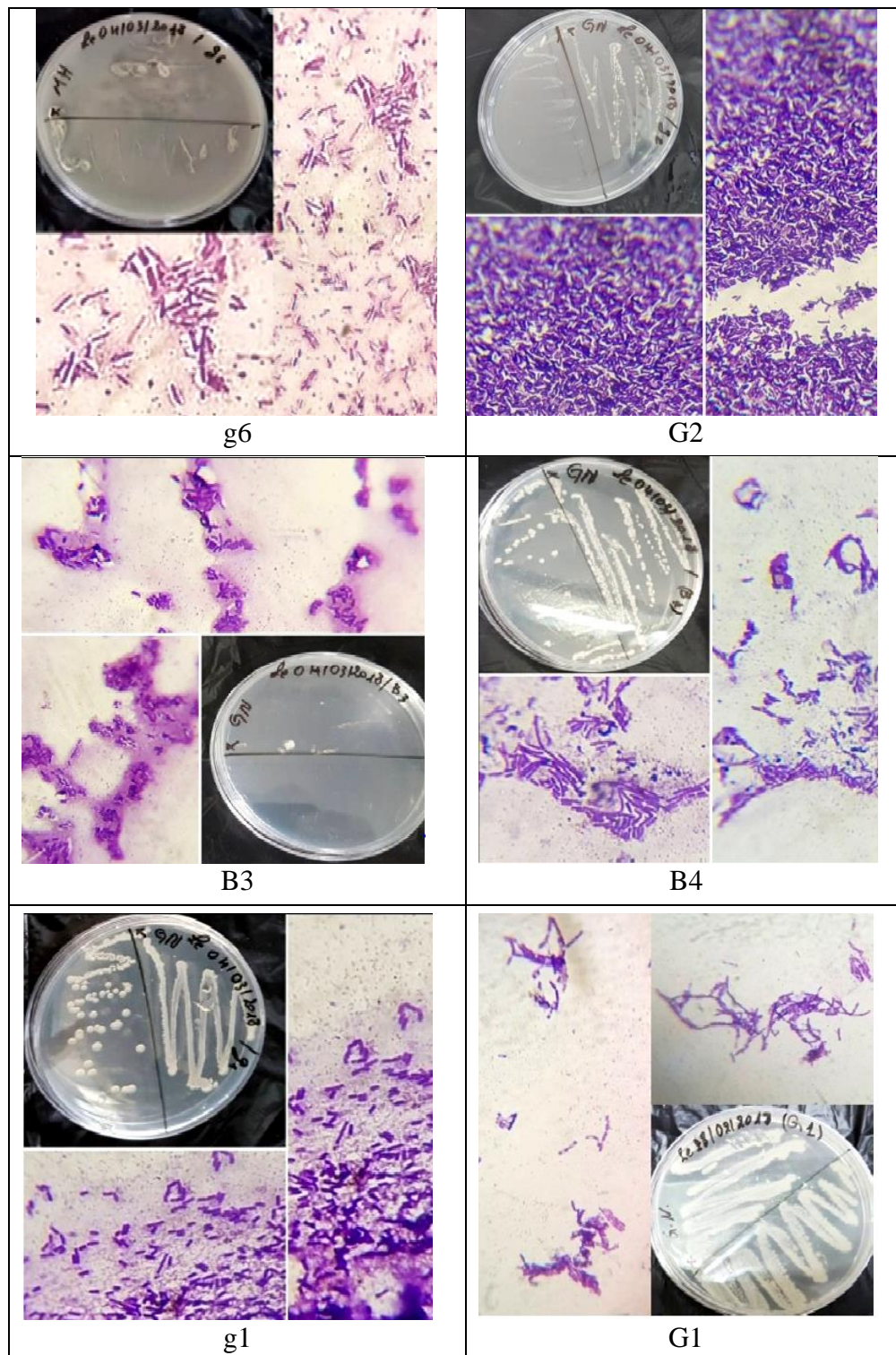


Figure 9. Souches bactériennes antagonistes étudiées.

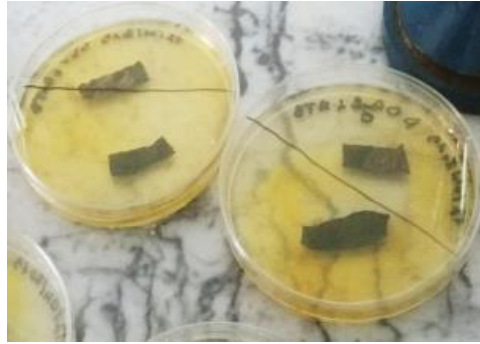


Figure 10. Fragments de feuilles de pomme de terre sur la gélose PDA/ Sabouraud.

a. Pomme de terre

Notre étude a porté sur la variété de pomme de terre Désirée G1 (Fig. 11). C'est une variété qui est originaire des Pays Bas, obtenue en 1962 par le croisement de la variété néerlandaise 'Urgenta' avec la variété allemande 'Depesche'. Les tubercules ont été obtenus de l'institut National de la Recherche Agronomique, Sebaine –Tiaret (Algérie). Ceux-ci ont été désinfectés avec de l'eau de Javel 13° puis rincés avec de l'eau distillée stérile puis plantés dans des pots (Fig. 12) sur un sol stérilisé, prélevé à partir d'un terrain agricole préalablement tamisé, afin d'éliminer les éléments grossiers et d'assurer une granulométrie homogène.



Figure 11. Tubercules de pomme de terre utilisés.



Figure 12. Pots utilisés pour la plantation des tubercules de pomme de terre.

2.2. Méthode

2.2.1. Protocole expérimentale

Afin de réaliser notre expérimentation on a suivi le protocole décrit dans la figure ci-dessous:

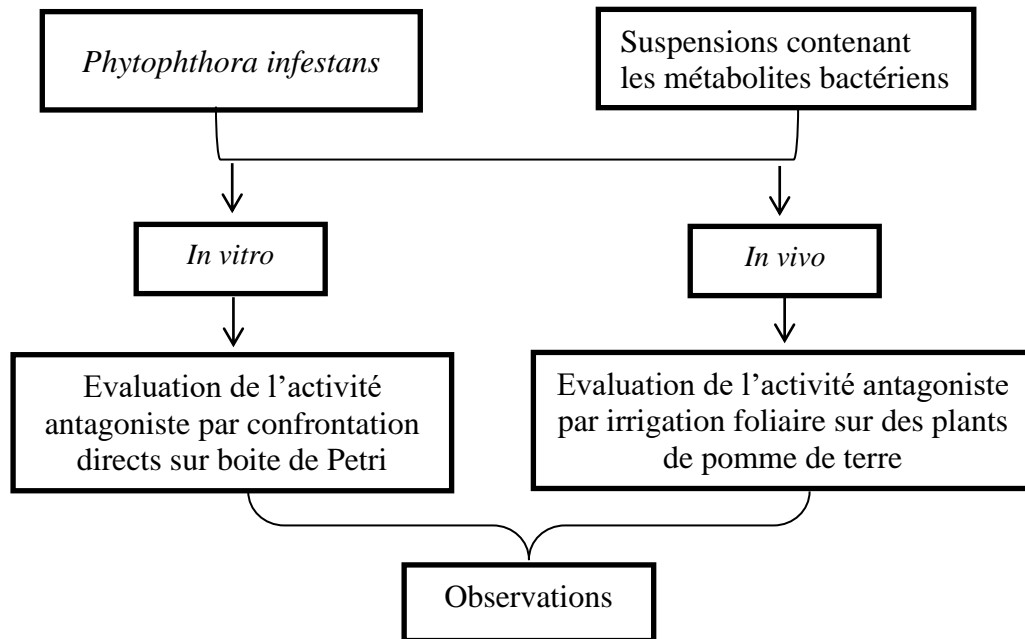


Figure 13. Protocole expérimentale.

2.2.2. Préparation de la suspension contenant les métabolites bactériens

Des cultures sur bouillon nutritif ont été préparées à partir des six souches sélectionnées. Celles-ci sont incubées à 30 °C pendant 48 h puis un disque contenant un fragment de la culture de *P. infestans* est ajouté dans chaque tube qui sera ré-incubé pendant 24 h. Après ce temps, les tubes sont centrifugés à 3000 trs/min pendant 10 min (Pierre 2016). Les surnageants sont récupérés (Fig. 14) et testés pour la présence de métabolite ayant un effet antagoniste contre *P. infestans*.

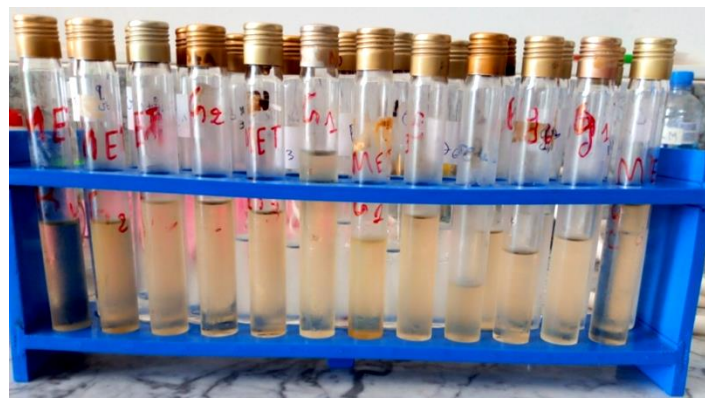


Figure 14. Suspensions de métabolites bactériens.

2.2.3. Evaluation de l'activité antagoniste entre *P. infestans* et les suspensions de métabolites bactériens

a. *In vitro*

- **Confrontation directe en boîte de Petri**

Afin d'évaluer l'interaction antagoniste entre *P. infestans* et les métabolites bactériens, la méthode décrite par Harir (2010) a été adoptée. Brièvement, un disque du phytopathogène est mis au centre de la boîte de Petri préalablement coulée avec la gélose Sabouraud. Ensuite, deux puits sont réalisés de part et d'autre du disque puis remplis avec 40 µL de la suspension préparée à partir de chaque souche bactérienne antagoniste (Fig. 11 & 12). Une boîte de Petri témoin contenant un disque de *P. infestans* au centre est préparé 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_{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 suspensions bactériennes à part, des combinaisons des différentes suspensions ont été testées pour évaluer l'effet antagoniste du mélange.

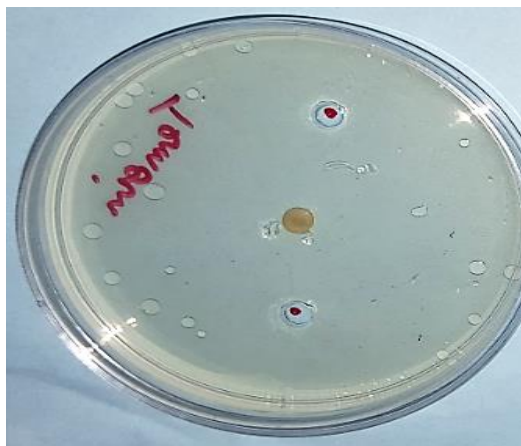


Figure 15. Confrontation directe entre *P. infestans* et la suspension de métabolites.

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.

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

Les plants de pomme de terre ayant développés des feuilles sont utilisés dans ce travail (Fig. 16). Les pots 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. 17). Le deuxième groupe contient des plants de pomme de terre inoculés chacun avec une de chaque suspension de métabolites bactériens sur la partie foliaire par aspersion. Le dernier groupe est inoculé par l'agent phytopathogène puis par la suspension de métabolites, par aspersion sur la partie aérienne, afin d'évaluer l'effet antagoniste.



Figure 16. Plant de pomme de terre ayant développé des feuilles.



Figure 17. Inoculations de *P. infestans* sur le plant de pomme de terre
a) sur les feuilles, b) sur le tubercule et les racines.

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.

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 20. Observation microscopique de *Phytophthora infestans* (Gx100).

2. Evaluation de l'activité antagoniste entre *P. infestans* et les suspensions de métabolites bactériens

a. In vitro

- **Confrontation directe en boîte de Petri**

Les résultats obtenus après confrontation sur boîte de Petri entre *P. infestans* et les métabolites issus des souches bactériennes antagonistes ont montré une inhibition de la croissance mycélienne du phytopathogène. Des combinaisons de deux suspensions différentes et la combinaison de l'ensemble des suspensions ont aussi été testées pour évaluer leur effet antagoniste. Les résultats sont représentés dans les figures 20 et 21.

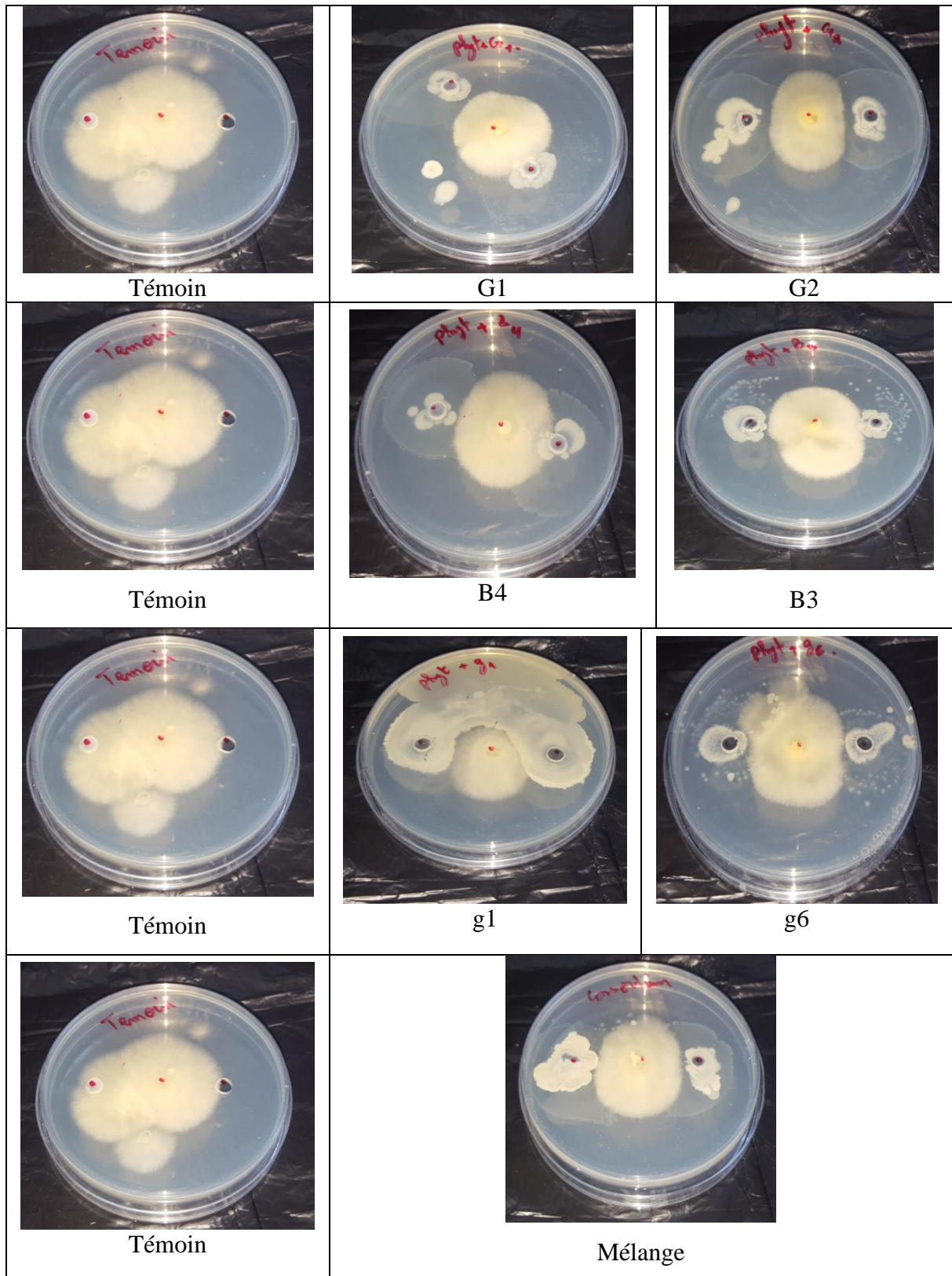


Figure 21. Confrontation directe entre les suspensions de métabolites bactériens et *P. infestans*.

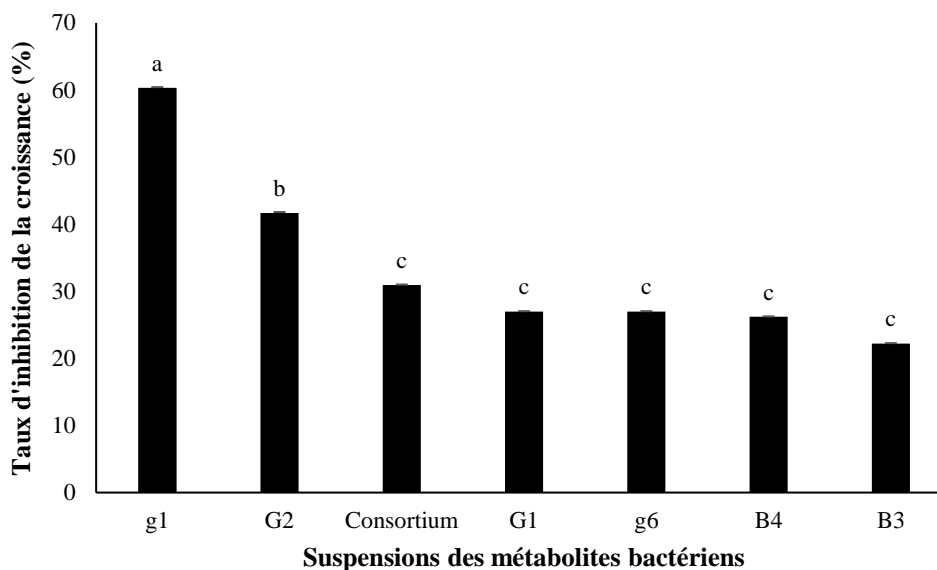
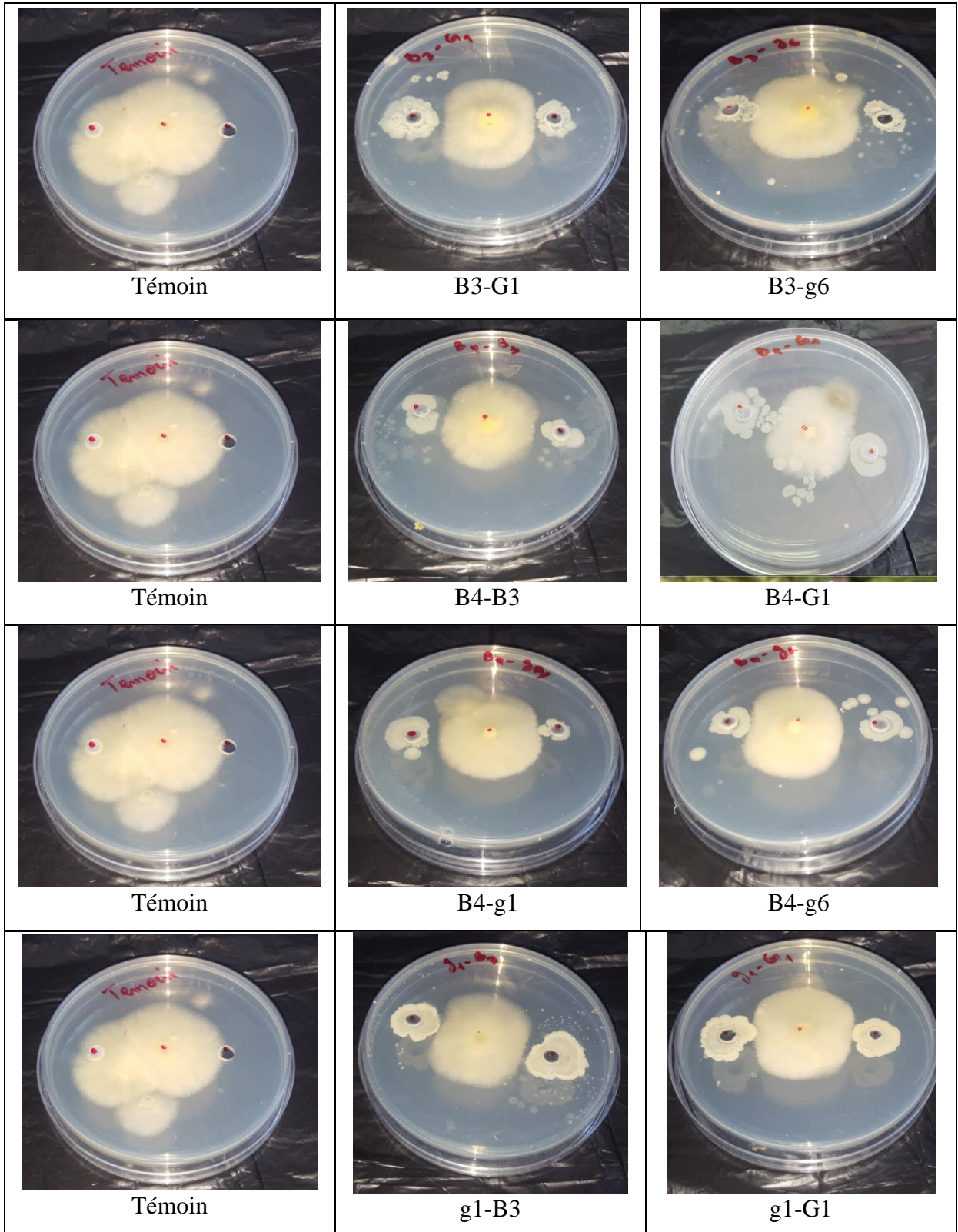


Figure 22. Taux d'inhibition (%) de *P. infestans* par les métabolites bactériens testés.

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

On remarque que les suspensions préparées à partir des souches bactériennes présentent un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne de *P. infestans* ce qui confirme la présence de métabolites libérés par ces souches dans le milieu et qui possèdent un effet antagoniste vis-à-vis de *P. infestans*. L'analyse statistique des résultats obtenus montre une hétérogénéité dans les taux d'inhibition. En effet, on remarque que la suspension issue de la souche g1 présente le meilleur taux d'inhibition (60.3 ± 0.1 %) suivie de la suspension G2 (41.6 ± 0.15 %). Cependant, le reste des suspensions y compris le mélange de toutes les suspensions ont présenté des taux d'inhibition qui ne diffèrent pas significativement entre eux (Fig. 23).

En outre, les combinaisons de deux suspensions de métabolites ont également montré une inhibition de la croissance de *P. infestans*. Cependant, les suspensions g1 et G2 ainsi que leur mélange restent toujours les meilleurs en comparaison avec toutes les autres suspensions seules ou en combinaisons (Fig. 23).



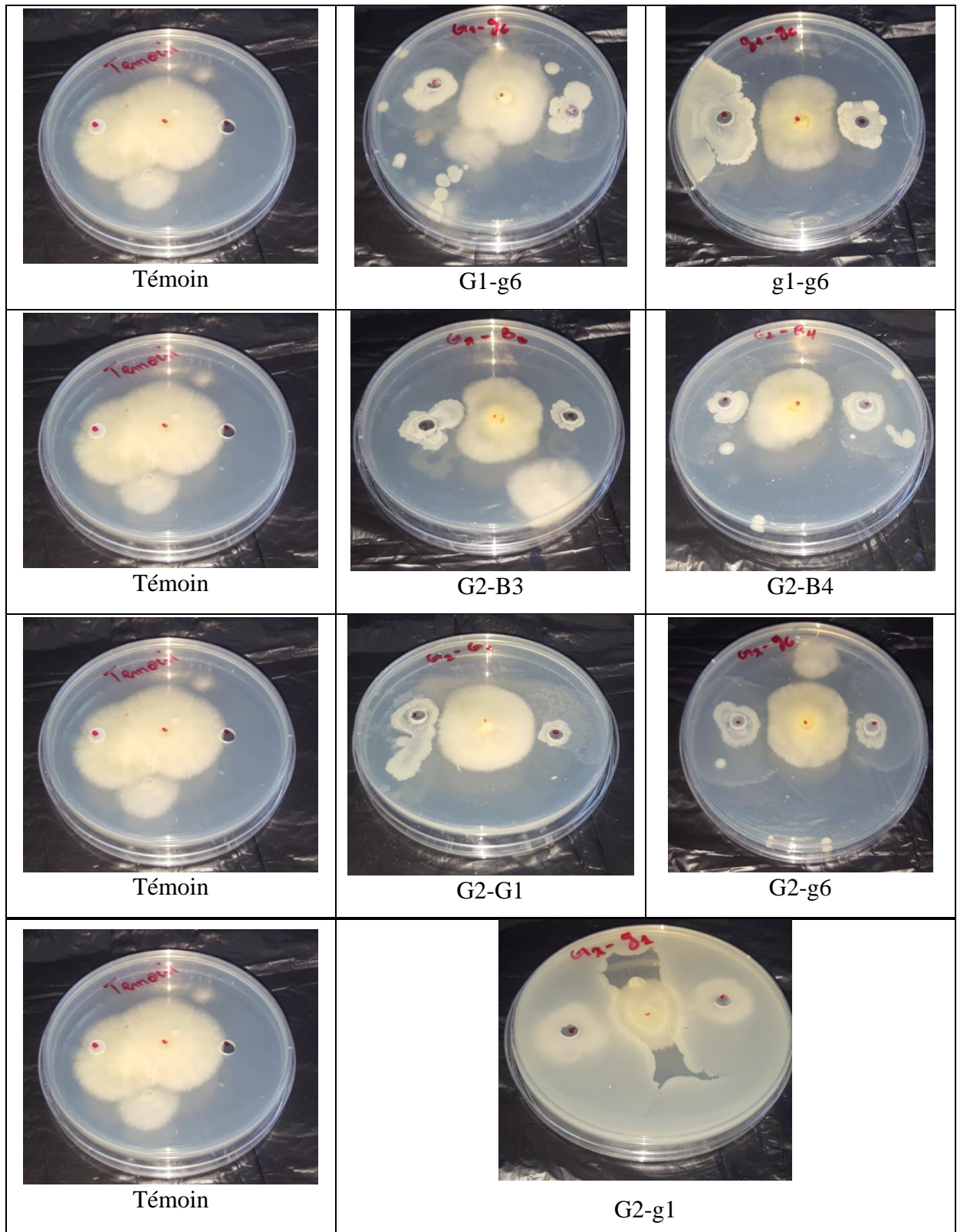


Figure 23. Confrontation directe entre les mélanges des suspensions de métabolites bactériens et *P. infestans*.

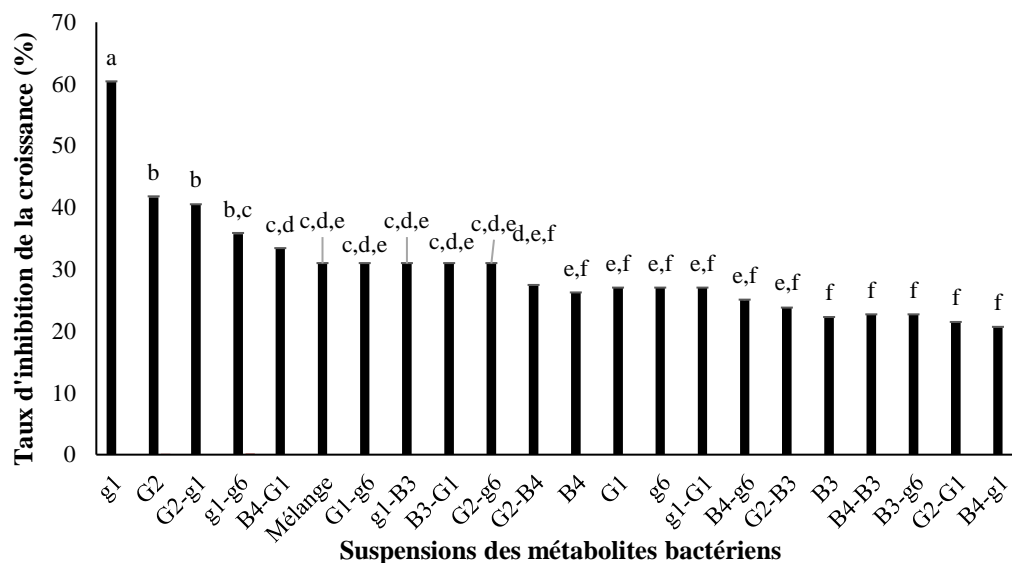


Figure . Taux d'inhibition (%) de *P. infestans* par les métabolites bactériens testés seuls et en combinaisons.

a. In vivo

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

Après la réalisation des tests *in vitro*, les suspensions sont également testées *in vivo*, séparément puis en mélange de l'ensemble, sur des plants de pomme de terre cultivés sous des conditions contrôlées de laboratoire.

Des suspensions de *P. infestans* ont été appliquées sur des plants sains 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 malgré avoir essayé de réunir toutes les conditions favorables à la propagation de ce phytopathogène (Fig. 19). 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 19. Absence des symptômes du mildiou après inoculation par *P. infestans*.

Discussion

Discussion

Cette étude a eu pour objectif de tester l'effet antagoniste de quelques suspensions contenant des métabolites bactériens sur l'agent du mildiou de la pomme de terre *Phytophthora infestans in vitro* et *in vivo*. Sachant que ces suspensions sont préparées à partir de souches préalablement isolées, purifiées et testées pour leur effet antagoniste sur le même agent phytopathogène.

Les souches testées ont été identifiées comme étant des bactéries du genre *Bacillus*, ceci en se basant sur l'origine à partir de laquelle elles ont été isolées à savoir du sol ainsi que sur l'observation macroscopique et microscopique des cultures sur gélose à savoir des bacilles à Gram positif sporulants présentant sous forme de grandes colonies s'étalant sur toute la surface de la gélose (Benabdellah 2014).

En outre, les bactéries du genre *Bacillus*, *Pseudomonas* ainsi que les actinobactéries et les champignons tels que *Trichoderma* sont la composante microbienne majeure de la plupart des rhizosphères (Lahlou 2002). Les espèces appartenant à ces genres ont été démontrées possédant un effet antagoniste contre plusieurs agents causaux des maladies de la pomme de terre tels que *Alternaria solani*, *Fusarium solani*, *Phytophthora infestans* et *Rhizoctonia solani*, elles sont donc utilisées dans les stratégies de biocontrôle utilisant leurs capacités de produire des molécules bioactives qui sont majoritairement des métabolites secondaires (Cauller 2018). Ce groupe de microorganismes sont considérés comme des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), protégeant les plantes par divers modes d'action tels que la compétition pour les ressources nutritionnelles, l'antibiose c'est-à-dire la production de substances inhibant le développement de l'agent pathogène ou encore en déclenchant une résistance systémique induite (ISR) chez la plante hôte (El Hadidy 2016).

Les métabolites secondaires produits par les bactéries antagonistes sont des composés de faible poids moléculaire ; moins de 2.5 KDa. Ils sont chimiquement et fonctionnellement diversifiés et présentent des activités antimicrobiennes, régulatrices de la croissance des plantes, inhibitrices des enzymes végétales, herbicides, insecticides et antiparasitaires bien connues. En raison de leurs activités biologiques remarquables, ils sont largement utilisés dans les domaines de l'agriculture, de la médecine et des sciences vétérinaires (Pathma et al. 2011).

Les bactéries du genre *Bacillus* sont capables de produire une large gamme de métabolites secondaires avec des natures et des structures très différentes affichant un large spectre d'activités. Ces métabolites comprennent les peptides non ribosomiaux (lipopeptides, sidérophores), les peptides ribosomiaux (bactériocine), les composées volatiles et les phytohormones. Par exemple, l'iturine est un métabolite secondaire à action antifongique, il est utilisé contre *Rhizoctonia solani*, un autre exemple est celui des métabolites du type surfactine (lipopeptide) qui est un biosurfactant qui agit comme un détergent sur les membranes biologiques (Sansinenea et Ortiz 2011). Des études ont démontré que le *B. subtilis* présente un effet antagoniste contre *P. infestans* par la production des lipopeptides assurant la solubilité des membranes des zoospores (Cauller 2018). D'autres métabolites peuvent agir comme des stimulateurs de la croissance de la plante ; les auxines et les cytokinines. La bacilysin 1, un dipeptide non ribosomal, représente l'un des antibiotiques peptidiques les plus simples connus pour leurs activités antifongiques et antibactériennes (Sansinenea et Ortiz 2011).

L'application de ces métabolites se fait généralement de manière individuelle, cependant certains travaux ont prouvé que l'effet antagoniste du mélange de quelques métabolites est plus élevé en comparaison avec l'application individuelle de ceux-ci. Ce phénomène est expliqué par la présence d'une certaine synergie entre les différents composants (El Hadidy 2016).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le présent travail a été réalisé dans le but d'étudier l'activité antagoniste de quelques métabolites en suspension, issus de six souches du genre *Bacillus*, contre l'agent phytopathogène du mildiou de la pomme de terre *in vitro* et *in vivo*.

Les résultats obtenus révèlent un effet antagoniste intéressant de ces suspensions vis-à-vis de *P. infestans* lorsqu'elles sont mises en contact directe sur les boîtes de Petri (*in vitro*). En outre, le mélange des suspensions a lui aussi démontré une réduction du développement du phytopathogène.

Malheureusement, l'application directe sur les feuilles des plants de pomme de terre n'a pas pu être achevée pour nous permettre d'évaluer l'activité antagoniste des suspensions sur *P. infestans in vivo*.

Quoique, l'essai *in vivo* n'a pas abouti, les résultats *in vitro* restent prometteurs pour une éventuelle application directe *in situ*.

Enfin, nous souhaitons que notre travail soit poursuivi afin d'identifier les espèces bactériennes utilisées dans notre étude. De plus, une étude approfondie pour la détermination des métabolites responsables de l'activité antagoniste doit être entreprise en vue d'une application *in situ*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- 1. Al-Mughrabi K. 2004.** Comprendre et gérer le mildiou de la pomme de terre. Conseil Canadien de l'Horticulture. New Brunswick, Canada.
- 2. Andrivon D. 1996.** The origin of *Phytophthora infestans* populations present in Europe in the 1840s. A critical review of historical and scientific evidence. *Plant Pathology*. 45: 1027-1035.
- 3. APS (Algérie Press Service). 2018.**
- 4. Benabdallah A. 2014.** Screening de souches extrêmophiles halophiles du genre *Bacillus* de la Sebkhia d'Oran (caractérisation phénotypique). Mémoire de Master. Université Abou-Bakr-Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- 5. Benani Y. 2014.** Le mildiou de pomme de terre. Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.
- 6. Beninal L. 2011.** Diversité génétique de *Phytophthora infestans* agent du mildiou de la pomme de terre en Algérie. Mémoire de Magistère. Ecole Nationale Supérieures Agronomique d'El-Harrach, Alger, Algérie.
- 7. Bessadat N. 2014.** Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Thèse de Doctorat. Université d'Oran, Algérie.
- 8. Bouzerouata A. 2017.** Application de *Bacillus spp.*, mésophile dans la lutte biologique. Mémoire de Master. Université Abou-Bakr-Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- 9. Cauller S., Gillis A., Colau G., Licciardi F., Liépin M., Desoignies N., Modrie P., Légrève A., Mahillon J. and Bragard C. 2018.** Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus spp.* and *Pseudomonas spp.* against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 9:143.
- 10. Chebbah A. 2016.** Contribution à l'étude de la production de quelques variétés de pomme de terre dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master. Université Abou-Bakr-Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- 11. Chevaugéon J. 1979.** *Phytophthora infestans*: un exemple d'interventions de l'homme sur la structure d'une espèce parasite. *Bulletin de la société Botanique de France*. 126: 21 - 44.

12. **Daoud H. et Doudou O. 2017.** Etude comparative de 14 variétés de pomme de terre cultivée (*Solanum tuberosum*) dans la région de Mostaganem pour obtention de diplôme de master en agronomie.
13. **EL-Hadidy AEA. 2016.** Biocontrol activities of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) against Phytophthora blight and growth promotion of sweet pepper. Middle East Journal of Applied Sciences. 6(4): 1138-1149.
14. **Essalmani H. et Lahlou H. 2002.** Etude in vitro de l'activité antagoniste de quelques microorganismes à l'encontre de *Fusarium oxysporum* f. sp. lentis. Cryptogamie, Mycologie. 23(2): 221-234.
15. **FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation). 2009.** Pomme de terre, nutrition et diététique.
16. **FREDON (Fédération Régionale de Défense Contre les Organismes Nuisibles). 2009.** Lutter contre le mildiou de la pomme de terre en production biologique. www.fredon-npdc.com.
17. **Gherrou L. et Salhioui F. 2016.** Evaluation de l'activité antagoniste de quelques bactéries rhizosphériques à l'égard de trois champignons phytopathogènes. Mémoire de Master. Université Abderrahman Mira, Bejaia, Algérie.
18. **Glais I. et Corbière R. 2005.** Inoculation en conditions contrôlées de folioles détachées de pomme de terre, pour déterminer l'agressivité et la virulence d'isolats de *Phytophthora infestans*. Numéro spécial du Cahier des Techniques. 143- 147.
19. **Giban M. 2004.** Principaux ravageurs de la pomme de terre, Marketing ARVALIS-Institut du végétal. Lavoisier. France.
20. **Harir M. 2010.** Effets antagonistes entre les souches d'actinomycètes et *Verticillium dahliae* Kleb agent de la verticilliose de l'olivier. Mémoire de Magistère. Université d'Oran, Algérie.
21. **Kahlouch L. et Meziane L. 2017.** Etude de quelques métabolites secondaires des souches du genre *Aspergillus* ayant une activité biologique. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.
22. **Khedir H. et Letoufa S. 2007.** Contribution à l'étude de l'effet de la fertilisation azote-potassique sur la culture de la pomme de terre (var spunta) dans la région du Oued Souf. Mémoire de Master. Université Kasdi Merbah, Ouergla, Algérie.

23. **Kouider DH. Ladad H. Lakehal A. 2018.** Screening de quelques souches microbiennes antagonistes de l'agent du mildiou « *Phytophthora sp.* ». Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie.
24. **Lahouel Z. 2015.** Etude diagnostique de la filière pomme de terre dans la région de Tlemcen, cas de deux fermes pilotes, Hamadouche et Belaidouni. Mémoire de Master. Université Abou-Bakr-Belkaid, Tlemcen, Algérie.
25. **Montarry J. 2007.** Réponse adaptative des populations de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, au déploiement en culture de son hôte *Solanum tuberosum*, Thèse de Doctorat. Ecole National Supérieure Agronomique de Rennes, France.
26. **Nanadris D. 1977.** Etude des interactions entre *Solanum tuberosum* et *Phytophthora infestans*. Rapport de laboratoire de phytopathologie.
27. **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.
28. **Rakotonindrana TF. 2012.** Analyse et modélisation des effets des pratiques culturales sur les épidémies de mildiou de la pomme de terre. Adaptation du modèle SIPPOM (Simulator for Integrated Pathogen Population Management) au pathosystème. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, France.
29. **Rousselle P., Robert Y. et Crosnier JC. 1996.** La pomme de terre. Production, amélioration, ennemis, maladies et utilisations. I.N.R.A. Paris, France.
30. **Pathma J. Rahul GR. Kamaraj Kennedy R. Subashri R. and Sakthivel N. 2011.** Secondary metabolite production by bacterial antagonists. Journal of Biological Control. 25(3): 165-181.
31. **Pierre M. 2016.** Utilisation d'effecteurs de *Phytophthora spp.* Aider à la recherche de géniteurs résistants chez les solanacées, Mémoire de Master. Centre INRA, Provence-Alpes-Côte d'Azur, France.
32. **Sansinenea E. and Ortiz A. 2011.** Secondary metabolites of soil Bacillus spp. Biotechnology Letters. 33: 1523–1538.
33. **Semal J. 1989.** Traité de pathologie végétale. Presses Agronomiques de Gembloux, Belgique.
34. **Shah VV., Shah ND. and Shinde SS. 2012.** Solanaceae: Historical aspects. International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science. 1(3): 90-95.

35. **Soltner D. 2005.** Les grandes productions végétales. 20^{ème} édition. Collection Sciences et Techniques Agricoles.
36. **Taupin P. et Emery C. 2004.** Principaux ravageurs de la pomme de terre. ARVALIS - Institut du végétal.
37. **Vannetzel E. 2013.** Culture la pomme de terre légumes plein champ. ARVALIS - Institut du végétal. Fiche technique.