



République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
Scientifique



Université de Ghardaïa
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences De la Terre
Département des Sciences Agronomiques

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de master en Sciences
Agronomiques

Spécialité : Protection des Végétaux

Thème

**Identification in vitro des bio-agresseurs végétaux
pathogènes de la pomme de terre dans la région de Ghardaïa**

Réalisé par :

- ❖ GRINE Mohamed
- ❖ KHALIL Ali

Soutenu devant le jury composé de / Evalué par :

Mme BENRIMA Atika	MAA	President	Université de Ghardaïa
M. KHEN Bachir	MCB	Examineur	Université de Ghardaïa
M.SEBIHI Abdelhafidh	MCB	Encadrant	Université de Ghardaïa

Année universitaire : 2023/2024

Remerciement

Tous d'abord, Dieu merci.

De toute évidence, ce travail de recherche n'est pas exclusivement issu

De nos contemplations.

Raison pour laquelle, nous voudrions adresser

Nos plus profonds remerciements à notre promoteur

Le docteur **SEBIHI Abdelhafid** pour tous ses efforts.

Nous tenons aussi à remercier tous les membres du jury, Le docteur

KHEN Bachir et

Le professeur **BEN RIMA Atika**

D'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier aussi tous nos professeurs, pour leur soutien et

Conseils tout le long de notre cursus universitaire.

Nous sommes très reconnaissantes à toutes les personnes qui ont

Contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire par

Leurs aides et leurs encouragements.

Merci à vous tous.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

Les deux êtres les plus chères au monde pour toute leur tendresse et
les sacrifices consentis à mon éducation

Et à ma formation.

Mon père : pour ces encouragements

Ma mère : pour sa patience

A tous mes chers frères

Et ma chérée sœur

Et tout vous amis

A toute la famille **KHALIL**. A tous mes oncles.

A mes chères collègues et amis sans exceptions,

A tous mes ami(e)s de la faculté des sciences de la nature

Et de la vie et de sciences de la terre,

Une spéciale dédicace à :

MOULAY Omar Ali

HADJ AMAR Nadjat

BEN HAMOUDA Hichem

BEN SALEH Bachir

MOULAY ABDALLAH Bachir

BEN KHLIFA Fatima

CHERMAT Lynda

KHALIL Ali

Dédicace

Après avoir remercié Allah et son prophète Mohammed,
Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à :
Les deux personnes, les plus chères à mon cœur que je ne remercierais
jamais assez pour
Toute leur tendresse et les sacrifices consentis à mon éducation et ma
formation, pour leurs
Sacrifices et encouragement : Mon père et Ma mère
A ma grand sœur ma confidente
A mon cher professeur : **SEBIHI Abdelhafidh**
A ma grande famille : **GRINE**
A mes chères amies
A tous ceux qui m'ont encouragé à aller jusqu'au bout de ce travail.

GRINE Mohamed

Liste des tableaux

Tableau	Titre de tableau	Page
1	Données climatiques moyennes de la région de Ghardaïa (2014– 2023) (TUTIEMPO, 2024)	04
2	Taux d'épidémie par les champignons au niveau des organes	27
3	les souches bactériennes	28
4	Résultat dès les tests de confirmation	31

Liste des figures

figure	Titre de figure	page
01	Localisation de la Wilaya de Ghardaïa (gifex.com)	03
02	Diagramme Ombrothermique de Bagnouls & Gausson de la région de Ghardaïa pour une période de dix ans (2014-2023).	05
03	Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le climagramme d'Emberger pour une période de 10 ans (2014– 2023)	06
04	localisation de site d'étude dans la région de Ghardaïa (Google maps)	07
05	méthode d'échantillonnage	09
06	Figure 6 : Répartition des fréquences des espèces fongiques obtenues	26
07	Figure 07: test biochimie pour <i>pseudomonace sp et bacillus sp</i> Sivakumar, J. <i>et al</i> , 2019	31

Liste des photos

photographie	Titre de photo	Page
01	préparation des milieux de culture.	11
02	protocole d'isolement des souches fongiques	12
03	protocole d'isolement des souches bactériennes	14
04	Symptômes des feuilles	18
05	Symptômes des tiges	19
06	Symptômes des tubercules	20
07	aspect macroscopique <i>d'aspergillus niger</i>	21
08	aspect microscopique <i>d'aspergillus niger</i>	22
09	aspect macroscopique du <i>Fusarium solani</i>	23
10	aspect microscopique du <i>Fusarium solani</i>	24
11	aspect macroscopique du <i>Penicillium spp</i>	25
12	aspect microscopique du <i>Fusarium solani</i>	26
13	aspect microscopique des bactéries	29
14	résultats du test d'oxydase	30
15	résultats du test de catalase	30

Liste des abréviations :

PDA : Potato dextrose agar

GN : gélose nutritive

% : Pourcentage

°C : degré Celsius

µm : micromètre

cm : centimètre

H : humidité

H₂O : l'eau

km : kilomètre

km² : kilomètre carré

min : minute

ml : millilitre

mm : millimètre

Nacl : Chlorure de sodium

pH : potentiel hydrogène

T : température

Tableau de matière

Dédicaces	
Remerciement	
Liste des tableaux	
Liste des photos	
Liste des abréviations	
Introduction	
Chapitre 1 : Matériel et Méthodes	
1.1Présentation de la région de Ghardaïa	03
1.1.1 Situation géographique	03
1.1.2 Le climat :	03
1.1.3.1 Diagramme Ombrothermique	04
1.1.3.2 Climagramme d'Emberger :	05
1.2. Site d'étude	06
2. matériel	07
2.2. Matériel végétale	07
Classification botanique de la pomme de terre	07
2.2.1. Matériel de terrain :	07
2.2.2. Matériel utilisé au laboratoire :	08
3. Méthodologie de travail	09
A-Etude bibliographique	09
B-Exploration des connaissances auprès de différents informateurs- clé	09
C-Entretiens auprès des producteurs	09
3.1. Echantillonnage	09
3.1.1Méthode d'échantillonnage	09
3.2. Diagnostique mycologique	10
3.2.1. Préparation de milieu de culture	10
3.2.2. Isolement des agents pathogènes	11
3.2.2.1. Isolement des souches fongiques	11
3.2.2.2. Identification des agents pathogènes :	12

• Identification macroscopique	12
• Identification microscopique	13
3.2.2.3. Isolement des souches bactériennes	13
3.2.2.4. Identification et confirmation bactériennes	15
3.2.2.4.1 La coloration de Gram	15
A. Matériel nécessaire :	15
B. Étapes de la coloration de Gram :	15
3.2.2.5. test d'oxydase	16
3.2.2.6. Test de la catalase :	16
Chapitre II Résultats	
1. Résultats	18
1.1.1. Symptômes sur les feuilles :	18
1.1.2. Symptômes sur les tiges :	18
1.1.3. Symptômes sur les tubercules :	19
1.2. Les champignons :	20
1.2.1. <i>L'aspergillus Niger</i> :	20
1.2.1.1. Écologie d' <i>aspergillus niger</i> :	20
1.2.1.2. Observation macroscopique d' <i>aspergillus niger</i>	20
1.2.1.3. Observation microscopique d' <i>aspergillus Niger</i>	21
1.2.2. <i>Fusarium solani</i>	22
1.2.2.1. Écologie du <i>Fusarium solani</i>	22
1.2.2.2. Observation macroscopique de la <i>Fusarium solani</i>	22
1.2.2.3. Observation microscopique de la <i>Fusarium solani</i>	23
1.2.3. <i>Penicillium spp</i>	24
1.2.3.1. Écologie du <i>Penicillium spp</i>	24

1.2.3.2 Observation macroscopique du <i>Penicillium spp</i>	25
1.2.3.3 Observation microscopique du <i>Penicillium spp</i>	25
1.3. Isolement et identification des bactéries	28
1.3.1. souches bactérienne isolées	28
1.3.2. Test de confirmation :	29
1.3.2.1. Coloration de gram :	29
1.3.2.2. Test d'oxydase :	30
1.3.2.3. Test de la catalase	30
1.3.2.4. Résultat des souches avec les tests de confirmation	30
1.3.3. <i>Pseudomonas sp</i>	31
1.3.3.1. Symptômes du <i>Pseudomonace sp</i>	31
Conclusion	
Références bibliographiques	
Références électroniques	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Introduction

La pomme de terre est une plante herbacée tubéreuse, auparavant elle est considérée comme plante sauvage domestiquée produite par l'espèce *Solanum tuberosum* L. Elle est une plante originaire d'Andes, et essentiellement des chaînes montagneuses de West d'Amérique latine (FAO, 2019).

La pomme de terre est l'une des principales cultures maraîchères en Algérie, elle est cultivée partout en Algérie et le long de l'année (primeur, arrière-saison et saison), dont 25 à 30 % représente la superficie réservée aux maraîchages. En effet, la superficie totale cultivée annuellement par la pomme de terre est de près de 200.000 hectares, les rendements sont en nette amélioration ces dernières années, atteignant, voire dépassant, les 350 quintaux/ha au niveau de certains périmètres dédiés à cette culture [1].

Généralement, Sa production mondiale s'élevait à 368,2 millions de tonnes en 2018 (FAO, 2019). Cependant, la production maraîchère en 2023 a atteint 156 millions de quintaux, dont 42 millions de quintaux de pommes de terre [2].

Avec une consommation moyenne de plus de 110kg/habitant/an, et ses productions énormément importantes. De ce fait, la FAO a classée L'Algérie dans le top 20 des pays producteurs de ce tubercule au monde, ce qui permet à la filière pomme de terre de parvenir à couvrir l'intégralité des besoins exprimés sur le marché local [1].

Les maladies de la pomme de terre constituent une préoccupation majeure pour les producteurs, car elles peuvent entraîner des pertes significatives en termes de rendement et de qualité des tubercules. Parmi les maladies les plus courantes, on retrouve le mildiou (causé par *Phytophthora infestans*), la gale commune causée par (*Streptomyces scabies*), et le nématode doré causé par (*Globodera rostochiensis*). Ces pathogènes peuvent affecter différentes parties de la plante, incluant les feuilles, les tiges et les tubercules, et se propager rapidement dans des conditions favorables telles que l'humidité élevée et les températures modérées (Fry, 2008).

C'est dans ce contexte que la présente étude est proposée, dans l'objectif d'identifier in vitro les bioagresseurs végétaux pathogènes proliférant la pomme de terre dans la région de Ghardaïa.

La question principale de cette étude est :

- Quels sont les principaux champignons et bactéries phytopathogènes menaçant la pomme de terre dans cette région ?

De cette interrogation, deux hypothèses se posent :

1. Les champignons phytopathogènes sont les parasites les plus proliférant au niveau de la pomme de terre.
2. Les bactéries phytopathogènes forment les bioagresseurs végétaux les plus importants.

Ce travail comprend deux grands chapitres, le premier est consacré au matériel et méthodes qui contiennent, la présentation la région d'étude (Ghardaïa), le matériel de terrain, le matériel végétal et matériel de laboratoire et en fin la méthodologie de travail. Le second chapitre est consacré aux présentations et interprétations des résultats obtenus et enfin une conclusion générale et recommandations.

Chapitre *I*

Matériel et méthodes

1.1 présentation de la région de Ghardaïa

Rappelant que l'objectif de la présente étude est d'identifier in vitro les bioagresseurs végétaux pathogènes proliférant la pomme de terre dans la région de Ghardaïa. Par ses potentialités naturelles, elle est située au voisinage des wilayas de grande importance économique.

1.1.1 Situation géographique

La wilaya de Ghardaïa est située au centre de la partie nord du Sahara, à 600 Km de la capitale Alger et elle couvre une superficie de 21 352,58 km². La wilaya de Ghardaïa est limitée :

- au nord, par la wilaya de Laghouat,
- au nord est, par la wilaya de Djelfa ;
- A l'est, par la wilaya d'Ouargla, au
- sud, par la wilaya d'El Menia,
- à l'ouest, par la wilaya d'El Bayadh.

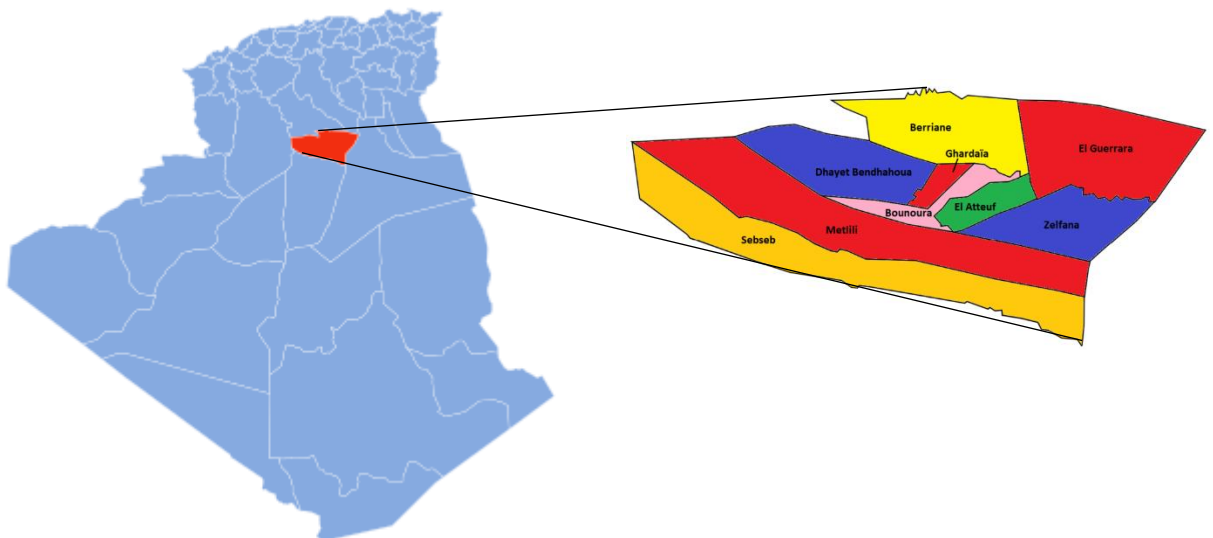


Figure 1 : Localisation de la Wilaya de Ghardaïa (gifex.com)

1.1.2 Climat de Ghardaïa :

L'étude climatique de la région de Ghardaïa est basée sur l'analyse des données climatiques enregistrées entre (2014 - 2023), Ces données sont représentées dans le tableau 1. et en annexe N°1

Tableau1 : Données climatiques moyennes de la région de Ghardaïa (2014– 2023)
(TUTTIEMPO, 2024)

Mois	Température (C°)			H (%)	p (mm)	V. vent (m/s)
	Tmoy	TM	Tm			
Janvier	11,53	17,15	6,022	42,11	1,59	12,13
Février	13,49	19,02	7,97	36,89	3,88	15,08
Mars	17,01	22,66	10,98	31,29	3,52	15,97
Avril	21,94	28,01	15,18	26,64	3,65	16,09
Mai	26,79	32,77	20,01	23,57	3,98	15,83
Juin	32,17	38,51	25,01	18,84	0,71	14,65
Juillet	35,56	41,42	28,4	16,46	0,20	12,2
Aout	34,24	40,22	27,71	20,6	4,08	11,52
septembre	30,08	36,08	23,92	27,5	4,69	11,42
Octobre	23,32	29,11	17,48	34,07	3,88	10,55
Novembre	16,81	22,36	11,41	40,37	3,35	11,6
Décembre	12,8	18,23	7,79	48,04	1,27	11,54
Moyenne mensuelle	22.97	28.79	16.82	30.53	2.90	13.21
Cumul annuel					34.86	

Tmoy. : Température moyenne.

TM. : Température moyenne maximale.

Tm. : Température moyenne minimale.

H. : Humidité relative.

P. : Pluviométrie.

V. vent. : Vitesse de vent.

1.1.3.1 Diagramme Ombrothermique

Le diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussien (1953) Ce sont des graphiques permettant d'évaluer la durée et l'intensité de la saison sèche. La saison sèche est définie lorsque la courbe des précipitations descend en dessous de la température moyenne.

Selon le tableau, qui résume les données de précipitations et de températures mensuelles de la période étalée entre (2014 - 2023), nous pouvons établir la courbe pluviométrique dont le but est de déterminer la période sèche et permet de suivre les variations saisonnières de la réserve hydrique. Il est représenté :

- En abscisse par les mois de l'année.
- En ordonnées par les précipitations en mm et les températures moyennes en °C.
- Une échelle de $P=2T$.
- L'aire comprise entre les deux courbes représente la période sèche.

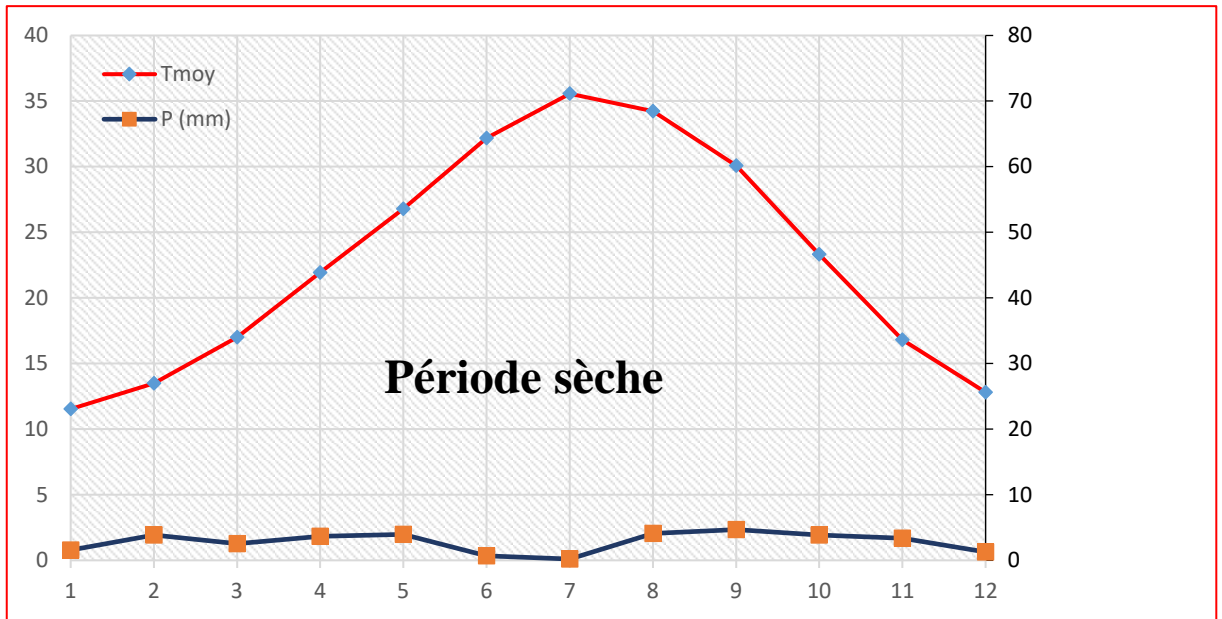


Figure 2 : Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson de la région de Ghardaïa (2014-2023).

L'air compris entre les deux courbes représente la période sèche. Dans la région de Ghardaïa nous remarquons que cette période s'étale sur toute l'année (Fig. 2)

1.1.3.2 Climagramme d'Emberger

Il permet de connaître l'étage bioclimatique de la région d'étude. Il est représenté :

- En abscisse par la moyenne des minima du mois le plus froid.
- En ordonnées par le quotient pluviométrique (Q2) d'Emberger, (1933) Nous avons utilisé la formule de Stewart (1969) adapté pour l'Algérie, qui se présente comme Suit :

$$Q_2 = \frac{3.43 \times P}{(M - m)}$$

Q2 : quotient thermique d'Emberger.

P : pluviométrie annuelle en mm.

M : moyenne des températures maximales du mois le plus chaud en °C.

m : moyenne des températures minimales du mois le plus froid en °C.

D'après la Figure 3, Ghardaïa se situe dans l'étage bioclimatique aride à hiver doux et son quotient thermique (Q2) est de 10,74.

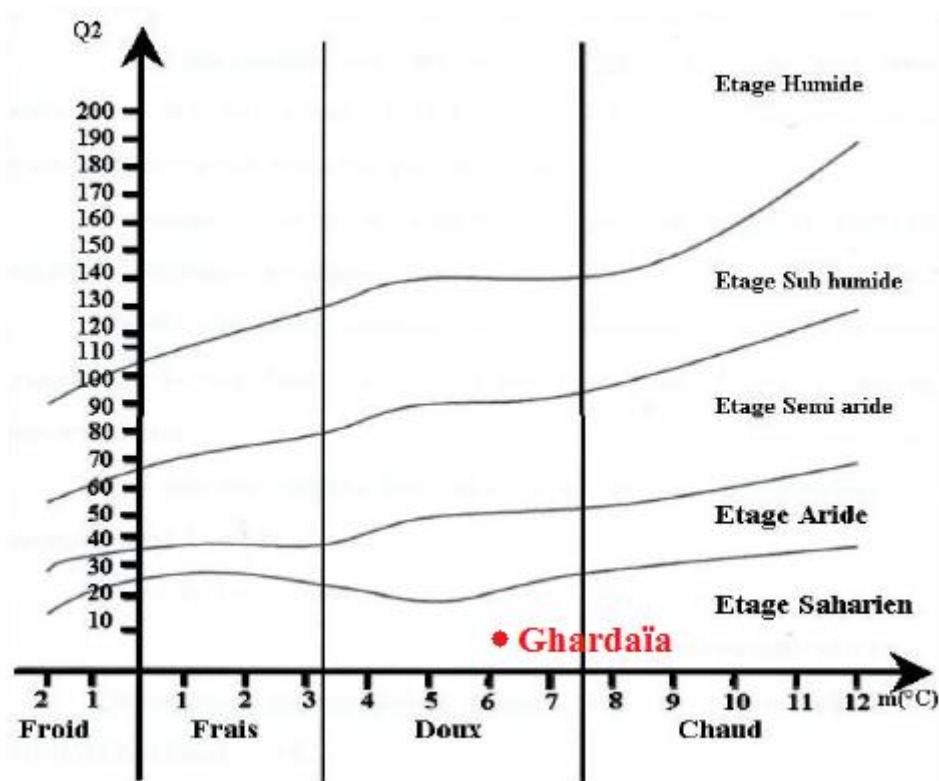


Figure 3 : Etage bioclimatique de Ghardaïa selon le climagramme d’Emberger pour une période de 10 ans (2014– 2023)

1.2. Site d’étude

Le présent travail est réalisé au niveau de l’exploitation de monsieur : Bazin Omar à Ntissa situé à 14km au sud de la wilaya de Ghardaïa. Elle s’étend sur une superficie de 1 Ha. (Figure 4).



Figure 4 : localisation de site d'étude dans la région de Ghardaïa (Google maps).

2. Matériel

2.2. Matériel végétale

Dans ce travail nous avons utilisé des plants contaminés de la pomme de terre entièrement avec les tubercules.

Classification botanique de la pomme de terre

- ✚ Règne : Plantes (règne végétal)
- ✚ Sous-règne : Trachéobiontes (plantes vasculaires)
- ✚ Embranchement : Magnoliophytes (plantes à fleurs)
- ✚ Classe : Magnoliopsides (dicotylédones)
- ✚ Sous-classe : Astéridées
- ✚ Ordre : Solanales
- ✚ Famille : Solanacées
- ✚ Sous-famille : Solanoïdées
- ✚ Genre : Solanum L.
- ✚ Espèce : Solanum tuberosum L [3].

2.2.1. Matériel de terrain

- Séateur ;
- sachets pour collecter les échantillonnages ;
- appareil photo.
- Stylo et marqueur
- Bloc-notes

2.2.2. Matériel utilisé au laboratoire

- Les verreries
- plaque chauffantes
- bec bunsen
- boîtes pétries
- anse
- incubateur
- microscope optique
- Autoclave
- Plaque chauffante
- Milieux de culture (PDA et GN.).

3. Méthodologie de travail

La présente étude est débutée par une collecte des données effectuée en quatre étapes successives suivantes :

3.1- Etude bibliographique

C'est la première étape réalisée, elle a comme objectif d'assembler les informations de notre problématique, concernant la pomme de terre et ses maladies et les principaux agents causals, les procédés de luttés et de traitement des différentes affections. Ainsi que, la collecte des données sur la région d'étude.

Cette étape nous a permis de mettre à profit les éléments d'informations disponibles et nécessaires par l'utilisation et le traitement de la documentation, tel que : les ouvrages, les articles, les études et thèses, les rapports et bilans, les données statistiques et la cartographie, nous ont permis la sélection de certains d'entre eux, comme sources bibliographiques utiles à

notre travail.

3.2- Exploration des connaissances auprès de différents informateurs- clé

Cette étape est effectuée principalement par l'approche des différentes structures technico-administratives de la région, pour assembler le maximum d'informations, deux structures ont été visées par l'enquête, il s'agit de la DSA et de l'INPV de Ghardaïa. Ces deux dernières nous ont permis de s'informer de plus en plus précisément sur les zones de production de la pomme de terre et de ses producteurs.

3.3- Entretiens auprès des producteurs

Ces visites nous ont permis d'avoir une idée générale sur la production de la pomme de terre, les variétés utilisées et leur origine (locales ou importées), les problèmes phytosanitaires rencontrés, les remèdes...etc.).

La quatrième étape est effectuée dans le laboratoire, dans le but d'étudier les principaux bios agresseurs végétaux rencontrés au niveau des échantillons végétaux collectés.

3.1. Echantillonnage

Les échantillons de la pomme de terre utilisée dans cette étude sont ramenés d'une exploitation agricole située dans la localité de Ntissa. L'agriculteur produit la variété (Bartina). Les échantillons collectés sont conservés dans le réfrigérateur du laboratoire, afin de réaliser les analyses in vitro dans un délai de 10 jours.

3.1.1 Méthode d'échantillonnage

L'échantillonnage aléatoire simple est l'outil utilisé dans cette étude, puisque la population étudiée est homogène, chaque individu a une probabilité égale d'être sélectionné et les variations au sein de l'échantillon seront représentatives de la population entière sans besoin de stratification [4]. (Figure 5).

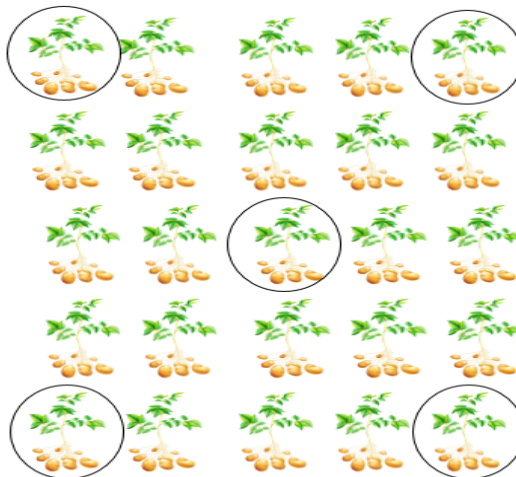


Figure 5 : Méthode d'échantillonnage

3.2. Diagnostic mycologique

Pour identifier la présence des champignons et des bactéries phytopathogènes dans les tissus des différentes parties échantillonnées de la pomme de terre, les principales étapes et techniques de diagnostic mycologique adoptées sont les suivantes :

3.2.1. Préparation de milieu de culture

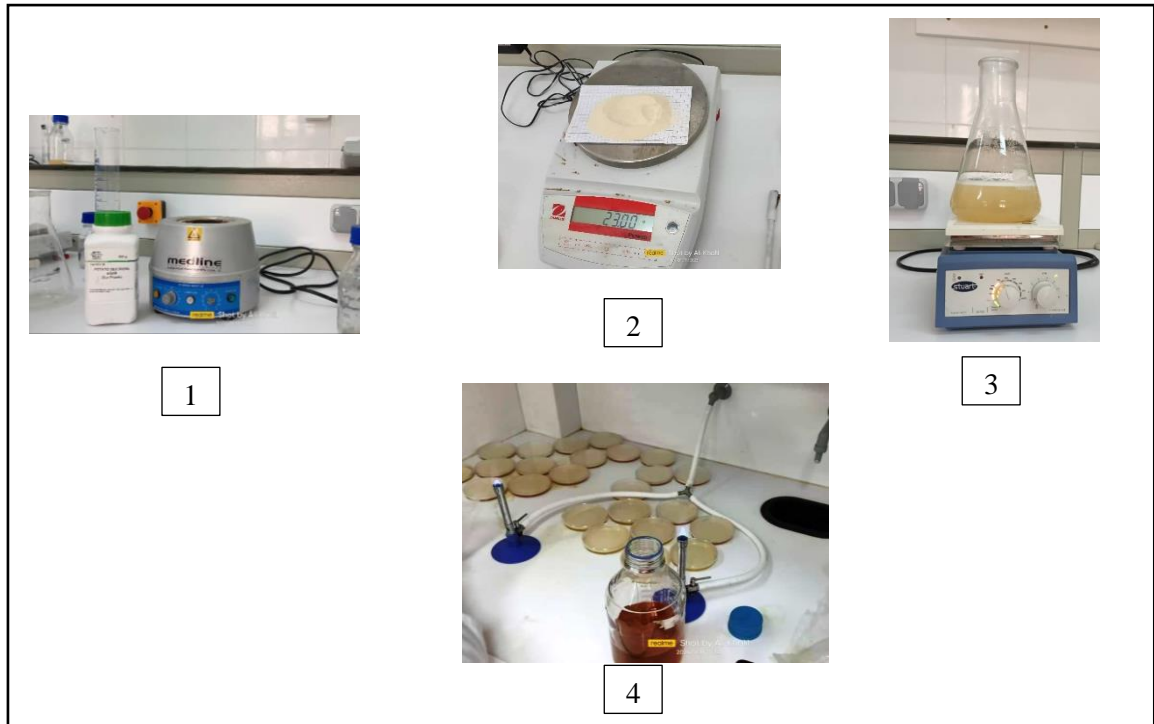
Les milieux de cultures utilisés dans cette étude sont le PDA pour identifier les champignons et GN pour identifier les bactéries.

Pour préparer un litre de milieu de culture PDA, Mettre en suspension 39 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute après répartir en boîtes pétries, en suite autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.

Quant au GN (gélose nutritive), sa préparation consiste à :

- Suspendre 24,0 grammes dans 1 litre d'eau distillée ;
- Chauffer à ébullition pour dissoudre complètement le milieu ;
- Stériliser à l'autoclave à une pression de 15 lb (121 °C) pendant 15 minutes ;
- Après l'autoclavage, laissé refroidir à 45-50 °C ;

- Versez la gélose nutritive dans des boîtes de Pétri (jusqu'à ce que la gélose est solidifiée) (photographie 1).



photographie 1 : préparation des milieux de culture

3.2.2. Isolement des agents pathogènes

Les souches pathogènes à isolé se résument dans les champignons et les bactéries, qui prolifèrent les tissus de notre végétal.

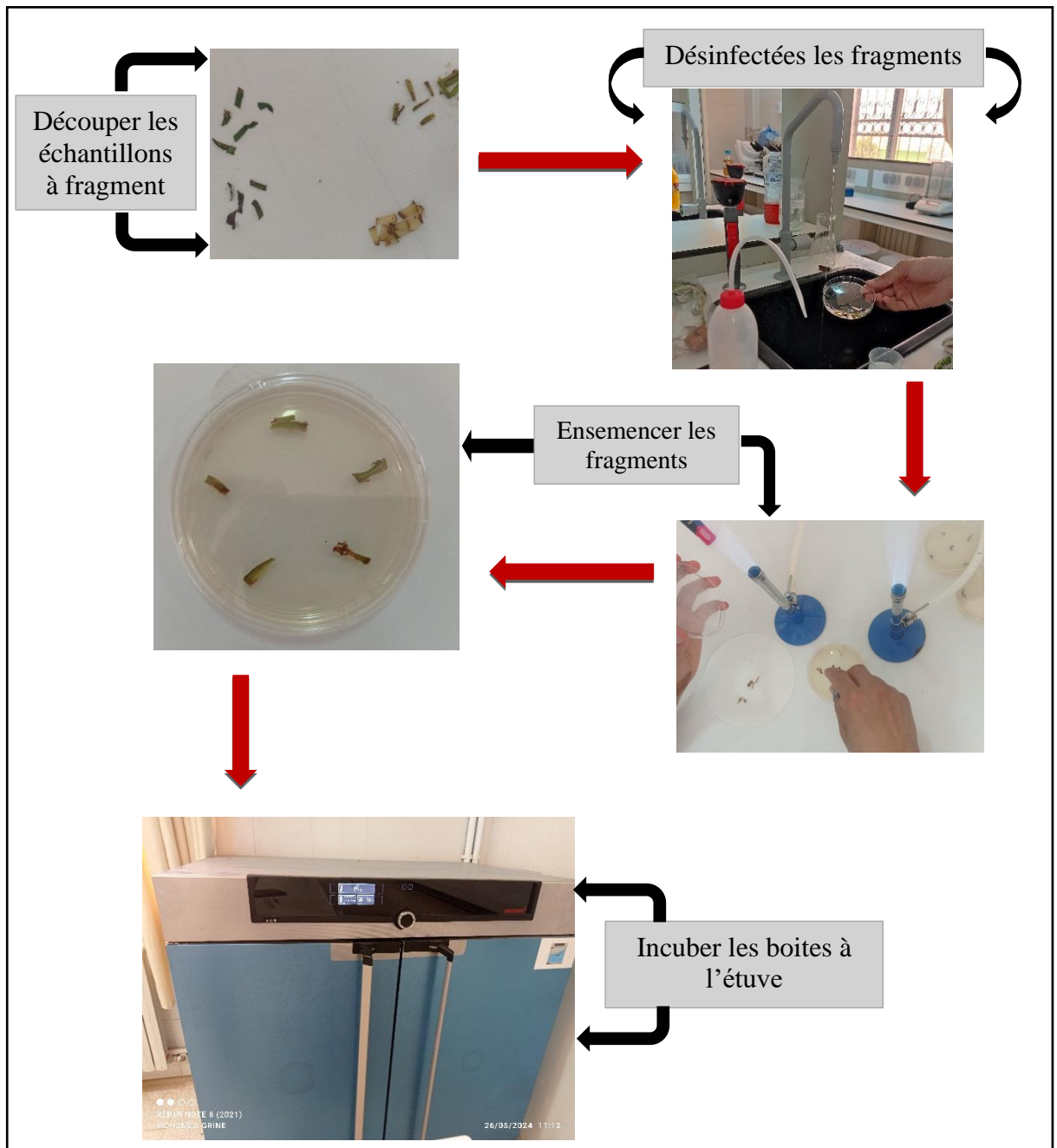
3.2.2.1. Isolement des souches fongiques

Pour isoler la microflore des feuilles et des racines de la pomme de terre nous avons utilisées la méthode de **PACIN et al., 2002** ; **GHIASIAN et al., 2004**, résumée dans les étapes suivantes :

- laver par l'eau de robinet les tubercules, les feuilles et les tiges des échantillons ;
- découper chaque échantillon en fragments de 1cm ;
- Puis désinfecter les fragments dans l'éthanol pendant une minute, ensuite dans l'eau de javel 02% pendant 3min, de plus de l'éthanol (30 sec) ;
- Rincer les fragments à l'eau distillée stérile ;
- Séchées les fragments avec un papier filtre stérile pour être, ensuite,ensemencés ;

- Ensemencer les fragments des tubercules, des feuilles et des tiges désinfectés directement à l'aide d'une pince stérile, dans des boîtes de Pétri à raison de cinq segments par boîte ;
- Incuber les boîtes à l'étuve à 30°C jusqu'à l'apparition des souches fongiques.

La photographie 2 indique ces principales étapes.



Photographie 2 : protocole d'isolement des souches fongiques

3.2.2.2. Identification des agents pathogènes

La reconnaissance des agents phytopathogènes passe par deux méthodes :

A. Identification macroscopique

Selon **BARNETT, H. L et al., (1998) & DE HOOG et al., (2000)**, l'étude macroscopique a été réalisée par l'observation à l'œil nu, les critères suivants :

A.A. Apparence de la Colonies

- **Couleur** : Notez la couleur du dessus et du dessous de la colonie. Les champignons peuvent présenter des couleurs variées (blanc, noir, vert, jaune, rose, etc.).
- **Texture** : Observez si la colonie est cotonneuse, veloutée, granuleuse, poudreuse, lisse, etc.
- **La forme des colonies** : Elles peuvent être circulaires, irrégulières, filamenteuses, etc.
- **Aspect des bords** : peuvent être réguliers, ondulés, dentelés, etc.

A.B. Vitesse de Croissance

Certains champignons croissent rapidement en quelques jours, d'autres plus lentement sur plusieurs semaines.

A.C. Production de Spores

La présence de structures comme les conidies, les sporangiospores, les chlamydospores, etc. bien que la couleur des spores, lorsqu'elles sont produites, peut varier et aider à l'identification.

B. Identification microscopique

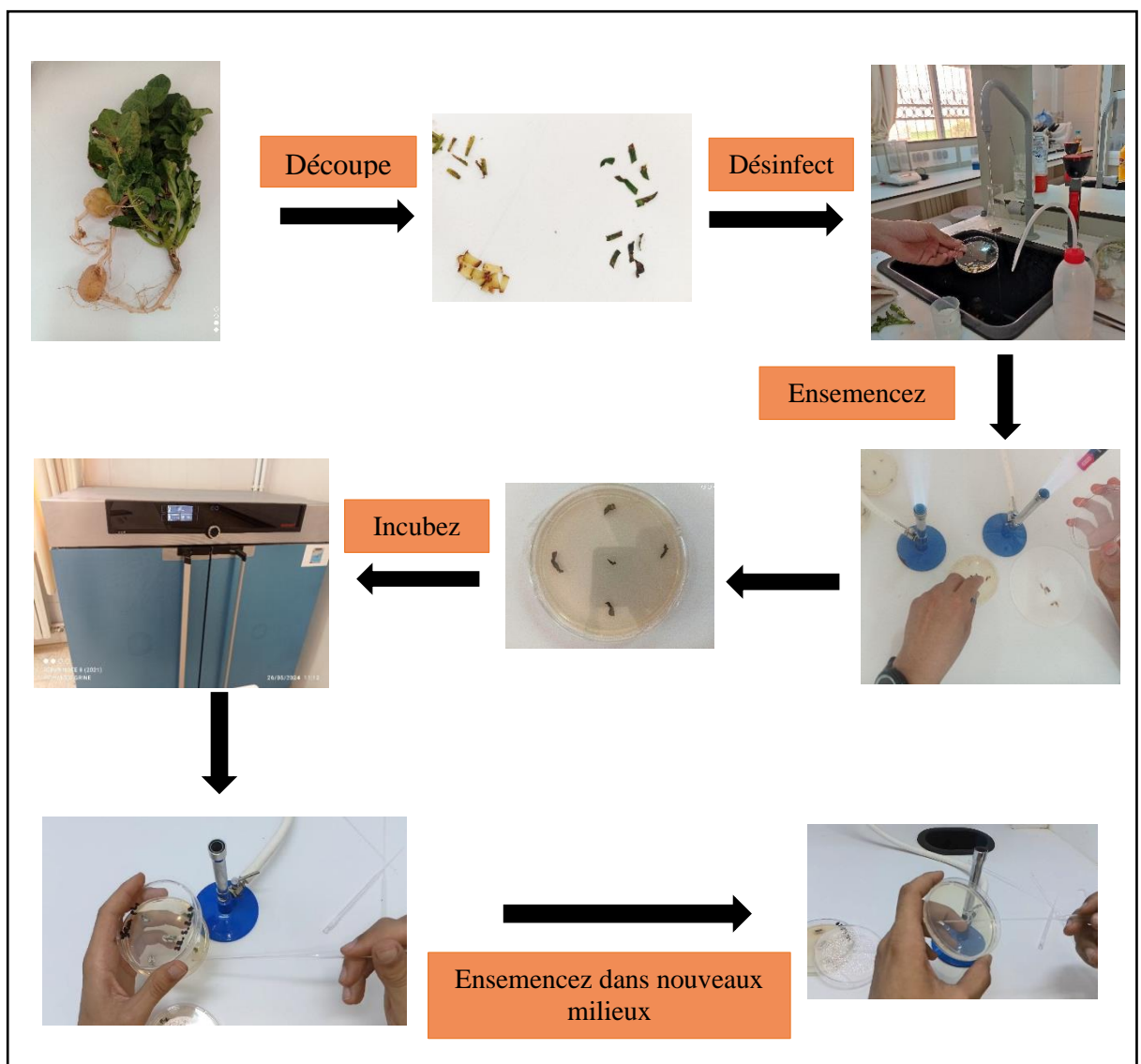
L'identification microscopique des champignons est réalisée par une observation au grossissement (X40 et X100). Elle implique l'examen des caractéristiques microscopiques des spores, des hyphes, des cystites et d'autres structures fongiques.

3.2.2.3. Isolement des souches bactériennes

L'isolement des souches bactériennes phytopathogènes est un processus délicat qui nécessite une méthode précise pour garantir l'obtention de cultures pures. Selon (KHESSIB,2013) les étapes générales pour isoler ces souches sont comme suite :

- Collectez des échantillons de plantes montrant des symptômes ;
- Découpez les tissus malades en petits fragments (1cm) à l'aide d'instruments stériles ;
- Désinfectez les fragments dans l'éthanol à 70% pendant environ 30 secondes, puis rincez-les rapidement avec de l'eau stérile ;
- Écrasez les morceaux de tissus dans une petite quantité d'eau stérile pour libérer les bactéries présentes dans les tissus ;

- Ensemencez ces fragments sur la surface d'un milieu de culture sélectif dans des boîtes de Pétri ;
- Incubez les boîtes de Pétri à une température appropriée pour les bactéries phytopathogènes (généralement entre 25 et 30°C) pendant 24 à 48 heures, voire plus longtemps si nécessaire ;
- Après incubation, observez les boîtes de Pétri pour détecter la croissance de colonies bactériennes. Les colonies suspects, basées sur leur morphologie (forme, couleur, texture), peuvent être sélectionnées ;
- Prélevez des colonies isolées suspectes avec une anse stérile et ensemencez-les sur de nouveaux milieux pour obtenir des cultures pures. (Photographie 3).



Photos 3 : Protocole d'isolement des souches bactériennes.

3.2.2.4. Identification et confirmation bactériennes

Les cultures pures obtenues doivent être identifiées et confirmées comme phytopathogènes. Cela peut impliquer des tests biochimiques, des analyses moléculaires (comme la PCR), ou des tests pathogènes en réinoculant les bactéries sur des plantes saines et observant les symptômes de la maladie.

3.2.2.4.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram est une technique de coloration différentielle utilisée pour identifier et classer les bactéries en fonction de leurs propriétés de paroi cellulaire.

A. Matériel nécessaire

- ❖ Fixateur (généralement de la chaleur) ;
- ❖ Cristal violet (colorant primaire) ;
- ❖ Lugol ou iode de Gram (mordant) ;
- ❖ Alcool ou acétone (décolorant) ;
- ❖ Safranine ou fuchsine (colorant secondaire) ;
- ❖ Lame de microscope ;
- ❖ Lampe à alcool ou bec Bunsen ;
- ❖ Eau distillée ;
- ❖ Microscope.

B. Etapes de la coloration de Gram

1. Prélevez une petite quantité de la culture bactérienne à l'aide d'une anse stérile ;
2. Étalez l'échantillon en couche fine sur une lame de microscope propre ;
3. Laissez sécher à l'air ;
4. Fixez les bactéries à la lame en passant rapidement la lame au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen ou d'une lampe à alcool (3-4 fois) avec le côté contenant l'échantillon vers le haut. Ne surchauffez pas pour éviter de dénaturer les cellules ;
5. Couvrez la préparation avec du cristal violet et laissez agir pendant 1 minute ;
6. Rincez doucement à l'eau distillée ;
7. Appliquez la solution de lugol (iode de Gram) sur la préparation et laissez agir pendant 1 minute. Cela permet de former un complexe cristal violet-iode insoluble dans l'eau.
8. Rincez doucement à l'eau distillée ;
9. Appliquez de l'alcool éthylique ou de l'acétone (le décolorant) pendant environ 10 à 20 secondes. Cela élimine le complexe cristal violet-iode des bactéries Gram-négatives mais pas des Gram-positives ;

10. Rincez immédiatement et abondamment à l'eau distillée pour arrêter l'action du décolorant ;
11. Appliquez la safranine ou la fuchsine sur la préparation et laissez agir pendant 1 minute. Cela colore les bactéries Gram-négatives en rose ou rouge ;
12. Rincez doucement à l'eau distillée ;
13. Tapotez doucement la lame avec du papier buvard pour sécher sans frotter ;
14. Observez la préparation au microscope en utilisant l'objectif à immersion (100x). (**TOR-TORA, et al, 1989**)

3.2.2.5. Test d'oxydase

Selon (**KONEMAN et al, 1997**), le test d'oxydase est une méthode utilisée en microbiologie pour identifier la présence de l'enzyme cytochrome c oxydase chez les bactéries. Cette enzyme joue un rôle crucial dans la chaîne de transport des électrons, une partie de la respiration cellulaire chez certaines bactéries.

Technique

- Sur une lame de verre, déposer un carré de papier filtre et l'imbiber d'une solution fraîchement préparée de réactif.

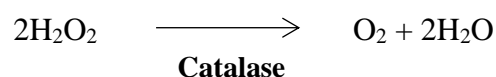
Lecture

Environ 30 secondes après. Nous observons si ceux-ci est établis :

- Tâche rose violette : Oxydase +
- Pas de tâche rose violette : Oxydase –

3.2.2.6. Test de la catalase

Selon (**REINER, 2010**) Ce test a pour but de démontrer si la bactérie produit l'enzyme catalase servant à l'analyse du peroxyde d'hydrogène selon la réaction suivante :



Technique

- Sur une lame une déposer goutte d'eau oxygénée à l'aide d'une pipette Pasteur ;
- Prélever une colonie à l'aide de l'anse ;

- Mètre la colonie dans la goutte.

Lecture

-Bulles d'oxygène : La bactérie possède la catalase, elle est dite Catalase +

Chapitre *II*

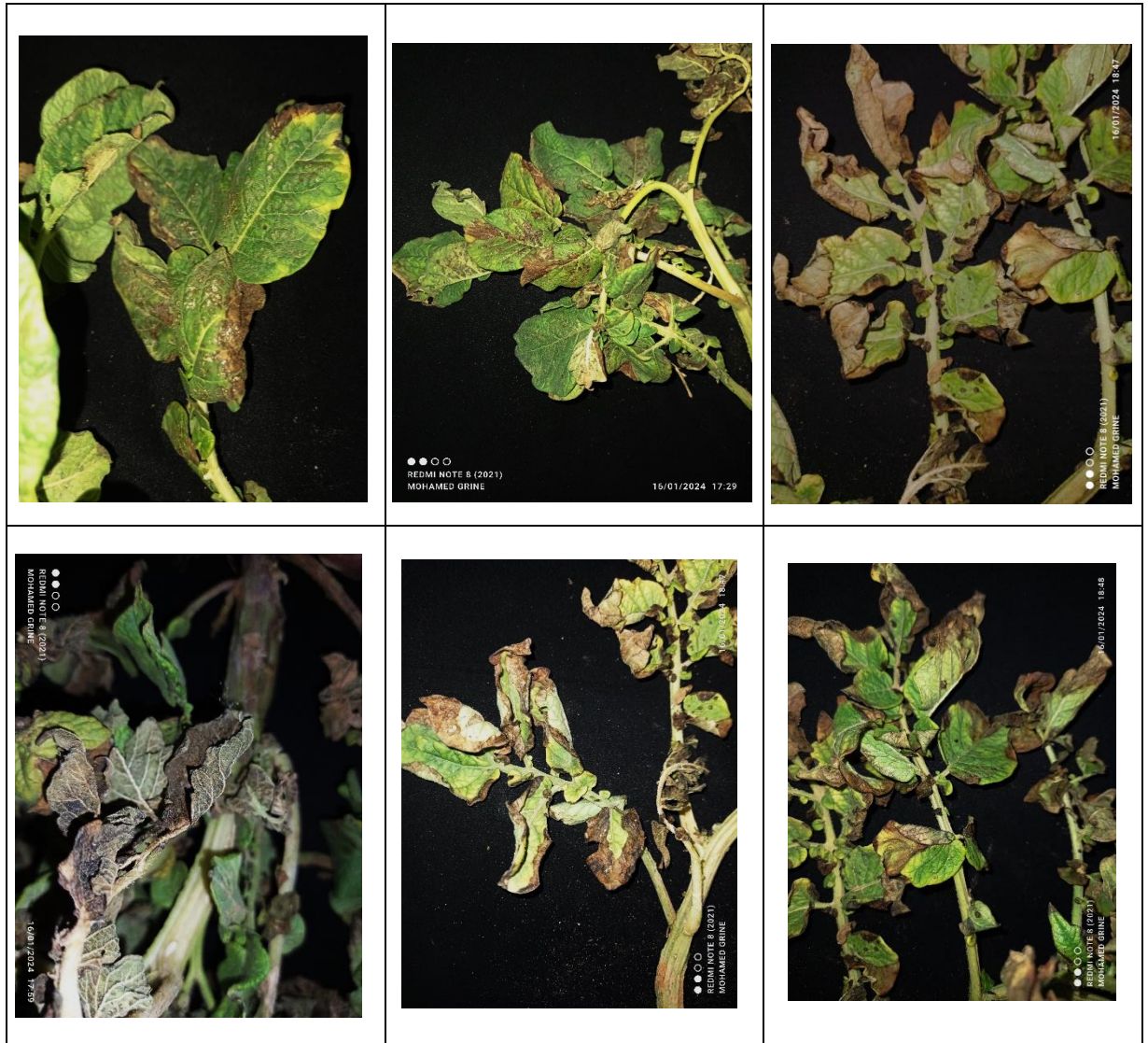
Résultats et discussion

1. Résultats

Dans la zone d'étude nous observons déferant symptômes sur les feuilles, les tiges et les tubercules. La photographie 4 indique les principaux symptômes.

1.1.1. Symptômes sur les feuilles

Taches brunâtres et irrégulières sur les feuilles, ainsi que la décoloration des limbes.



Photographie 4 : Symptômes des feuilles de la pomme de terre.

1.1.2. Symptômes sur les tiges

Flétrissement et décoloration sur la tige et peut montrer des signes de brunissement interne.

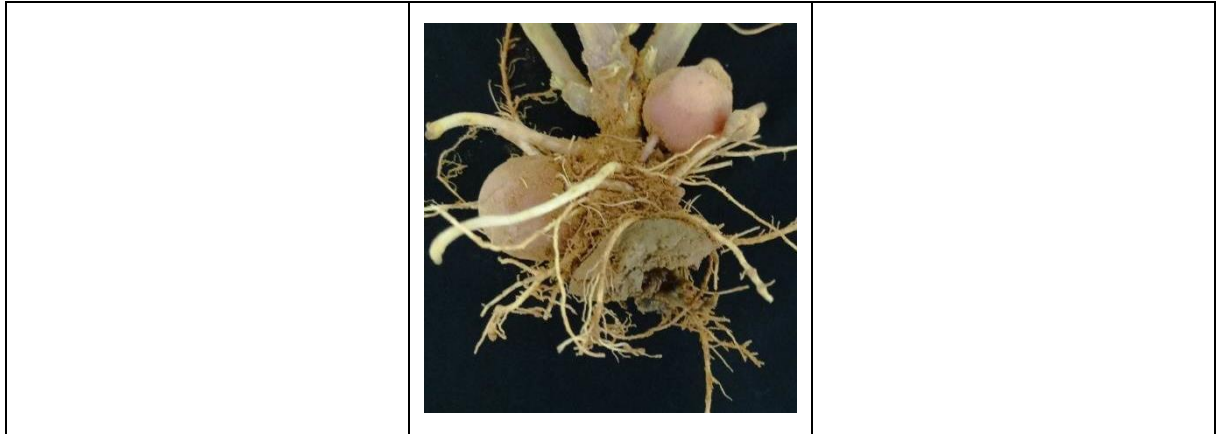


Photo 5 : Symptômes des tiges de la pomme de terre

1.1.3. Symptômes sur les tubercules

Il est constaté ici des pourritures, des nécroses internes et Gales communes sur les tubercules.





Photographie 6 : Symptômes des tubercules de pomme de terre.

1- 1.2. Isolement et Identification des champignons

Le résultat de l'isolement des champignons phytopathogènes des échantillons étudiés a permis d'isoler les champignons pathogènes suivants :

1.2.1. *Aspergillus niger*

Position systématique :

- ✚ **Règne** : Mycètes (Fungi)
- ✚ **Embranchement** : Amastigomycota
- ✚ **Sous-Embranchement** : Deutéromycotina
- ✚ **Classe** : Deutéromycètes
- ✚ **Ordre** : Oniliales (hyphales)
- ✚ **Famille** : Moniliacées
- ✚ **Genre** : *Aspergillus*
- ✚ **Espèce** : *Aspergillus niger* (ALEXOPOULOS, 1979).

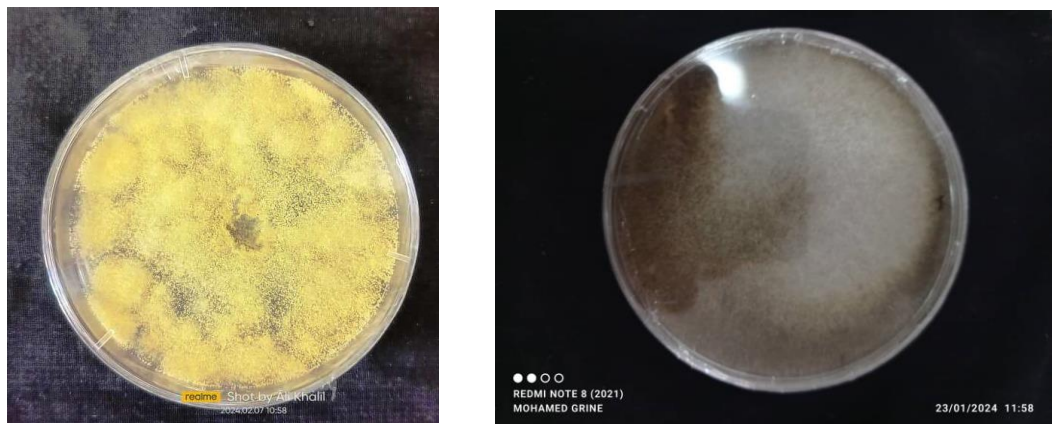
1.2.1.1. Écologie d'*Aspergillus niger*

L'*Aspergillus Niger* est un champignon filamenteux qui pousse sur la matière organique et que l'on retrouve partout. *Aspergillus Niger* est capable de se développer sur une large plage de températures de 6 à 47°C, avec une température optimale relativement élevée de 35 à 37°C, et sur une très large plage de pH : 1,4 à 9,8. Ces capacités, associées à la production d'un grand nombre de conidies distribuées dans l'air, garantissent l'ubiquité de cette espèce, plus fréquente dans les endroits chauds et humides (SCHUSTER *et al.*, 2002).

1.2.1.2. Observation macroscopique d'*Aspergillus niger*

Les colonies d'*Aspergillus Niger* sont d'abord granuleuses blanches, puis jaune clair et deviennent noires (parfois brunes) à maturité. Le revers est généralement incolore ou jaune clair, présentant parfois des cercles concentriques. (BENSMAIL, 2012).

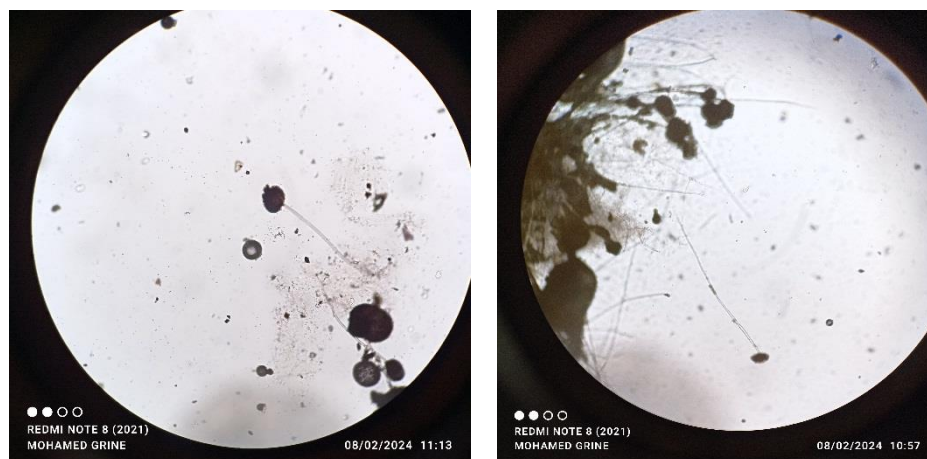
Les colonies sur gélose dextrose de pomme de terre (PDA) à 25°C sont initialement blanches et s'assombrissent rapidement à mesure que les conidies sont produites. La surface inférieure de la colonie est jaune claire et apparaît ridée radialement pendant la croissance (SAMSON et al., 2004). (Photographie.7).



Photographie 7 : Aspect macroscopique d'*aspergillus niger*

1.2.1.3. Observation microscopique d'*Aspergillus Niger*

Les hyphes sont septés de 1,5 à 2 mm de long et transparents, les conidiophores sont brun foncé à noirs, rayonnent lorsqu'ils sont jeunes, et se séparent en colonnes plus ou moins bien définies à maturité, jusqu'à 700 à 800 μm de diamètre. L'aspect de ces conidiophores est lisse ou des fois non lisse composées de cellules courtes appelées podocyte à hyphes fertiles (SAMSON, 2004 et BENSMAIL, 2012). Les conidies sont des spores asexuées unicellulaires, généralement sphériques, parfois légèrement aplaties, de 2 à 3 μm de diamètre parfois jusqu'à 6 μm , de couleur noire ou brun foncé, et décorées d'épines et de saillies (en forme d'épines) ; ils sont souvent disposés en chaînes et dispersés par le vent (ABARCA et al., 2004 ; PASQUALOTTO, 2010). (Photographie. 8).



Photographie 8 : Aspect microscopique d'*aspergillus niger*

1.2.2. *Fusarium solani*

Position systématique du *Fusarium solani* :

- ✚ **Règne** : Fungi
- ✚ **Division** : Ascomycota
- ✚ **Classe** : Sordariomycetes
- ✚ **Ordre** : Hypocreales
- ✚ **Famille** : Nectriaceae
- ✚ **Genre** : *Fusarium*
- ✚ **Espèce** : *Fusarium solani* (LESLIE et al., 2006).

1.2.2.1. Écologie du *Fusarium solani*

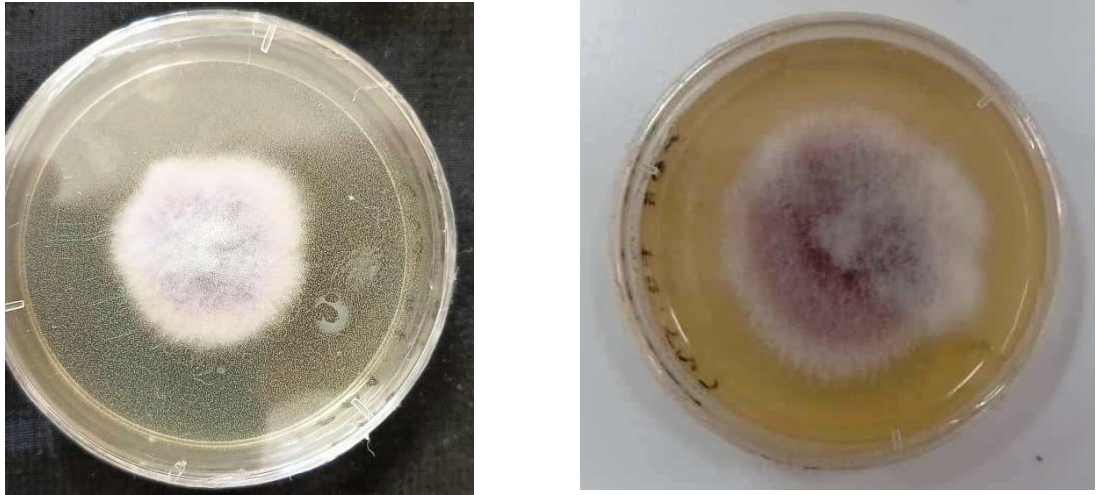
Le *Fusarium solani* se développe généralement dans une plage de température comprise entre 20°C et 30°C. Les températures plus élevées favorisent souvent une croissance plus rapide du champignon. Et prospère dans des conditions d'humidité élevée. Les environnements humides, comme ceux trouvés dans les sols mal drainés ou dans des conditions de forte pluie, sont propices à la croissance. Ce champignon peut se développer dans une large gamme de pH du sol, mais il préfère généralement un pH légèrement acide à neutre (pH 5,0 à 7,0). Les climats chauds et humides sont particulièrement propices à la propagation de *Fusarium solani* (TIVOLI, 1988).

1.2.2.2. Observation macroscopique de *Fusarium solani*

Selon LESLIE et al., (2006), Les colonies de *Fusarium solani* sont typiquement blanches au début, devenant progressivement beige, rose saumoné ou brunâtre en vieillissant. Les colonies peuvent apparaître cotonneuses, veloutées ou laineuses. Le revers de la boîte de

Pétri peut montrer une pigmentation brunâtre ou rougeâtre, parfois accompagnée de zones bleues ou noires, en fonction des conditions de croissance et du substrat utilisé.

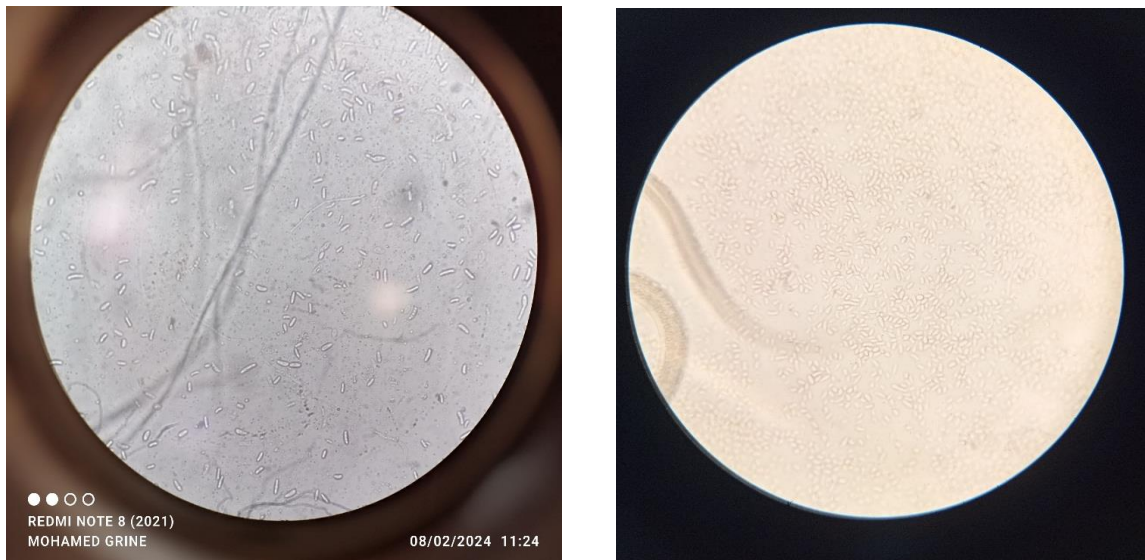
F. solani est généralement un champignon à croissance rapide, couvrant souvent la boîte de Pétri en 5 à 7 jours. Ces colonies peuvent atteindre de 64 mm à 70 mm en sur le milieu PDA à une température optimale de 25-30°C. Les bords des colonies sont souvent irréguliers ou ondulés. (Photographie 9).



Photographie 9 : Aspect macroscopique du *Fusarium solani*

1.2.2.3. Observation microscopique de *Fusarium solani*

Il possède des microconidies, mais ces conidies sont ovales, regroupées en gouttelettes à l'extrémité de microconidiophores élancés, nombreuses et plus grandes (5-6 μm x 2,5-3 μm en plus), dont les macroconidies sont allongées, légèrement courbées et très arrondies (**TI-VOLI, 1988**). Les chlamydospores sont sphériques ou subglobuleuses Leur diamètre est d'environ 7 à 12 μm . Les conidiophores sont simples ou ramifiés, portant des phialides où les conidies se forment. Les hyphes de *Fusarium solani* sont hyalines (translucides) et septées (divisées par des cloisons transversales) (**LESLIE et al., 2006**). (Photographie. 10).



Photographie. 10 : aspect microscopique du *Fusarium solani*

1.2.3 *Penicillium spp*

Position systématique du *Penicillium spp*

- + Règne : Mycetea
- + Division : Amastigomycota
- + Sous-division : Ascomycotina
- + Classe : Ascomycetes
- + Sous-classe : Plectomycetidae
- + Ordre : Eurotiales
- + Famille : Eurotiaceae (*Trichocomaceae*)
- + Genre : *Penicillium*
- + Espèce : *Penicillium spp* [5].

1.2.3.1.Écologie du *Penicillium spp*

Le *Penicillium* est un champignon filamenteux, très généralement retrouvés dans le sol. Les *Penicillium spp*. Peuvent croître dans une large gamme de températures, généralement entre 5 °C et 37 °C, bien que la température optimale varie selon les espèces spécifiques. L'humidité est un facteur crucial pour le développement des *Penicillium spp*. Ces champignons prospèrent dans des environnements humides. La plupart des espèces de *Penicillium* préfèrent un pH légèrement acide à neutre (entre 4 et 7). Cependant, certaines espèces peuvent tolérer des conditions légèrement plus acides ou alcalines (AL-DOORY et al.,1984).

1.2.3.2 Observation macroscopique du *Penicillium spp*

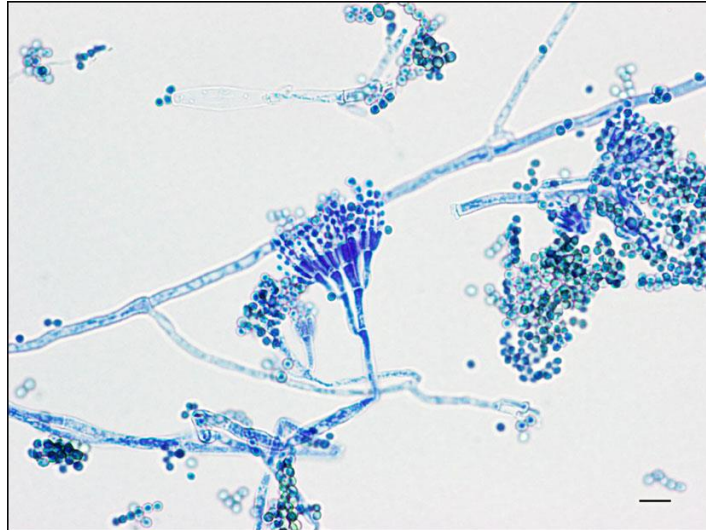
Le *Penicillium* se développe rapidement et facilement sur les milieux couramment utilisés (GN). Ils se développent à des températures modérées autour de 20-27°C. Après 2 jours d'incubation, de petites colonies plates, formées de courts fils aériens et généralement de couleur blanche, sont observées. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation donnera aux colonies une couleur, le plus souvent verte, vert-bleu, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu, mais pour certaines espèces, également jaune, orange, jaune pâle, rose. Ou Rouge (photographie. 11). Cette couleur peut fournir une première orientation dans l'identification des espèces (**CHERMETTE, BUSSIERAS,1993**).



Photographie 11 : Aspect macroscopique du *Penicillium spp*

1.2.3.3. Observation microscopique du *Penicillium spp*

Les hyphes sont septés, possèdent des cloisons transversales (1,5-5 µm de diamètre). Les conidiophores sont des structures spécialisées qui portent les conidies (spores asexuées), ils sont généralement ramifiés. Les conidiophores se terminent en une structure appelée métule, qui supporte les phialides. Les phialides sont des cellules en forme de bouteille qui bourgeonnent à partir des métules. Les phialides sont des cellules en forme de bouteille qui bourgeonnent à partir des métules. Les conidies sont généralement sphériques à ovoïdes et de petite taille (2-5 µm de diamètre). Elles sont produites en chaînes basipètes (chaînes de spores où les plus jeunes se trouvent à la base) (**PATTERSON et al., 2009 ; SAMSON, HOEKSTRA, et al., 2004 et LARONE, 1994**). (Photographie. 12).



Photographie 12 : Aspect microscopique du *Fusarium solani* [5].

Selon les études macroscopique et microscopique, il y'a l'identification de 15 isolats dont les genres sont présentés comme suit.

L'aspergillus Niger 6 souches

Penicillium spp 5 souches

Fusarium solani 4 souches

Où :

15 isolats ----- 100%

Alors que :

15 isolats ----- 100%	} $6 \times 100 \div 15 = 40$	}	15 isolats ----- 100%
6 isolats ----- ?			6 isolats ----- 40%
15 isolats ----- 100%	} $5 \times 100 \div 15 = 33$	}	15 isolats ----- 100%
5 isolats ----- ?			5 isolats ----- 33%
15 isolats ----- 100%	} $4 \times 100 \div 15 = 27$	}	15 isolats ----- 100%
4 isolats ----- ?			4 isolats ----- 27%

L'espèce *Aspergillus niger* présente une fréquence élevée de 40%, suivie par *Penicillium spp* qui présente 33%, enfin le *Fusarium solani* présente avec une fréquence de 27 %.(Figure 6).

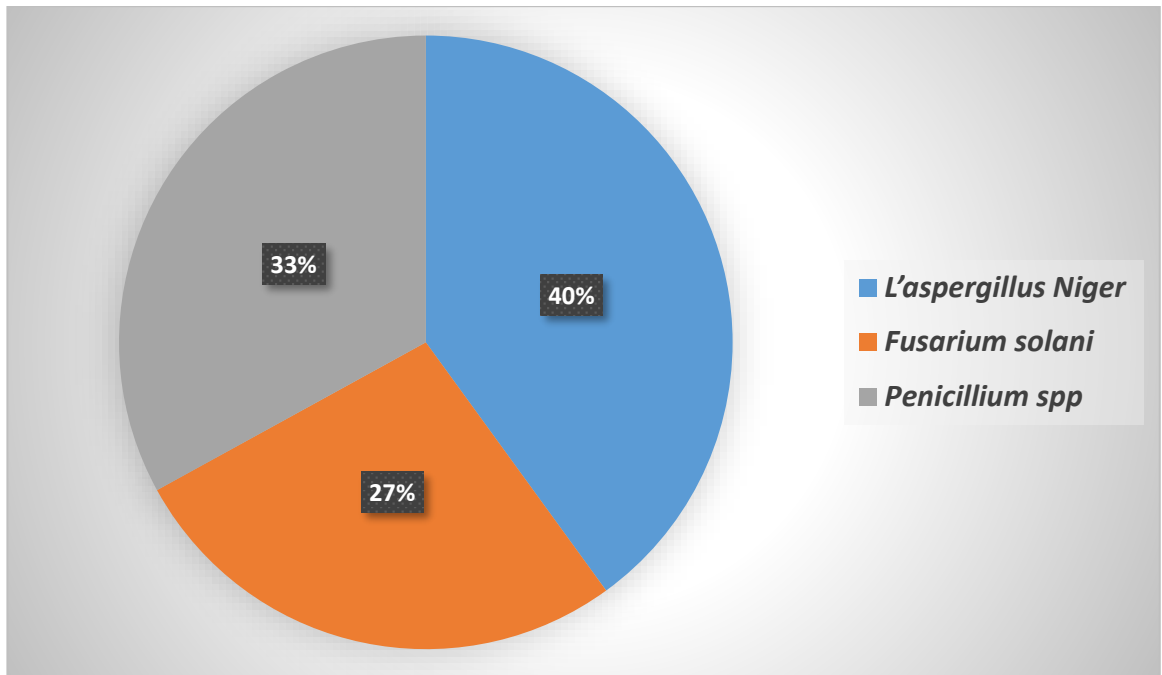


Figure 6 : Répartition des fréquences des espèces fongiques obtenues

Ces fréquences sont répartir selon les parties de la plante comme suit :

Tableau 02 : Taux d'épidémie par les champignons au niveau des parties de la plante.

A partir les 15 isolats :

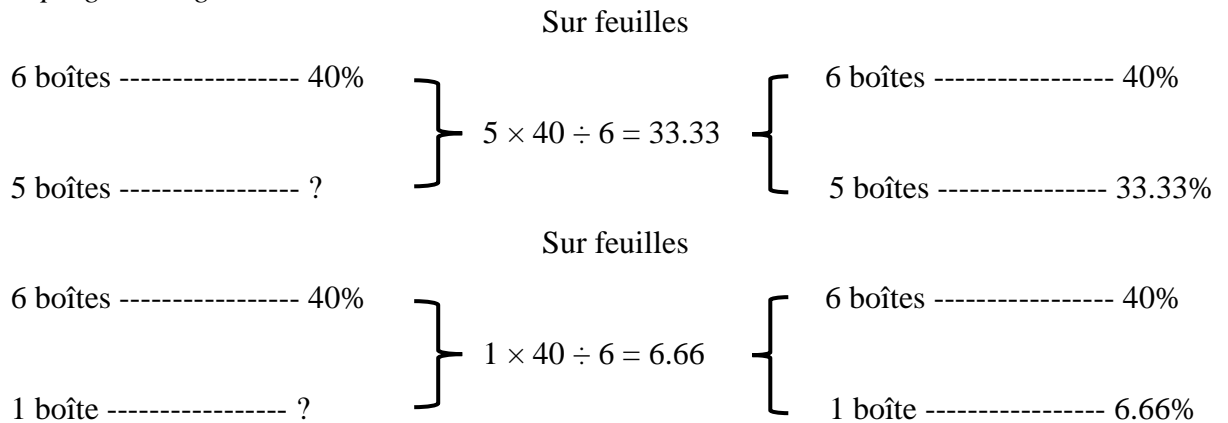
Nous avons constaté que *L'Aspergillus niger* était présent dans 5 boîtes d'échantillons de tiges et une boîte d'échantillons de feuilles. Quant au *Fusarium solani*, il était présent dans les 4 boîtes de tubercules. Quant au *Penicillium spp*, il était présent dans deux boîtes d'échantillons de feuilles et 3 boîtes d'échantillons de tiges.

De la **Figure 6** Après avoir calculé la règle de trois , on obtient les résultats suivants :

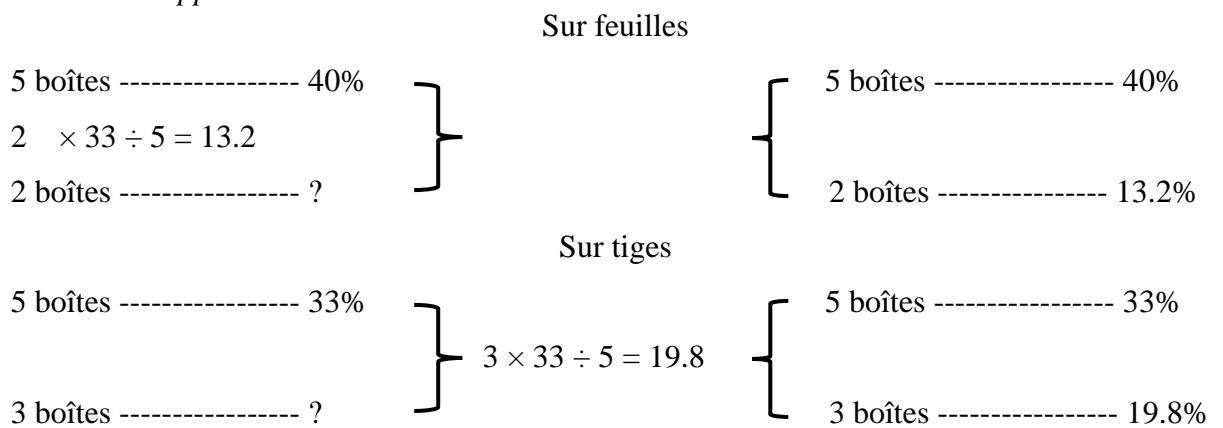
Désignation	Genre	parties touchées		
		Feuille	Tige	Tubercule
La pomme de terre	<i>Aspergillus Niger</i>	6.66%	33.33%	-
	<i>Fusarium solani</i>	-	-	27 %
	<i>Penicillium spp</i>	13.2%	19.8%	-

Les calculs :

Aspergillus Niger :



Penicillium spp :



De ce qui précède, et sur la base des résultats obtenus, nous constatons l'absence des maladies les plus importantes, comme le Mildiou, Alternariose, Rhizoctone brun, Verticilliose..et cela peut être dû aux facteurs environnementaux, qui ne sont pas favorables à leur prolifération, car on sait bien que les champignons préfèrent en plus des températures des humidités élevées, et comme le montre ; le diagramme Ombrothermique, la période sèche est étalée durant toute l'année, ce qui équivaut à l'absence de pluie et entraîne une diminution de l'humidité. *Fusarium solani* peut endommager le pomme de terre. Les symptômes de cette maladie peuvent être observés dès la récolte, mais se manifestent généralement lors du stockage, entraînant la destruction des tubercules. Les espèces de *Fusarium* peuvent se multiplier et persister dans le sol, constituant ainsi le principal réservoir d'inoculum. La température optimale pour l'infection des tubercules est d'environ 15 à 25°C. La fusariose peut provoquer des dégâts très importants si le lieu de stockage est infecté, les symptômes observés sont :

-En surface, les tissus affectés brunissent et s'affaissent (déshydratés) et peuvent même apparaître sous forme de rayures concentriques, parfois décorées de nattes blanches d'hyphes.

- Certaines parties du tubercule présentent une pourriture brune, qui progresse vers l'intérieur, donnant naissance à des cavités internes tapissées de mycélium. Le tubercule sèche progressivement jusqu'à devenir un tubercule « momifié » à texture dure (**GASMI., et al 2014**).

Selon les (photographies. 04, 05) Certaines espèces de *Penicillium sp.* Peuvent également causer des dégâts aux plantes. Certaines espèces de *Penicillium* peuvent infecter les tiges des plantes, provoquant la pourriture. Cela se manifeste souvent par une décoloration brune ou noire des tissus affectés, une texture molle et une odeur désagréable qui se dégage (**AGRIOS, 2005**). Les infections par *Penicillium* sur les parties aériennes des plantes, telles que les feuilles, peuvent interférer avec la photosynthèse en endommageant les tissus foliaires. Les feuilles infectées peuvent présenter des taches, des nécroses, et une décoloration qui réduisent l'efficacité photosynthétique de la plante (**TIEDEMAN, 1989**).


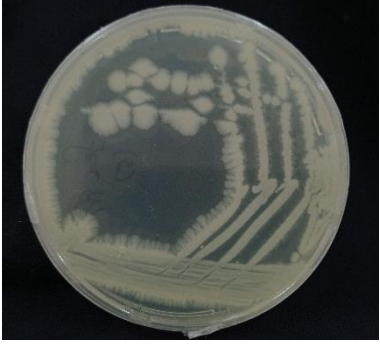




Lorsque l'attaque d'*Aspergillus Niger* est énormément importante sur les feuilles, il peut causer des lésions nécrotiques, c'est-à-dire des zones de tissu mort. Cela se manifeste souvent par des taches noires ou brunes sur les feuilles, résultant de la décomposition des cellules végétales. Les feuilles peuvent perdre leur couleur verte normale et devenir jaunes ou brunes. Cette décoloration est due à la dégradation des pigments chlorophylliens par les enzymes produites par le champignon. Les infections par *Aspergillus Niger* peuvent entraver la photosynthèse, le processus par lequel les plantes convertissent la lumière du soleil en énergie. Les taches nécrotiques et la décoloration réduisent la surface foliaire active, diminuant ainsi la capacité de la plante à produire de l'énergie (**AGRIOS, 2005**).

1.3. Isolement et identification des bactéries

1.3.1. Souches bactériennes isolées

Trois isolats ont été choisis en raison de la similarité entre les isolats, ils sont mentionnés dans le tableau03 :

Tableau 03 : Souches bactériennes isolées

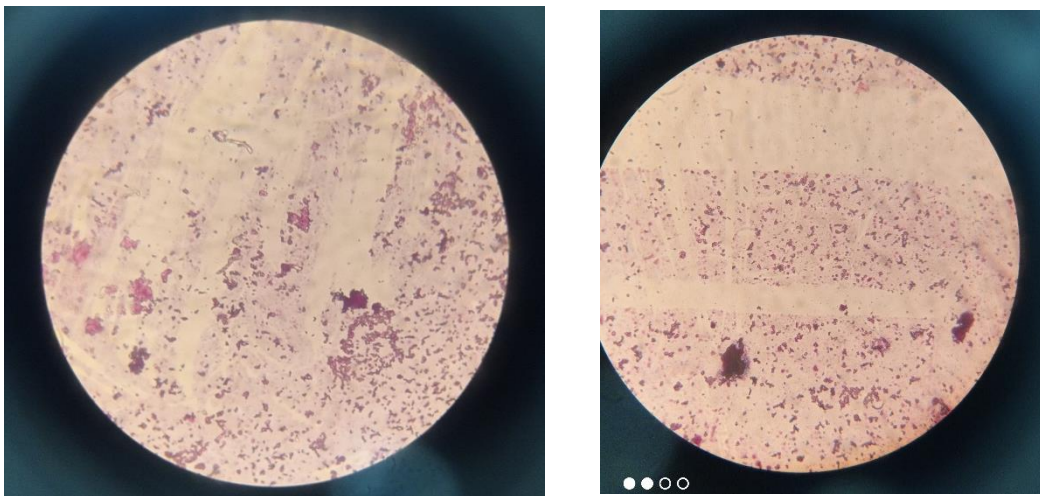
	souche	souche pure
TI PL 1		
TUB PL2		
F PL1		

1.3.2. Test de confirmation

Ces tests se résument en :

1.3.2.1. Coloration de gram

L'observation microscopique des bactéries après coloration de Gram indique les caractéristiques microscopiques suivantes : la forme des bacilles est de couleur rose donc Gram négatif (Gram-). (photographie.13).



Photographie 13 : aspect microscopique des bactéries

1.3.2.2. Test d'oxydase

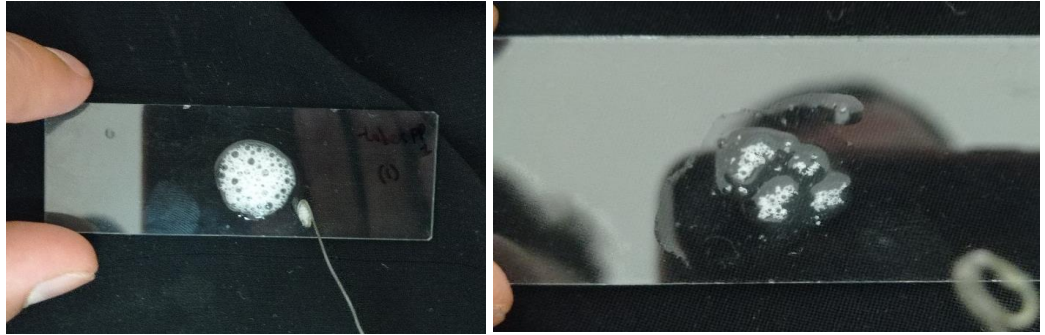
Présence de couleur violet, toutes les souches possèdent l'activité oxydase, elle est dite Oxydase positives. (photographie.14).



Photographie 14 : résultats du test d'oxydase

1.3.2.3. Test de la catalase

Il est constaté la présence des effervescences (bulles d'oxygène) chez toutes les souches, ce qui indique que ces bactéries produisent l'enzyme catalase (Catalase +). (photographie.15).



Photographie 15 : Résultats du test de catalase

1.3.2.4. Résultat des souches avec les tests de confirmation

D'après les tests de confirmation nous obtenus les résultats suivants :

Tableau 04 : Résultat des tests de confirmation.

Souche \ T este	Coloration de Gram	Test d'oxydase	Test de catalase
TI PL 1	-	+	+
TUB PL2	-	+	+
F PL1	-	+	+

Comme nous le notons dans le tableau, tous les résultats sont similaires, tous les souches sont gram négatif et test oxydase et catalase positif

S. No	Test	<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Bacillus sp</i>
1	Mineral salt medium	Light yellow colonies	Creamy colour colonies
2	Gram staining	Gram negative rod	Gram positive rods
3	Motility	Motile	Motile
4	Endospore staining	-	+
5	Catalase	+	-
6	Oxidase	+	-
7	Indole	-	-
8	Methyl red	-	-
9	VogesProskauer	-	-
10	Citrate	+	-
11	Urease	+	-
12	TSI	-	-

Figure 07: test biochimie pour *Pseudomonas sp* et *bacillus sp* (SIVAKUMAR, J.*et al*, 2019)

Sur la base des résultats obtenus dans le tableau 4 et en comparant avec la figure 07, nous pouvons émettre l'hypothèse que la bactérie parasitant la pomme de terre étudiée est *Pseudomonas sp*. Néanmoins cela nécessite une confirmation approfondit par des testes moléculaires.

1.3.3. *Pseudomonas sp*

Pseudomonas est un genre de bactéries appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*. Parmi les espèces de ce genre, *Pseudomonas aeruginosa* est la plus connue et étudiée en raison de son importance environnementale. Genre apparaissent roses lors de la coloration de Gram, donc c'est gram négative. Elles sont en forme de bâtonnets (bacilles). Elles possèdent des flagelles polaires qui leur confèrent une grande mobilité. Elles se trouvent couramment dans des environnements variés tels que le sol, l'eau, les plantes (TORTORA, *et al.*, 2007) Les *Pseudomonas sp*. Sont généralement des bactéries mésophiles, ce qui signifie qu'elles croissent bien à des températures modérées, typiquement entre 25°C et 37°C. Ces bactéries préfèrent des conditions neutres à légèrement alcalines, avec un pH optimal autour de 7 à 7,5. Cependant, elles peuvent tolérer une gamme de pH plus large, de légèrement acide à alcaline. Ils sont souvent trouvés dans des environnements aqueux ou dans des sols humides. Certaines espèces de *Pseudomonas* sont adaptées à des environnements très spécifiques. Par exemple, *Pseudomonas syringae* est un pathogène de plantes et se trouve souvent sur les surfaces des feuilles des plantes. (SILBY, M. W.*et al.*, 2011)

1.3.3.1. Symptômes du *Pseudomenas sp* :

Selon AGRIOS, (2005) et la., MBERS ET AL., (2008), Les symptômes de *pseudomenas* peuvent être variés et dépendent souvent du type de *pseudomenas* en question. En général, une *pseudomenas* est une condition qui limite les symptômes d'une maladie ou d'un stress réel mais qui n'est pas causée par un agent pathogène ou un facteur de stress biologique.

- Décoloration des feuilles
- Chute prématurée des feuilles
- Déformation des feuilles
- Croissance ralentie ou arrêtée
- Flétrissement temporaire
- Taches ou lésions sur les
- Présence de résidus ou de dépôts

Sur la base de ces symptômes mentionnés et des symptômes (**photographies passé**), nous pouvons dire que l'hypothèse mentionnée précédemment est confirmée.

En raison du manque de capacités analytiques, nous n'avons pas pu concrétiser l'hypothèse et atteindre l'espèce.

Conclusion

Conclusion

La région de Ghardaïa est contemplée parmi les régions phoenicoles à hautes potentialités agricoles, en outre, ses activités socioprofessionnelles dépendant directement ou indirectement de l'agriculture.

Les cultures maraichères constituent le fondement des productions agricoles dans cette région. Elles fournissent de grands bénéfices pour la population productrice, soit au niveau du foyer ou au niveau régionale.

L'appréhension primordiale des agriculteurs, sont les pertes des productions causées chaque campagne par les différents ravageurs. Cependant, les cultures maraichères sont la cible d'une diversité des bioagresseurs végétaux. Les champignons microscopiques sont les responsables des mycoses et les bactéries sont à l'origine des bactérioses.

L'étude *in vitro* de quelques bioagresseurs végétaux parasitant la pomme de terre dans la région de Ghardaïa a donné les constatations suivantes ;

Cette étude a pu mettre en exergue la présence de populations diverses de micro-organismes issus des parties végétales étudiés : les feuilles, les tiges et les tubercules de la pomme de terre. Nous avons essayé de vérifier si les symptômes observés sur terrain sont des problèmes biotiques causés par des champignons et des bactéries. Pour ce faire, un protocole biologique *in vitro* est adopté.

L'identification a reposé sur l'isolement des fragments de tubercules, tiges et feuilles infectés cultivés dans des milieux de culture (PDA et GN), suivie d'une purification sur le même milieu et révélant des macros et micros souches. Les populations de champignons identifiées sont : *Aspergillus niger* avec une fréquence de 40%, *Fusarium solani* 33% et *Penicillium sp* avec 27%. Et en ce qui concerne l'importance de prolifération, les feuilles de la pomme de terre sont attaquées beaucoup plus par *Penicillium spp*. Pour les tiges, elles sont parasitées principalement par *Aspergillus Niger* et les tubercules par *Fusarium solan.i*

En termes de bactéries, un plan d'identification classique homologué est suivi. Le type de bactéries responsables des symptômes observés sur les échantillons étudiés est *Bacillus* Gram -) avec Oxydase et catalase positives. Et d'après les résultats obtenus et les symptômes rencontrés *in situ*, ça peut être le genre *Pseudomonas*.

Ceci est insuffisant comme résultat, il sollicite une confirmation par l'accomplissement de tests spécifiques et plus distincts, afin de déterminer les espèces et les pouvoirs de pathogénicité de ces bioagresseurs.

Enfin, ce travail dans la région de Ghardaïa reste insuffisant et mérite d'être parachever en tenant compte des éléments suivants :

- ✓ Lancer plus d'études afin d'inventorier et de connaître les principaux bioagresseurs nuisibles de la pomme de terre, pour tracer des stratégies de préventions et de luttes adéquates contre ces ennemis ;
- ✓ Approfondir les études sur les variétés locales et celles résistantes, pour obtenir une banque de semences et de sujets de multiplication dans cette région potentielle.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- **ABARCA L. M., FRANCESC A., JOSE C., CABAÑES J. F. (2004).** Taxonomy and significance of black aspergilla. Antonie van Leeuwenhoek Kluwer, Academic Publisher.86: 33-49.
- **AGRIOS, G. N. (2005).** Plant pathology 5th Edition. Elsevier Acad. Press, USA, XXV.120-136- 644-64p
- **AL-DOORY, Y AND DOMSON, JF. (1984).** Mould allergy. Lea & Febiger.
- **BARNETT, H. L., & HUNTER, B. B. (1998).** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Edition. APS Press. 1- 25 p
- **BENSMAIL S.(2012).** Optimisation de la production de la protéase acide par *Aspergillus niger* sur milieu solide : purification et caractérisation. Thèse de magistère. Université M'hamed Bougara de Boumerdès.41-46 p.
- **CHERMETTE, R., & BUSSIERAS, J. (1993).** Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- **DE HOOG ET AL. (2000) :** Sections sur les descriptions morphologiques et les tableaux de comparaison 10-50p
- **FAO. 2019.** Base de données statistiques en ligne. In: FAOSTAT [en ligne]. (<http://www.fao.org/faostat/fr/#home>.)
- **FAOSTAT., 2016-** Food and Agriculture Organisation, Annuaire statistique de la FAO.
- **FRY, W. (2008).** Phytophthora infestans: the plant (and R gene) destroyer. *Molecular plant pathology*, 9(3), 385-402.
- **GASMI, D., SOULEM, Z., AOUIMEUR, S., GUEZOUL, O., SEKOUR, M., & ABABSA, L. FUSARIOSES (Fusarium roseum et Fusarium solani) de la pomme de terre.**
- **KHESSIB IMEN, K. H. (2013).** Isolement et identification classique des bacteries phytopathogènes. P18-21
- **KONEMAN, E. W., ALLEN, S. D., JANDA, W. M., SCHRECKENBERGER, P. C., & WINN, W. C. (1997).** Diagnostic microbiology. *The nonfermentative gram-negative bacilli. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers*, 253-320.
- **LAMBERS, H., CHAPIN, F. S., & PONS, T. L. (2008).** *Plant physiological ecology* (Vol. 2, No. 1, pp. 11-99). New York: Springer.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- **LARONE, D. H. (1994).** Medically important fungi. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 36, 432-432.
- **LEPOIVRE, P. (2003).** *Phytopathologie: bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte*. De Boeck Supérieur.
- **LESLIE, J. F., & SUMMERELL, B. A. (2006).** *The Fusarium Laboratory Manual*. Wiley-Blackwell. 1-10 - 41- 47 p
- **PACIN A.M., GONZALEZ H.H.L., ETCHEVERRY M., RESNIK S.L., VIVAS L., ESPIN S.(2002).** Fungi associated with food and fed commodities from Ecuador. *Mycopathologia* 156: 87– 92.
- **PASQUALOTTO A. C. (2010).** *Aspergillosis: from diagnosis to prevention*. Edition Springer Science & Business Media, New York . 1027p.
- **PATTERSON, T. F., & MCGINNIS, M. R. (2009).** The fungi: description. Site Doctor Fungus. Mycoses Study Group, 100, 205-226.
- **RAPILLY F. (1968).** *Les techniques de mycologie en pathologie végétale*. Edition : INRA. Paris.108p
- **REINER, K. (2010).** Catalase test protocol. *American society for microbiology*, 1(1), 1-9.
- **SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., & FRISVAD, J. C. (2004).** Introduction to food-and airborne fungi (No. Ed. 7). Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).389
- **SAMSON, R.A., HOEKSTRA, E.S., FRISVAD, J.C. (2004).** Introduction to food-and airborne fungi Septième édition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 389 p.
- **SIVAKUMAR, J., SUNDARAM, C. S., KRISHNASAMY, L., & RAO, U. S. (2019).** Relative Bioremediation of Used engine oil Contaminated soil from an Industrialised area by Various microbes. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(1), 331-338.
- **SILBY, M. W., WINSTANLEY, C., GODFREY, S. A., LEVY, S. B., & JACKSON, R. W. (2011).** *Pseudomonas genomes: diverse and adaptable*. *FEMS Microbiology Reviews*, 35(4), 652-680.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- **TIEDEMAN, A. V. (1989).** Plant Pathology: An Advanced Treatise, The Diseases of Plants. Academic Press. 309-3010 p
- **TIVOLI, B. (1988).** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de Fusarium rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. Agronomie, 8(3), 211-222.
- **TORTORA, G. J., FUNKE, B. R., & CASE, C. L. (1989).** Microbiology. Benjamin-Cummings Publishing Company. 55-60 p

Références électroniques

- <https://ecotimesdz.com/economie-finances/agriculture/pomme-de-terre-l-algerie-au-top-20-des-pays-producteurs-au-monde/> [1].
- <https://www.agrialgerie.com/performances-agricoles-2022-2023/> [2].
- <https://inspection.canada.ca/fr/varietes-vegetales/vegetaux-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-biologie/solanum-tuberosum> [3].
- https://www.ippc.int/static/media/files/publication/fr/2016/01/ISPM_31_2008_Fr_2016-01-12_PostCPM10_InkAmdReformatted.pdf [4].
- <https://www.inspq.qc.ca/moisissures/fiches/penicillium-spp> [5].

ANNEXES

Annexe 1

Données climatiques moyennes de la région de Ghardaïa (2014– 2023) (TUTTIEMPO, 2024)

Mois	Température (C°)			H (%)	p (mm)	V. vent (m/s)
	Tmoy	TM	Tm			
Janvier	11,53	17,15	6,022	42,11	1,59	12,13
Février	13,49	19,02	7,97	36,89	3,88	15,08
Mars	17,01	22,66	10,98	31,29	3,52	15,97
Avril	21,94	28,01	15,18	26,64	3,65	16,09
Mai	26,79	32,77	20,01	23,57	3,98	15,83
Juin	32,17	38,51	25,01	18,84	0,71	14,65
Juillet	35,56	41,42	28,4	16,46	0,20	12,2
Aout	34,24	40,22	27,71	20,6	4,08	11,52
septembre	30,08	36,08	23,92	27,5	4,69	11,42
Octobre	23,32	29,11	17,48	34,07	3,88	10,55
Novembre	16,81	22,36	11,41	40,37	3,35	11,6
Décembre	12,8	18,23	7,79	48,04	1,27	11,54
Moyenne mensuelle	22.97	28.79	16.82	30.53	2.90	13.21
Cumul annuel					34.86	

Annexe 2



Milieux de PDA et GN

Milieux de PDA et GN
Liquide

Milieux de PDA et GN prêt

Préparation de milieux PDA et GN

Annexe 3



Symptômes sur les feuilles

Annexe 4



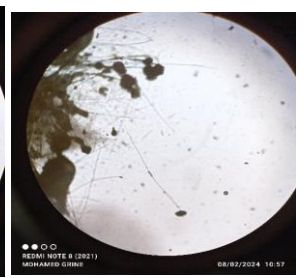
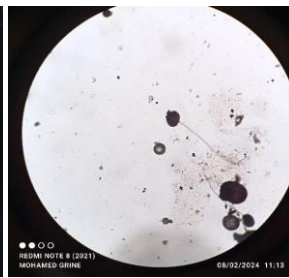
Symptômes sur les tubercules

Annexe 05



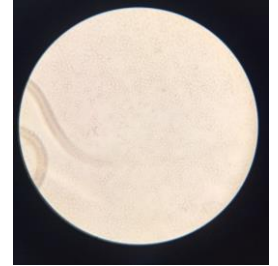
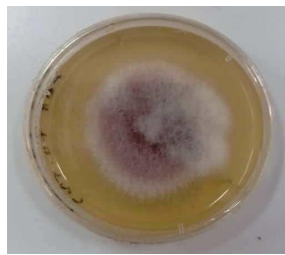
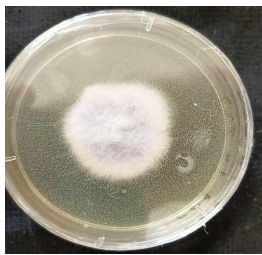
Symptômes sur les tiges

Annexe 06



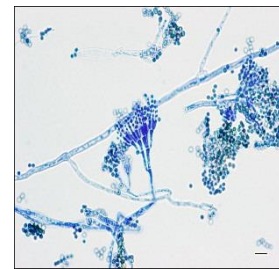
Aspect macroscopique d'*Aspergillus niger*

Aspect microscopique d'*Aspergillus niger*



Aspect macroscopique du *Fusarium solani*

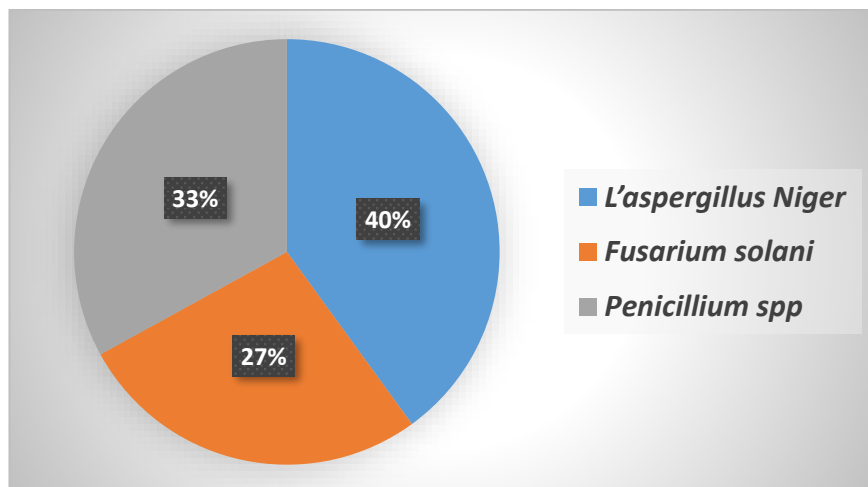
Aspect microscopique du *Fusarium solani*



Aspect macroscopique du *penicillium spp*

Aspect microscopique du *penicillium spp*


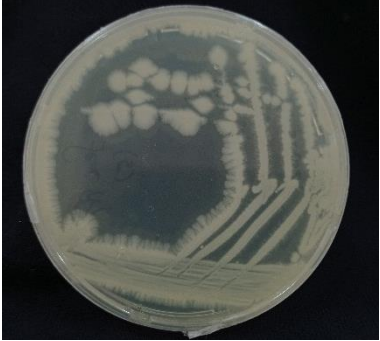




Annexe 07



Répartition des fréquences des espèces fongiques obtenues

Annexe 08

Souches bactériennes isolées

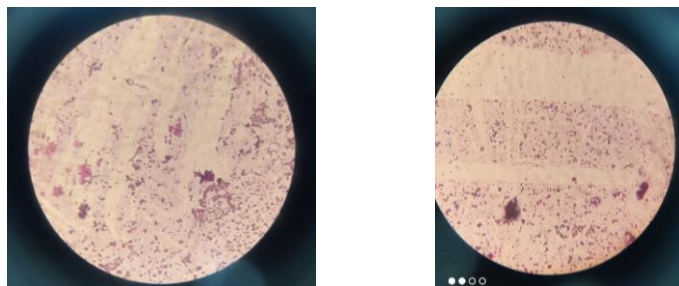
	souche	souche pure
TI PL 1		
TUB PL2		
F PL1		

Annexe 09

Taux d'épidémie par les champignons au niveau des organes

Désignation	Genre	parties touchées		
		Feuille	Tige	Tubercule
La pomme de terre	<i>Aspergillus Niger</i>	6.66%	33.33%	-
	<i>Fusarium solani</i>	-	-	27 %
	<i>Penicillium spp</i>	13.2%	19.8%	-

Annexe 10



L'observation microscopique des bactéries après coloration de Gram

Annexe 11



Résultats du test d'oxydase

Annexe 12



Résultats du test ca

Résumé

Résumé

Identification in vitro des bio-agresseurs végétaux pathogènes de la pomme de terre dans la région de Ghardaïa.

Le présent travail est une contribution à l'étude des bioagresseurs végétaux pathogènes de la pomme de terre dans la région de Ghardaïa. L'objectif principal de cette étude est de détecter in vitro les différents champignons et bactéries phytopathogènes proliférant cette culture stratégique. Les prospections de terrain et les analyses macro et microscopiques au laboratoire des échantillons des feuilles, des tiges et des tubercules ont montré que les populations de champignons identifiées sont : *Aspergillus niger* avec une fréquence de 40%, *Fusarium solani* 33% et *Penicillium sp* avec 27%. Les feuilles sont attaquées abondamment par *Penicillium spp.* les tiges sont parasitées principalement par *Aspergillus Niger* et les tubercules *Fusarium solan.*

En termes de bactéries, celle qui est responsable des symptômes observés est de type *Bacillus* (Gram -) avec Oxydase et catalase positives. Et d'après les résultats obtenus et les symptômes rencontrés in situ, ça peut être le genre *Pseudomonas*.

Mot clés : Pomme de terre, bioagresseurs végétaux pathogènes, Identification in vitro, Ghardaïa,

ملخص

التحديد المختبري لآفات البطاطس المسببة للأمراض النباتية في منطقة غرداية.

يعد هذا العمل بمثابة مساهمة في دراسة آفات البطاطس المسببة للأمراض النباتية في منطقة غرداية. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو الكشف في المختبر عن الفطريات والبكتيريا المسببة للأمراض النباتية المختلفة التي تنتشر هذه الثقافة الإستراتيجية. أظهرت المسوحات الحقلية والتحليل الكلية والمجهري في المختبر لعينات الأوراق والسيقان والدرنات أن تجمعات الفطريات التي تم تحديدها هي: *Aspergillus niger* بنسبة تواتر 40%، *Fusarium solani* بنسبة 33%، *Penicillium spp* بنسبة 27%. تتعرض الأوراق للهجوم بكثرة بواسطة *Penicillium spp*. يتم تطفل السيقان بشكل رئيسي بواسطة *Aspergillus Niger* والدرنات بواسطة *Fusarium solan.i*.

ومن حيث البكتيريا، فإن المسؤول عن الأعراض التي لوحظت هو البكتيريا العصوية (جرام -) الموجبة لإنزيم الأكسيداز والكاتلاز. وبحسب النتائج التي تم الحصول عليها والأعراض التي تمت مواجهتها في الموقع، فقد يكون من جنس *Pseudomonas*.
الكلمات المفتاحية: البطاطس، الكائنات المسببة للأمراض النباتية، التحديد المختبري، غرداية،

Abstract

Identification in vitro of plant pathogenic potato pests in the Ghardaïa region.

The present work is a contribution to the study of plant pathogenic potato pests in the Ghardaïa region. The main objective of this study is to detect in vitro the different phytopathogenic fungi and bacteria proliferating this strategic culture. Field surveys and macro and microscopic analyzes in the laboratory of samples of leaves, stems and tubers showed that the populations of fungi identified are : *Aspergillus niger* with a frequency of 40%, *Fusarium solani* 33% and *Penicillium sp* with 27 %. The leaves are attacked abundantly by *Penicillium spp.* The stems are parasitized mainly by *Aspergillus Niger* and the tubers by *Fusarium solan.i*

In terms of bacteria, the one responsible for the symptoms observed is *Bacillus* (Gram -) type with Oxidase and catalase positive. And according to the results obtained and the symptoms encountered in situ, it may be the *Pseudomonas* genus.

Keywords : Potato, pathogenic plant bioaggressors, In vitro identification, Ghardaïa,