

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et la Recherche Scientifique

M/p.G.A. 10/12

UNIVERSITE DE JIJEL

جامعة جيجل

Faculté des sciences exacte et des sciences de la nature et la vie كلية العلوم الدقيقة و علوم الطبيعة و الحياة

Département de Biologie Animale et Végétale قسم البيولوجيا الحيوانية و النباتية



01  
01

Mémoire de fin d'étude

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Option : Phytopharmacie et Gestion des Agrosystèmes

Thème

Recherche d'organismes pour la lutte biologique  
contre *Phytophthora capsici* : cas du poivron  
dans la région de Jijel

**Jury:**

Président : M<sup>r</sup> Kisserli O.

Examineur : M<sup>r</sup> Azil A.

Encadreur : M<sup>r</sup> Benabdelkader M.



Présentée par :

Hamadi Sana.

Touafek Samiha.

Sessions : Septembre 2012

Numéro d'ordre : 2011/ 2012





# Remerciement

*Tout d'abord, nous remercions **dieu** tout puissant de nous donner la santé, la volonté, et la force pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre remerciement et notre respect à notre*

*encadreur : M<sup>e</sup> Benabdelkader. M pour sa bonne direction et à notre président: M<sup>e</sup> Kisserli.O et l'examineur: M<sup>e</sup> Azil .A A tout enseignement qui ont été un bon bénéfice durant notre étude ainsi que nos parents qui sont très chers, tous nos amis et tous ceux qui nous ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces long années.*

*Merci à tous*

*Sana et Samiha*



# اهداء

إلى من شاء القدر وفرقتنا الدروب ولكن مروحة الطاهرة ظلت في القلوب، إلى من فرقنا

عنه الحياة وأبعدتنا عنه المسافات ولا تسطيع وصف شوقي الكلمات

\*\* أبي العزيز رحمه الله تعالى \*\*

إلى من فتحت عينيا للدنيا عليها، إلى من رأيت النور بعينها، إلى من مسكت يدي

وعلمتني ان الحياة مغامرة، إلى منج كل الحنان والحب

\*\* امي الحسنة حفظك الله لنا \*\*

إلى من بث فيا الامل وفتح في روحي حب العمل، إلى الذي أتعبه ولم يمل، إلى الذي

دعمني ماديا ومعنويا، إلى الذي مسح علي رأسي بكل حنان أصفي قلب

\*\* أخي الغالي محمد السعيد \*\*

إلى الذي قاسمت معه حلو الحياة ومرها وشاركتني الحزن والفرح، إلى الذي وقف دائما

بخاني \*\* أخي الغالي سفيان \*\*

إلى الأرواح التي فارقتنا وللأبد: "جدي السعيد، جدتي حمامة، جدتي الزهرة"

إلى زوجة أخي \*\* سعيدة \*\*

إلى طير جنتنا وبلسم أفرحنا وغيير أفرحنا ابن أخي الكوكوت

\*\* عبد الرؤوف \*\*

إلى الذي كان سندنا لنا عمي \*\* عبد المجيد \*\* و إلى عائلته الكريمة

إلى كل عماتي وخالاتي، إلى كل الفروع والجذور والثمار في قرية عائلتنا.

إلى من شاركتني الحزن والفرح ووقفن دائما بخاني، إلى أعز الصديقات

"حسيمة، مزينة، ليلى"

إلى التي كانت في قلبي غالية وفي عيني عالية، إلى التي شاركتني

هذا العمل وهي راضية صديقتي \*\* سناء \*\*

إلى من جمعني لهم القدر وسطر حمار: الحياة، فاطمة، مريم، سهام، سميرة

مروخية، سليمة، مروخية.....

إلى كل الذين في قلبي ولم يدوهم قلبي، إلى هؤلاء جميعا أهدي ثمرة عملي.

# إهداء

إلى الذي رسم الدهس علي جبينه، خطوطا و علي يده خيوط إلى الذي

يشقي لأسعد والذي ينعب لأمرقد إليك

\*\*أبي الغالي حفظك الله لنا\*\*

إلى من فطحت عينيا للدنيا عليها، إلى من رأيت النور بعينها، إلى من مسكت يدي

وعلمتني ان الحياة مغامرة، إلى منج كل الحنان والحب

\*\*أمي الحبيبة حفظك الله لنا\*\*

إلى التي قاممتي حلو الحياة و مرها، إلى الزهرة التي زنت حياتي أختي \*\*غنية\*\*

إلى الذين قاممت معهم مرغيف الخبز و ذفى الشاء، إلى الذين وقفوا دائما

بخاني يدوني بعطائهم الفياض إخواني

\*\*زين الدين، هارون، مرووف، أحمد، سيف الدين، عبد النور، أيوب\*\*

إلى الامرواح التي فارقتنا و للأبد: جدي وجدتي

إلى جدتي شرفته و كل أعمامي و عمتي و أخوالي و خالاتي، إلى كل الفروع والجذور

والثمار في قرية، عائلتنا .

إلى من شاركنتي الحزن و الفرح و وقفن دائما بخاني إلى أعز الصديقات:

\*\*حسيبة، ليلى، أسماء\*\*

إلى التي كادت في قلبي غالية و في عيني عالية،

إلى التي شاركنتي هذا العمل وهي راضية صديقتي

\*\*سميحة\*\*

إلى من جمعني ظم القدر و سطر حام الحياة:

حياة، مريد، سهام، سميرة، روفية، سليمة، روفية.....

إلى كل الذين في قلبي ولم يد و ظم قلبي

إلى هؤلاء جميعا أهدي ثمرة عملي

سنا

# Sommaire

Introduction.....	1
-------------------	---

## Partie I: Etude bibliographique

### Chapitre I : Etude de la plante hôte : Poivron (*Capsicum annum*).

1-Origine et distribution géographique.....	2
2-Systématique de poivron .....	2
3-Caractères botaniques de la plante .....	2
4-Ecologie de la plante.....	3
5- Valeur nutritif.....	4
6-Production et commerce international.....	4
7- Ennemis et maladies.....	5

### Chapitre II : Etude de l'agent pathogène et son interaction avec la plante hôte :

#### *Capsicum annum-Phytophthora capsici*

1-Genre <i>Phytophthora</i> .....	6
2- Espèce <i>Phytophthora capsici</i> .....	6
2.1-Définition.....	6
2.2-Répartition géographique.....	7
2.3-Classification.....	7
2.4-Reproduction de <i>Phytophthora capsici</i> .....	7
2.4.1-Reproduction sexuée.....	7
2.4.2-Reproduction asexuée.....	7
2.5-Biologie et épidémiologie de <i>Phytophthora capsici</i> .....	8
2.6-Cycle de la maladie.....	9
2.7-Symptômes.....	9

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> Les différents symptômes observés sur le poivron.....	26
<b>Tableau II.</b> Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de <i>Phytophthora capsici</i> avec la source d'isolement.....	31
<b>Tableau III.</b> Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques d' <i>Alternaria solani</i> avec la source d'isolement.....	33
<b>Tableau IV.</b> Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de <i>Fusarium</i> avec la source d'isolement.....	34
<b>Tableau V.</b> Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques d' <i>Aspergillus</i> avec la source d'isolement.....	35
<b>Tableau VI.</b> Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de <i>Trichoderma</i> avec la source d'isolement.....	36
<b>Tableau VII.</b> Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de <i>Phytophthora parasitica</i> avec la source d'isolement.....	37
<b>Tableau VIII.</b> Les principaux symptômes et caractères macroscopiques et microscopiques d' <i>Erwinia sp</i> avec la source d'isolement.....	38
<b>Tableau IX.</b> Les principaux symptômes et caractères macroscopiques et microscopiques d' <i>Xanthomonas sp</i> avec la source d'isolement.....	39
<b>Tableau X.</b> Les principaux symptômes et caractères macroscopiques et microscopiques d'une bactérie inconnue avec la source d'isolement.....	40

## Listes des figures

<b>Figure 1.</b> Sporange de <i>Phytophthora capsici</i> libérant des zoospores.....	9
<b>Figure 2.</b> Mycélium de <i>Phytophthora capsici</i> .....	9
<b>Figure 3.</b> Les différentes colonies développées à partir des organes du poivron infecté par le champignon <i>Phytophthora capsici</i> .....	27
<b>Figure 4.</b> Les différentes colonies développées à partir des organes des végétaux infectées par des microorganismes (bactéries, champignons).....	28
<b>Figure 5.</b> Les colonies de <i>Phytophthora capsici</i> résulte à la purification des isolas.....	29
<b>Figure 6.</b> Les colonies des antagonistes résulte à la purification des isolas.....	30
<b>Figure 7.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques (x 40, x100) de <i>Phytophthora capsici</i> .	32
<b>Figure 8.</b> Caractères macroscopique et microscopique(x40, x100) d'agent antagoniste <i>Alternaria solani</i> .....	33
<b>Figure 9.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes <i>Fusarium oxysporium</i> .....	34
<b>Figure 10.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes <i>Aspergillus sp.</i> .....	35
<b>Figure 11.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes <i>Trichoderma sp.</i> .....	36
<b>Figure 12.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes <i>Phytophthora parasitica</i> .....	37
<b>Figure 13.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes <i>Erwinia sp.</i> .....	38
<b>Figure 14.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagoniste <i>Xanthomonas sp.</i> .....	39
<b>Figure 15.</b> Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagoniste inconnu.....	40

<b>Figure16.</b> Effet inhibiteur des champignons antagonistes sur la croissance mycélienne de <i>Phytophthora capsici</i> après 6 jours d'incubation à 28°C.....	41
<b>Figure17.</b> Comparaison entre les moyens de diamètre des zones d'inhibition des champignons antagonistes.....	42
<b>Figure18.</b> Comparaison entre les diamètres de développement des zones d'inhibition des champignons antagonistes.....	42
<b>Figure19.</b> Effet inhibiteur des bactéries antagonistes sur la croissance mycélienne de <i>Phytophthora capsici</i> après 3 jours d'incubation à 28.....	44
<b>Figure 20.</b> Comparaison entre les moyens de diamètre des zones d'inhibition des bactéries Antagonistes.....	44



## Abréviations:

cm: centimètre

m: mètre

mm: millimètre

pH: potentiel d'Hydrogène

g : grammes

FAO: Food and Agricultural Organization of the United Nations

ha : hectares

t : tonnes

RH : réaction d'hypersensibilité

J-C : Jesus-Christ

PDA: Potato Dextrose Agar

Ø : diamètre

# *Introduction*



## Introduction :

Les cultures maraîchères, sont à l'instar des autres productions végétales destinées à satisfaire la demande en légumes frais. Parmi ces cultures, le poivron (*Capsicum annuum*) est une plante plus répandue dans le monde, occupe une superficie de plus de 1.6 million ha (Grubben et Mohamed, 2004), espèce botanique appartenant à la famille des solanacées (Skiredj et *al.*, 2003), et elle joue un rôle très important pour l'homme comme source d'aliments et des médicinaux (Krishna, 2003).

Au cours de ces dernières années, la production et l'exploitation du poivron ont été réduites à cause des facteurs biotiques et abiotiques (Babadoost, 2004).

Les champignons phytopathogènes sont des mycètes filamenteux, susceptibles de provoquer des dégâts quantitatifs et qualitatifs sur les plantes (Christophe, 2010). Le champignon *Phytophthora capsici* est l'un de ces agents pathogènes hautement dynamiques et destructives de légumes surtout les cucurbitacées et les solanacées, primordialement le poivron, il provoque des dégâts sérieux sur la culture avec une baisse du rendement (Babadoost, 2004).

Les stratégies de lutte contre ce pathogène doivent être, en tout cas, une partie essentielle de tout système de production agricole. La lutte biologique est l'un de ces stratégies qui s'intéresse à lutter contre un organisme phytopathogène tout en diminuant et évitant l'utilisation des fongicides. Elle consiste à combattre une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme.

Alors, le but de notre étude consiste à rechercher des micro-organismes (bactéries et champignons) qui peuvent inhiber le *Phytophthora capsici* in vitro, nous sommes intéressés à ce sujet car ce dernier possédant la faculté d'induire des dégâts sur les cultures de poivron (*Capsicum annuum*) dans la région de Jijel ce que nous a menés notre enquête sur terrain.

La première partie, c'est une étude bibliographique sur la plante du poivron (*C.annuum*), le champignon pathogène *Phytophthora capsici*, et les principales méthodes de lutte.

La deuxième partie, ce sont des travaux expérimentaux: isolement, identification des souches fongiques de l'agent pathogène *Phytophthora capsici* et leurs antagonistes, faire des tests de la lutte biologique, et enfin résultats et discussion.



*Partie I : Etude bibliographique*

## **Chapitre I : Etude de la plante hôte (*Capsicum annuum*)**

### **1-Origine et distribution géographique :**

Selon Valdez (1994), le poivron est originaire des zones comprises entre le Sud des Etats-Unis et la Colombie. Ses découvertes archéologiques en Tehuacan, centre du Mexique, datant de 6500 à 5000 avant Jésus-Christ, affirment que le poivron a été la première espèce trouvée en Amérique. Son utilisation était plus intense et variée au Mexique et au Pérou.

Le sud de l'Europe et les Etats-Unis occupent la première place dans la production du poivron. Introduit en Europe comme plantes à épices au XV<sup>ème</sup> siècle par Christophe Colomb. Actuellement, le poivron est cultivé dans presque toutes les régions du globe terrestre et détient une importance économique majeure (Candy, 2008).

### **2-Systématique de poivron :**

Le poivron (*Capsicum annuum*) appartenant à la famille des solanacées, au genre *Capsicum*, à l'ordre des Polémoniales, la classe des Dicotylédones et à la subdivision des Angiospermes (Candy, 2008).

### **3-Caractères botaniques de la plante :**

La plante du poivron se cultive sous nos climats comme une plante herbacée annuelle bien qu'elle puisse repousser et produire plusieurs années dans les zones tropicales. L'ensemble de la végétation est glabre, de hauteur et de forme très variable selon les cultivars et les conditions de culture (Erard, 2002).

#### **3.1-Système racinaire :**

Il est constitué d'une racine pivotante à partir de laquelle partent des racines latérales. L'ensemble des ramifications prend d'abord une forme de pointe de flèche au bout de laquelle s'effectue la croissance, puis ensuite sous forme d'un chevelu dense de racine. Ces racines s'enfoncent dans le sol à une profondeur de 30 à 60 cm avec une distribution hétérogène, leur croissance horizontale atteint 30 à 50 cm avec un poids réduit par rapport à la plante (Rodriguez et al., 2005).

#### **3.2 –Tige :**

La tige est cylindrique et légèrement angulaire, son fond est boisé, et certaine hauteur croît verticalement, donnant des branches de 2 à 3 ramifications, peut atteindre une hauteur de 1,20 à 1,30

m en fonction de la variété et des conditions de croissance existants. Les ramifications sont généralement faibles (Erard, 2002).

### **3.3- Feuille :**

La feuille du poivron est simple, lancéolée ou ovale, formée d'un long pétiole souple et d'un limbe à bord lisse ou à peine denté à la base, de la couleur vert plutôt brillant. On peut noter la particularité suivante : si la feuille est retournée, par exemple lors des opérations culturales, elle ne revient pas dans sa position initiale (Erard, 2002).

### **3.4- Fleur :**

La fleur est hermaphrodite. Elle apparaît solitaire à chaque nœud. Elle est reliée à la tige par un pédoncule de 1 à 2 cm de long, présentant 5 à 8 facettes. Chaque fleur est constituée d'un axe ou réceptacle et d'appendices foliaires qui forment les parties florales (Erard, 2002).

### **3.5 -Fruit et graines :**

Il s'agit d'une baie constituée d'un péricarpe charnu plus ou moins épais selon les variétés et d'un placenta à la surface duquel sont implantées les graines, principalement sur sa partie centrale et basale. La couleur de l'épiderme est verte avant maturité, puis de couleur variable à maturité selon les variétés, les plus communes étant le rouge ou le jaune. La forme du fruit varie selon les cultivars. Les graines de couleur jaune pâle, ont une forme ronde réniforme très aplatie avec un diamètre de 3 à 5 mm. Il y a 120 à 160 graines au gramme selon la variété (Erard, 2002).

## **4-Ecologie de la plante :**

### **4.1-Température :**

L'optimum de croissance de poivron se situe à 24°C. Son zéro végétatif se situe à 8°C, mais la croissance de la plante se ralentit à des températures inférieures à 13°C. Le poivron est très sensible aux températures basses. Les températures supérieures à 35°C réduisent la fructification et la photosynthèse (Skiredj et al., 2003).

### **4.2- Exigence édaphique :**

Le poivron présente les caractéristiques du sol suivantes: profond, bien drainé, chaud et bien pourvu en humus et en matières nutritives aisément assimilables. Les sols légers conviennent à la culture de primeur ; les sols frais, silico-argileux sont convenables à la culture de saison. Le poivron

redoute plus l'acidité du sol que sont l'alcalinité. L'optimum se situe vers un pH de 6,5-7 (Skiredj et al., 2003).

### **4. 3- Exigence en eau :**

Les besoins de la culture en eau se situent aux environs de 400 mm pendant la période végétative et de 200 à 400 mm pendant la période de cueillette, soit 600 à 800 mm/cycle. Le but essentiel de tout système d'irrigation consiste à mettre à la disposition de la plante la quantité d'eau nécessaire à ses besoins en temps opportun. Toute erreur en irrigation a des conséquences graves sur la production puisque la faculté restauratrice des racines du poivron est faible (Skiredj., et al, 2003).

### **4. 4- Luminosité ou intensité lumineuse :**

L'intensité lumineuse a une influence plus marquée sur la croissance des tiges que la qualité de la lumière ou la photopériode. A des niveaux bas, il y a une élongation des tiges au détriment de la vigueur, c'est ce que l'on observe souvent sous abris plastique à cause de la perte de transparence des films de couverture (Erard, 2002).

### **5- Valeur nutritif :**

La composition approximative de poivron frais, par 100 g de partie comestible, est la suivante : eau 86 g, énergie 202 kJ (48 kcal), protéines 2,0 g, lipides 0,8 g, glucides 10,3 g, fibres 2,6 g, Ca 29 mg, P 61 mg, Fe 2,6 mg,  $\beta$  carotène 180  $\mu$ g (fruits rouges et mûrs 2 760  $\mu$ g), thiamine 0,12 mg, riboflavine 0,15 mg, niacine 2,2 mg et acide ascorbique (vitamine c) 140 mg (Grubben et Mohamed, 2004).

### **6-Production et commerce international :**

Les statistiques de la FAO évaluent la production mondiale de piments à 21,3 millions de tonnes en 2001 pour une superficie récoltée de 1,6 million d'ha (rendement moyen 13,4 t/ha). La Chine est le plus gros producteur avec 10 millions de tonnes, suivie du Mexique (1,9 million de tonnes) et de la Turquie (1,5 million de tonnes). L'Inde apparaît pour 50 000 t seulement, ce qui est probablement erroné. On estime la production de l'Afrique tropicale à 1 million de tonnes, avec le Nigeria (715 000 t sur 90 000 ha) et le Ghana (270 000 t sur 75 000 ha) comme principaux producteurs (Grubben et Mohamed, 2004).

### 7- Ennemis et maladies :

#### 7. 1-Maladies :

La production de poivron peut être diminuée par divers stress biotiques. Il est sensible aux maladies et les parasites qui peuvent être contraintes primaires sur la culture, et leur contrôle est l'un des facteurs les plus importants dans la production d'une culture rentable. Les maladies et les parasites réduisent généralement à la fois la qualité et la quantité de fruits. Les maladies de champignons qui infectent les plantes de poivron comprennent : Fonte de semis (*Rhizoctonia solani*), cercosporiose spot (*Cercospora capsici*), Mildiou et pourriture des racines (*Phytophthora capsici*), la pourriture du collet (*Sclerotium volfsii*), l'antracnose (*Gloesporium*), pourriture des fruits (*Colletotrichum nigrum*). Les plantes sont sensibles à des bactérie et des virus qui provoquent des maladies comme la tache bactérienne (*Xanthomonas vesicatoria*), la mosaïque du concombre (CMV), la mosaïque du tabac (TMV) et potyvirus etch du tabac (TEV) (Thompson et *al.*, 1989).

#### 7. 2-Ennemis :

La production est affectée par de nombreux insectes nuisibles tels que le puceron, la mouche blanche, la mouche de piment, le criquet acridien et les nématodes (Thompson et *al.*, 1989).



## **Chapitre II : Etude de l'agent pathogène (*Phytophthora capsici*) et son interaction avec la plante hôte (*Capsicum annuum*).**

### **1- Genre *Phytophthora*:**

Le nom *Phytophthora* dérivant du grec *Phyto* (plante) et *Phthora* (destructeur), caractérise bien ce genre car les différentes espèces qu'il regroupe s'attaquent uniquement aux plantes et causent beaucoup de dégâts tant dans les milieux agricoles que forestiers. C'est d'ailleurs l'apparition d'une maladie causée par le *P. infestans* de Bary, entraînant une importante famine en Irlande au milieu du XIXe siècle, qui marqua la naissance de la phytopathologie, et ces 20 ans avant que Louis Pasteur étudie la théorie des germes comme agents infectieux. Depuis plus de 150 ans, les scientifiques étudient avec intérêt les organismes appartenant à ce genre, sans cesser de découvrir de nouvelles espèces : à ce jour, plus de 80 espèces ont été identifiées. Les *Phytophthora* sont les agents pathogènes les plus dévastateurs chez les dicotylédones. Ils font partie des Oomycètes car ils produisent une spore sexuée appelée oospore, qui résulte de la fusion entre les deux gamètes [oogone (femelle) et anthéridie (mâle)]. Des structures asexuées sont aussi présentes chez cet organisme, telles les chlamydospores et les zoospores. La chlamydospore possède une paroi épaisse qui permet de résister longtemps à des conditions difficiles. Les zoospores sont des spores asexuées et biflagellées, qui nagent dans des milieux aqueux et sont attirées par les champs électromagnétiques (électrotactismes) des racines végétales. On retrouve chez le genre *Phytophthora* des espèces homothalliques et hétérothalliques. Autrefois, les Oomycètes étaient classés dans le règne des Fungi (Bilodeau, 2008).

### **2- Espèce *Phytophthora capsici* :**

#### **2.1-Définition :**

La récolte de poivron est attaquée par plusieurs agents pathogènes, causant de graves pertes dans la production. Partout dans le monde, la pourriture des racines *Phytophthora*, causée par *P. capsici*, est l'une des maladies telluriques plus destructives de poivron. L'agent pathogène s'attaque aux racines, tiges, feuilles et fruits de la plante. Le *P. capsici* est également un pathogène attaquant la tomate, l'aubergine, le concombre, la pastèque, la citrouille, la courge, et le cacao. La maladie peut se produire sur la plante à n'importe quel stade, provoquant la fonte des semis, brûlure des semis, brûlure du feuillage, et la mort de la plante précédée par un flétrissement. Le *Phytophthora capsici* appartient à la classe des oomycètes, le mycélium est diploïde et la paroi cellulaire ne contient pas de chitine (Koç et Ustun, 2011).

### 2.2-Répartition géographique :

*Phytophthora capsici* a d'abord été décrit par Léonais en 1922 au Nouveau-Mexique (Babadoost, 2011). Depuis lors, le Mildiou a été observé dans les zones de culture de cucurbitacées à travers le monde. L'infection de *Phytophthora capsici* se produit généralement dans les milieux tempérés, subtropicaux et tropicaux (Babadoost, 2004).

### 2.3-Classification :

Selon McDonald (2007) le champignon *Phytophthora capsici* est un champignon appartenant au Règne de Chromista, l'Embranchement Oomycot, la Classe Oomycètes, à l'Ordre des Péronosporales, la Famille Pythiacées et au Genre *Phytophthora*.

### 2.4-Reproduction de *Phytophthora capsici* :

#### 2.4.1-Reproduction sexuée :

*Phytophthora capsici* se reproduit par voie sexuelle par la production d'un gamétange mâle, appelé l'anthéridie (Stephen, 1999) qui introduit par l'intermédiaire bac copulateur dans l'oogone contient une gamète femelle. Les oogones fécondés donnent naissance à des oospores d'un brun rougeâtre, sont sphériques et ont une paroi épaisse (Boiron, 1996).

#### II.4.2-Reproduction asexuée :

L'agent pathogène se reproduit aussi par voie asexuée par l'intermédiaire des sporanges (Stephen, 1999) qui se forment sur des sporangiophores ou sur le mycélium et se développant à la surface du tissu hôte à la périphérie de la zone infectée (Bud, 2008). Les sporanges sont généralement ovoïdes et effilées à la base. Ils sont facilement détachés de sporangiophores et peuvent être dispersés dans les champs par le vent, l'eau de pluie et l'irrigation (Erwin et Ribeiro, 1996).

Les Sporangies germent indirectement et libèrent des zoospores mobiles, et biflagellées dans des conditions d'humidité libre sur la surface des plantes ou dans le sol saturé. Les zoospores peuvent se déplacer facilement dans des conditions saturées et infectent les racines ou les parties aériennes des plantes. Le *P. capsici* produit également des chlamydozoospores qui sont des spores de conservation, unicellulaires à la paroi souvent épaisse et colorée. Ils survivent dans le sol ou les tissus végétaux dans des conditions environnementales défavorables. Ces dernières peuvent, à leur tour, restés en dormance jusqu'à ce que les conditions deviennent favorables, germent alors et produisent des mycéliums, sporanges et zoospores infectieux (Erwin et Ribeiro, 1996).

### **2.5-Biologie et épidémiologie de *Phytophthora capsici* :**

#### **2.5.1-Conservation, sources d'inoculum :**

Le *Phytophthora capsici* maintient dans le sol d'une année à l'autre ou dans les débris végétaux sous la forme des chlamydospores libre. Elles peuvent conserver plusieurs années en l'absence d'hôtes sensibles et en présence des conditions climatique défavorables. Lorsque les conditions sont favorables, les chlamydospores germent et forment un ou plusieurs tubes qui donnent naissance à des sporanges. Ceux-ci germent aussi directement ou produisent des zoospores (Blancard, 1998). La durée de vie des oospores en dehors du tissu hôte est relativement longue, ils peuvent germer soit directement via la formation d'un tube germinatif ou indirectement par la formation de sporanges (Stephen, 1999).

#### **2.5.2-Pénétration :**

La relation initiale d'un inoculum avec un organe végétal dépend largement du processus de la rencontre, laquelle peut être aléatoire ou au contraire résulter d'un tropisme particulier, notamment au niveau des racines. A la surface des feuilles, on observe très généralement que les spores de l'agent pathogène sont rapidement fixées à la cuticule (Lepoivre, 2003). Après la fixation, Le sporange de *Phytophthora capsici* peut germer directement et pénétrer dans les tissus de la plante ; mais plus souvent, il subira des divisions cellulaires internes, aboutissant à la formation de zoospores flagellées mobiles dans l'eau. Ces zoospores germent et forment un appressorium en surface de la plante, ou pénètrent par les stomates dans les tissus végétaux. Le mycélium envahit les cellules végétales, c'est l'incubation, non visible à l'œil nu. En fin d'incubation, la tache devient visible à l'œil nu (Ducattillon et al., 2006). Dans les tissus lésés, mais aussi à la surface des racines les sporanges et les chlamydospores se forment assez rapidement. Ils sont à l'origine de la conservation de la maladie et d'autre contamination (Blancard, 1998).

#### **2.5.3-Dissémination :**

Le *Phytophthora capsici* dispersé (Blancard, 1998) dans la nature par l'intermédiaire de divers agents comme l'air, l'eau, les animaux en particulier les insectes (Nasraoui, 2006). Les nombreux sporanges formés ne tardent pas à germer directement ou à produire des zoospores qui assurent la dissémination de la maladie et donneront lieu à des contaminations secondaires (Blancard, 1998). Les hyphes sont capables de croître entre les tissus en contact et dans le sol entre les racines (Nasraoui, 2006).

### 2.6-Cycle de la maladie :

*Phytophthora capsici* est un agent pathogène tellurique et survit entre les cultures sous forme d'oospores dans le sol ou de mycélium (fig.1) dans les débris végétaux .Un oospore est une spore à paroi épaisse sexuelle germe pour former des structures appelées sporanges peuvent soit germer et infecter directement les tissus hôtes, ou ils peuvent libérer des zoospores (fig.2), qui peuvent ensuite infecter la plante (Babadoost, 2004). Les zoospores sont spores unicellulaires (Louws et *al.*, 2008) peuvent libérées dans l'eau et sont capables de nager pendant plusieurs heures et infecter les tissus végétaux (Babadoost, 2004). Les plantes infectées permettent à l'agent pathogène à produire plus d'inoculum qui est dispersées par le vent, la pluie poussée par les parties supérieures des plantes voisines, y compris les tiges, les feuilles et les fruits (Louws et *al.* , 2008).

La propagation de la maladie est généralement associée à des fortes précipitations, une quantité excessive d'irrigation ou le sol mal drainé (Babadoost, 2004). Si les oospores se forment, l'agent pathogène est susceptible de persister pendant des années dans le sol même en l'absence de plantes hôtes (Louws et *al.* , 2008)

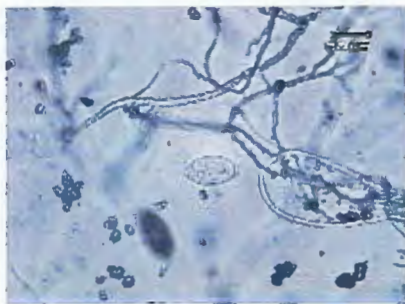


Figure1.

Sporange de *Phytophthora capsici* libérant des zoospores (Gevens et *al.*, 1994).



Figure 2.

Mycélium de *Phytophthora capsici* (Gevens et *al.*, 1994).

### 2.7-Symptômes :

*Phytophthora capsici* provoque la pourriture des semences et la brûlure des semis dans de nombreuses cultures de solanacées (poivron, aubergine, tomate) et les cucurbitacées (melon, concombre, courge d'été, la citrouille, pastèque), similaires à ceux observés avec les champignons, *Pythium spp.* et d'autres *Phytophthora sp.* (Roberts et *al.*, 2000). Sur les plantes

matures, *P. capsici* peut aussi produire une grande variété de symptômes qui varient selon l'hôte. Sur le poivron, les racines, les tiges, les feuilles, les fruits et de plantes matures sont sensibles. Bien que l'infection peut se produire à n'importe quelle hauteur sur les tiges, elle est plus fréquente au niveau du sol, et démarre comme un endroit sombre, imbibée d'eau. Les lésions deviennent brun foncé à noir et se traduisent par annélation et la mort des plantes (Leonian, 1922).

Sur les racines, peut être observée une coloration brune et un amincissement de racines. Depuis les racines inférieures sont pourris et dégradé, la croissance des racines latérales peut être plus répandue. Fruits de poivron sont infectés à travers la tige. La pourriture des fruits apparaît en vert foncé, imbibées d'eau qui deviennent enduit avec de la moisissure blanche et les spores du champignon, les fruits infectés devient desséchés, ratatinés et bruns mais reste attachés à la plante (Zitter, 1989).

Les taches foliaires sont petites au début, irrégulières à arrondies, et imbibée d'eau. Avec l'âge les taches s'agrandissent, tourner un léger hâle, et peut se fissurer. Les zones infectées peuvent être bordée de blanc fongique pendant les périodes humides (Gevens et al., 1994).

### **2.8-Gamme d'hôtes :**

En 1996, Erwin et Ribeiro a rapporté que 49 espèces de plantes peuvent être infectées par *P. capsici*. Parmi les principaux hôtes sont le poivron le rouge et vert (*Capsicum annuum*), la pastèque (*Citrullus lanatus*), le cantaloup (*Cucumis melo*), melon miel (*C. melo*), le concombre (*Cucumis sativus*), bleu Hubbard courge (*Cucurbita maxima*), la courge poivrée (*Cucurbita moschata*), gourde (*C. moschata*), la citrouille de traitement (*C. moschata*), courge jaune (*Cucurbita pepo*), courgettes (*C. pepo*), tomate (*Lycopersicon esculentum*), poivre noir (*Piper nigrum*), et l'aubergine (*Solanum melongena*). En 2004, Tian et Babadoost font état de cinq espèces de cultures et variétés : betterave (*Beta vulgaris*), bettes (*Beta vulgaris* var. *cicla*), haricots de Lima (*Phaseolus lunatus*), le navet (*Brassica rapa*), et les épinards (*Spinacia olerace*), et une espèce de mauvaises herbes, l'abutilon (*Abutilon theophrasti*), en tant que hôtes de *P. capsici* pour la première fois (Babadoost, 2004).

## **2.9-Réactions de défense de l'hôte :**

### **2.9.1-Défense structurales inductible :**

#### **2.9.1.1-Défenses structurales cellulaires :**

Les défenses structurales induites, peuvent aussi avoir lieu au niveau de la paroi cellulaire, tels que l'épaississement de ces parois en réponse à l'attaque de plusieurs pathogènes, ou la formation de papilles sur la face interne des parois cellulaires en réponse à l'invasion des pathogènes. En fonction de la combinaison hôte-pathogène, les papilles peuvent être formées essentiellement de callose, mais aussi de lignine, subérine, cellulose, pectine, substances gommeuses, silice et d'autres. Les papilles se forment rapidement après l'infection ou autre stress, mais l'efficacité de ces structures comme mécanismes de défense semble cependant être plutôt limitée (Nasraoui, 2006).

#### **2.9.1.2-Défenses structurales histologiques :**

Comme résultat de stimulation des cellules hôtes par des substances secrétées par le pathogène, les plantes peuvent former plusieurs couches des cellules liégeuses au delà du point d'infection. Ces couches liégeuses inhibent l'invasion subséquente par le pathogène, bloquent la propagation des substances toxiques secrétées par le pathogène, stoppent le flux des éléments nutritifs et d'eau de la zone saine à celle infectée et privent le pathogène de se nourrir. Les couches liégeuses délimitent ainsi les tissus morts renfermant le pathogène. Ces tissus morts peuvent devenir des lésions nécrotiques (taches), peuvent former des gales s'ils sont poussés vers l'extérieur par les tissus sains sous-jacents ou peuvent se détacher, ce qui élimine le pathogène complètement de l'hôte (Nasraoui, 2006).

### **2.9.2-Défenses biochimiques :**

#### **2.9.2.1-L'hypersensibilité :**

La réaction d'hypersensibilité, est une réponse initiée par la reconnaissance des éliciteurs de pathogène, elle se déclenche par la formation des lésions qui s'accompagneront par des modifications physiologiques (Rouxel, 1989).

Il semble que RH est due à la présence dans la plante d'un gène de résistance R qui reconnaît et est activé par l'éliciteur du pathogène (Nasraoui, 2006). D'autre part, l'éliciteur est une substance excrétée par l'agent pathogène, étaient responsables de l'induction de synthèse des phytoalexines lors d'interactions spécifiques dans des sites complémentaires de la plante hôte

(Molot et Mas, 1985). Il est appelé aussi gène d'avirulence car il rend le pathogène avirulent en activant la résistance dans l'hôte par l'intermédiaire de RH (Nasraoui, 2006).

### **2.9.2.2-Phytoalexines :**

La réaction d'hypersensibilité est généralement associée à une accumulation intense de phytoalexines. Le terme «phytoalexine» a été créé par Müller et Borger (1940) pour désigner des substances antifongiques apparaissant dans les tissus végétaux. Les auteurs observent la mort rapide des cellules végétales, au niveau du point de pénétration du parasite, accompagnée d'une réaction de défense des cellules environnantes. Une définition de référence a été énoncée par un groupe de chercheurs (Rouxel, 1989): «Les phytoalexines sont des substances antibiotiques de faible poids moléculaire, de nature chimique diverse, synthétisés par les cellules végétale en réponse à l'infection bactérienne ou, généralement fongique limitant ainsi la diffusion de l'agent pathogène» (Marouf et Raynaud, 2007). La plupart des phytoalexines connues sont toxiques aux pathogènes fongiques (Nasraoui, 2006). Elles sont synthétisées très rapidement dans l'espace de deux heures suivant l'attaque de l'agent pathogène, produites par les cellules saines adjacentes aux cellules nécrotiques locales en réponse aux substances qui diffusent dans les cellules endommagées (Marouf et Raynaud, 2007).

La production des phytoalexines est induite par des éliciteurs qui sont généralement des substances de haut poids moléculaire et sont constituants de la paroi cellulaire du pathogène fongique, tels que glucanes, chitosane, glycoprotéines et polysaccharides. Ils sont libérés à partir de la paroi cellulaire du pathogène par les enzymes de la plante hôte (Nasraoui, 2006).

### **2.10-Conditions pour le développement des maladies :**

En absence de plantes hôtes pendant plusieurs mois, les spores d'hivernage dans le sol permettent au champignon de persister en fonction de la teneur en humidité du sol. La maladie est favorisée par un temps chaud et humide, mais leur survie dans sol froid est pauvre. L'inoculum dans le sol peut augmenter rapidement grâce à des cycles répétés de spores de production tous les 2-3 jours. Cet inoculum secondaire est très important dans le développement de la maladie. Les fruits qui touche le sol ou près du sol sont les plus enclins à l'infection. Le champignon sera également survivre dans les tissus végétaux infectés, et les spores peuvent germer dans le sol ou sur les débris en décomposition. Toutefois, le champignon dépend de l'eau libre dans le sol de l'infection, Parce que la première infection par *P. capsici* se produit habituellement dans les plantes qui poussent dans les zones mal drainées. La propagation des spores peut se produire par l'intermédiaire des eaux de surface ou les éclaboussures de pluie. Une fois l'infection de la tige se produit, le champignon

champignon produit des spores sur les tissus de la tige infectées, qui sont ensuite transportés par la pluie éclaboussée sur les plantes voisines. La température du sol nécessaire pour le développement de la maladie est comprise entre 18°C et 30°C et la température idéale pour l'infection et le développement de la pourriture des fruits est de 27°C. Le champignon est transmis par les semences à la fois interne et externe des grains de poivron, et peut se propager par la contamination des semences (Cerkaskas, 2004).



## **Chapitre III : La lutte**

### **1-Généralité sur les méthodes de lutte :**

La lutte contre les maladies est basée sur différentes méthodes. La plupart de ces méthodes est orientée pour protéger les plantes saines des maladies plutôt que de guérir les plantes malades. Seules quelques infections peuvent être contrôlées d'une façon satisfaisante après que les plantes deviennent malades. Les méthodes de lutte appliquées en agriculture varient considérablement d'une maladie à une autre en fonction du pathogène, de la plante hôte et de leur interaction chacun avec l'autre et avec l'environnement. Le but final de toutes les méthodes utilisées est de combattre les maladies des plantes et alors d'accroître la quantité et améliorer la qualité de la production agricole.

Pour empêcher ou limiter les dégâts causés par les pathogènes sur les cultures, différentes approches sont disponibles. Les mesures utilisées peuvent être classées comme des méthodes séparatrices, culturales, biologiques, améliorant la résistance, physiques et chimiques. Toutes les techniques sont appliquées pour exclure les pathogènes des plantes hôtes, éradiquer ou réduire les inoculum des pathogènes, immuniser ou améliorer la résistance des plantes hôtes (Nasraoui, 2006).

#### **1.1-Lutte physique :**

La lutte physique en protection des plantes regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action primaire ne fait intervenir aucun processus biologique ou biochimique. Il convient de distinguer deux types fondamentaux de méthode en lutte physique : les méthodes actives et les méthodes passives. Les méthodes actives utilisent de l'énergie au moment de l'application pour détruire, blesser ou stresser les ennemis des cultures, ou pour les enlever du milieu. Ces méthodes n'agissent qu'au moment de l'application et ne présentent pratiquement pas de rémanence. Les méthodes passives procèdent par une modification du milieu et ont un caractère plus durable. On peut aussi classer les méthodes physiques selon le mode d'utilisation de l'énergie en quatre classes : lutte mécanique, lutte thermique, lutte électromagnétique et lutte pneumatique (Vincent et *al.*, 2000).

#### **1.2-Lutte chimique :**

A côté des méthodes de lutte culturales, génétique ou biologique, les traitements chimiques sont largement utilisés pour combattre les maladies fongiques. Ces traitements doivent être toujours préventifs, c'est-à-dire menés bien avant l'apparition de la maladie. Ils sont basés sur l'utilisation de quelques substances chimiques qui sont appelées produits antiparasitaires ou encore pesticides (Leroux et Garden, 2003).

### **1.3-Lutte culturale :**

L'état sanitaire des plantes dépend pour une bonne part de l'usage des plantes saines, produit à partir de graines exemptes d'agents pathogènes et sur des couches ou des mottes préparées à partir de terre ou substrats sains ou désinfectés (Rabasse, 1985).

Le choix de variétés tolérantes aux conditions à risques est aussi primordial. La plantation se fait sur sol désinfecté ou en sol neuf de manière que le collet ne doit jamais être entré. Quand la plante s'agrandit, elle exige un palissage, un effeuillage et une aération des serres qui est très demandée aussi pour éviter l'augmentation excessive de la température.

L'irrigation doit être maîtrisée pour éviter les asphyxies racinaires ou d'autres contaminations par les zoospores des champignons existants dans le sol ou sur la plante (Beyries et *al.*, 1965).

La mise en place de rotations avec des cultures non sensibles permet de limiter le développement du champignon. En cas de contamination, la suppression de plantes malades peut être une solution pour limiter la force d'attaque.

### **1.4-Lutte intégrée :**

La lutte intégrée veut combiner de manière rationnelle les différentes stratégies de protection des cultures (lutte chimique, lutte génétique, pratique culturales, lutte biologique) (Lepoivre, 2003) pour objectif de concilier des points de vue différents et de définir une stratégie d'action commune (Regnault et Coord, 2005).

## **2. Lutte biologique :**

### **2.1-Définition :**

La lutte biologique consiste à l'utilisation d'organismes vivants ou de leur produit pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles (définition de l'organisation internationale de lutte biologique) (Cassier et *al.*, 1989). Elle est basée sur l'exploitation par l'Homme et à son profit d'une relation naturelle entre deux êtres vivants (Jourdeuil et *al.*, 1991):

-la cible est un organisme indésirable, ravageur d'une plante cultivée, mauvaise herbe, parasite du bétail...

- l'agent de lutte est un organisme différent, le plus souvent un parasite (ou parasitoïde), un prédateur ou un agent pathogène du premier.

Une autre définition plus large de la lutte biologique est parfois utilisée : "Toute action mettant en jeu des organismes ou modifiant l'hôte, y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer, par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite"(Toussaint, 1996).

### **2.2-Historique :**

La première méthode fut appliquée en Chine, en 304 avant J-C, des fourmis furent utilisées pour lutter contre un coléoptère des citrus, *Clitea metallica*. La reconnaissance de cette méthode associée au succès de l'introduction, en 1889, par Riley et Koebele, en Californie, d'une coccinelle australienne, *Rodolia (= Novius) cardinalis*, prédatrice de la cochenille des agrumes, et *Icerya purchasi*, introduite accidentellement en 1868 (Cassier et al., 1989).

### **2.3-Méthodes de lutte biologique :**

#### **2.3.1-Augmentation :**

L'augmentation est une méthode de plus en plus la population d'un ennemi naturel s'attaque des ravageurs. Cela peut être fait en masse la production d'un organisme nuisible dans un laboratoire et de le relâcher dans le champ au bon moment ou l'élevage d'un meilleur ennemi naturel qui peut attaquer ses proies plus efficacement. L'élevage de masse peut être libéré à des moments particuliers où le ravageur est plus sensible et les ennemis naturels ne sont pas encore présents, ou ils peuvent être libérés en si grand nombre que les parasites peuvent aller épargnée par leurs ennemis. Les scientifiques ont également poussé les microbes, tels que les bactéries et les spores fongiques, dans les cultures de laboratoire et les embruns et les pelouses avec un grand nombre de ces organismes naturels pour apporter certains ravageurs sous contrôle (Lanoué et Stephanie, 2002).

#### **2.3.2-Conservation :**

La conservation des ennemis est un élément important de tout effort de lutte biologique. Cette stratégie consiste à identifier tous les facteurs qui limitent l'efficacité d'un ennemi naturel spécifique et en les changeant pour aider les espèces bénéfiques. Conservation des ennemis naturels implique soit la réduction des facteurs qui interfèrent avec les ennemis naturels ou de fournir les ressources nécessaires qui aident les ennemis naturels (Lanoué et Stephanie, 2002).

#### **2.3.3-Lutte biologique classique :**

La lutte biologique classique consiste à libérer un organisme qui établit à importer et se propager pour contrôler en permanence un ravageur. On a généralement recours à cette méthode,

pour lutter contre des ravageurs exotiques ou introduits qui ont peu d'ennemis naturels dans leur nouvel habitat (Lanoué et Stephanie, 2002).

### **2.4-Mécanismes de la lutte biologique :**

Pour qu'un microorganisme antagoniste soit efficace pour lutter contre un agent pathogène, il doit posséder certains mécanismes d'antagonisme. Les mécanismes les plus étudiés sont l'hyperparasitisme, l'occupation de la niche écologique, l'antibiose (Toussaint ,1996), et induction de résistance chez l'hôte (Bencheqroun, 2009).

#### **2.4.1-L'hyperparasitisme :**

L'hyperparasitisme implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste. L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques tels que des glucanases, des chitinases et des lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène. Par exemple, il a été démontré que les hyphes de l'agent pathogène *Rhizoctonia solani* et les spores de l'agent pathogène *Cochliobolus sp.* Peuvent être perforées dans le sol par des myxobactéries du genre *Polyangium* et des amibes vampyrellides ce qui entraîne une diminution de la population des agents pathogènes (Toussaint ,1996).

#### **2.4.2-Antibiose :**

La sécrétion de substances antibiotiques est un phénomène très commun dans la nature. De nombreux microorganismes produisent ces métabolites et agissent en provoquant une altération de la germination, de la croissance et/ou de la sporulation du pathogène, une distorsion des hyphes du pathogène, une modification de l'aspect des colonies (Bencheqroun, 2009).

#### **2.4.3- Occupation de la niche écologique :**

En occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène, un microorganisme peut compétitionner avec l'agent pathogène au niveau de l'espace et des nutriments, ce qui peut diminuer ou même empêcher la croissance de l'agent pathogène (Toussaint ,1996).

#### **2.4.4- Induction de résistance chez l'hôte :**

Le tissu végétal des plantes réagit à une attaque de pathogènes par l'activation d'un système de défense biochimique et structurale qui contribue à éviter la dissémination du pathogène. L'induction du mécanisme de résistance de l'hôte peut s'exprimer par l'accumulation des métabolites antifongiques (phytoalexines) ou des glucanohydrolases antifongiques comme la chitinase et le chitosan. Dans certains cas des maladies, plusieurs études ont montré que certains

antagonistes peuvent établir des interactions, particulièrement avec les tissus blessés, qui permettent d'accélérer les processus de cicatrisation et d'induire les processus de résistance chez l'hôte (Bencheqroun, 2009).

### **2.5-Avantages et inconvénients de la lutte biologique :**

#### **2.5.1-Avantages :**

Les avantages de la lutte biologique correspondent à la suppression des inconvénients de la lutte chimique. Selon Lefort (2010) :

- Permet d'éliminer l'utilisation de pesticides chimiques.
- Il n'y a pas de toxicité.
- Il est utilisable en serre.
- Permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques.
- Plus grande spécificité d'action.
- Faible coût de développement.
- Du point de vue environnemental: Innocuité pour la santé humaine, l'environnement ou les espèces non cibles.
- Par conséquent:
  - Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricoles.
  - Pas de délai de traitement avant la récolte.
  - Non contamination des produits (pas de résidus chimiques).
  - Maintien de la biodiversité des biotopes.
  - Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution.

#### **2.5.2-Inconvénients:**

Les principaux risques de la lutte biologique concernent (Lefort, 2010):

- l'introduction d'espèces qui pouvant s'attaquer à des hôtes des proies inattendus éventuellement utiles.
- Lutte souvent faite en prévention et moins efficace lorsque curative.
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'applications).
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre.

- Efficacité relative aux conditions climatiques.
- Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur.
- Nécessite d'excellentes connaissances de l'écologie des pathogènes cibles et des agents de contrôle biologiques et de la relation pathogène cible-agent de contrôle biologique.



*Partie II : Etude expérimentale*

## Chapitre I : Matériels et Méthodes

### 1-Echantillonnage :

Au cours de ce travail, des sorties sur terrain ont été réalisées au niveau de trois stations agricoles spécialisées en culture sous serre dans la wilaya de Jijel. Cette dernière est connue essentiellement par la production du poivron et d'autres cultures maraichères.

La première station visitée, il s'agit d'une exploitation agricole individuelle située dans la région de Bazoul (12 Km à l'Est de Jijel). Cette station comprend des serres de culture de poivron et d'autres cultures.

La deuxième station est représentée par l'exploitation agricole située dans la région de Taher, (18 Km à l'Est de Jijel). Cette station comprend des serres de culture du poivron et d'autres cultures.

La troisième station située dans la région de Djimar (22 Km à l'Est de Jijel). Cette station comprend des serres de culture de poivron et d'autres cultures.

### 2-Matériels et Méthodes :

La réalisation de cette étude repose sur deux étapes principales : la première c'est l'identification de l'agent causal correspondant aux maladies, et la deuxième c'est de faire des tests biologiques in vitro.

#### 2.1-Symptomatologie :

Au cours du mois Mars jusqu'au Mai, les prélèvements ont été effectués dans les stations indiquées précédemment ; on a prélevé des organes comprenant des symptômes du champignon *Phytophthora capsici* décrit par les chercheurs Leonian (1922) et Satour et Butler (1967) sur les plantes du poivron (*Capsicum annuum*) (tableau I).

#### 2.2-L'isolement :

##### 2.2.1-L'isolement de l'agent pathogène : *Phytophthora capsici*.

La présence de la maladie du poivron est déterminée par l'apparition des symptômes sur les différents organes, surtout les collets et les racines.



### **2.2.1.1-L'isolement à partir des racines :**

Selon Satour et Butler (1967), les racines infectées sont lavées à l'eau courante, découpées en petits fragments, placées dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau distillée stérile, afin d'induire la formation des sporanges. Après 48 heures d'incubation à la température ambiante (28°C), les boîtes sont transférées dans un réfrigérateur à température 5°C pendant 15 minutes, puis à nouveau à température ambiante dans l'étuve pour libérer les zoospores. Ces derniers ont été récupérés en suspension par la pipette et les repartir sur la surface des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosé (Annexe a). Les zoospores ont été germées après 5 heures d'incubation à 25°C. Enfin, on a transféré les zoospores germées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu V-8 (Annexe b) (Davet et Rouxel, 1997).

### **2.2.1.2-L'isolement à partir des organes aériens :**

Pour réaliser L'isolement on a coupé des fragments de forme carrée de surface de l'ordre de 3 à 4 mm à partir des zones infectées sur différents organes aériens (feuilles, tiges et fruits) du poivron qui ont été d'abord lavés à l'eau distillée. Ensuite, on a placé ces fragments dans un bécher contenant de l'eau de javel pour les désinfectés pendant 3 mn, et les rincés bien avec de l'eau distillée stérile. A l'aide d'une pince stérile, les déplacés sur un papier à filtrer stérile, puis les déposés sur la surface du milieu de culture V-8 qui est reparti dans des boîtes de Petri (3 fragments / boîte). L'incubation a été faite dans l'étuve à température 28°C pendant 8 jours (Davet et Rouxel, 1997).

### **2.2.2-l'isolement des antagonistes à partir des organes de différentes espèces végétales :**

L'isolement des antagonistes a été fait par un découpage des tissus des organes des végétaux présentant des symptômes différents, en fragments de l'ordre 3 à 4 mm de longueur, qui ont été d'abord lavés à l'eau courante, puis les désinfectés par l'éthanol pendant 2 mn (Messian et *al.*, 1991) . Les isolements sont réalisés sur des milieux de culture gélosés connus sous le nom PDA pour les champignons, et Mac Conkey pour les bactéries. Enfin, l'incubation a été faite dans l'étuve à température 28°C pour les champignons (Davet et rouxel, 1997) et 37°C pour les bactéries (Rahme et *al.*, 1997).

### **2.3-La purification des isolats :**

Pour la purification des souches fongiques et bactériennes, on a fait des repiquages; c'est de prélever, à l'aide d'une anse en platine stérile des disques ( $\varnothing = 4$  mm) à partir de la périphérie des colonies, et les ensemercer au centre des boîtes de Pétri contenant les milieux

sélectif [PDA (Annexe c) pour les champignons, et Mac Conkey pour les bactéries]. L'incubation a été faite à une température de 28°C pendant 8 jours pour les champignons (Davet et rouxel, 1997) et 37°C pendant 48 heures pour les bactéries (Rahme et *al.*, 1997).

#### **2.4-La conservation :**

Lorsqu' une culture est obtenue pure, elle sera transférée dans un milieu gélosé adapté pour constituer une culture de stock qui sera repiquée à intervalles réguliers dans un milieu frais. Les cultures en surface d'un milieu gélosé en tube à essai, constituent un moyen pratique de conservation. Pour augmenter la surface du milieu de croissance, le tube à essai a été incliné avant la solidification de la gélose pour former une pente. Les géloses en pentes sont inoculées par des disques des colonies obtenues, et incubées à 28°C pour les champignons et 37°C pour les bactéries, puis conservées à température 20°C après croissance des microorganismes (Perry et *al.*, 2004).

#### **2.5-Identification :**

##### **2.5.1-L'identification des isolats fongiques :**

L'identification, pendant longtemps à été basée sur l'observation des caractères cultureux (vitesse de croissance, température maximale, milieu favorables), et caractères morphologiques de l'espèce. Ces derniers sont engendrées des paramètres macroscopiques (aspect des colonies, de leur revers) et microscopiques (aspect du mycélium, des spores).

##### **2.5.1.1-Les Critères d'identification macroscopique :**

L'aspect des colonies représente un critère d'identification. Les champignons forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses (Risoail, 2005).

- **Les reliefs des colonies :**

Il peut être plat ou plissé, et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure) (Risoail, 2005).

- **La taille des colonies :**

Elle peut- être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (Botton et *al.*, 1990).

- **La couleur des colonies :**

Est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, marron, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le gris, le vert, le brun allant jusqu' au noir (Cahagnier et Richard, 1998).

#### **2.5.1.2-Les critères d'identification microscopique :**

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après mis d'une portion de colonie fongique à l'aide d'une anse de platine stérile sur une lame contiennent une goutte d'eau distillée, puis recouvert avec une lamelle, l'observation se fait à l'aide d'un microscope optique avec grandissement graduée de x10, x40 et x100 pour observé les formes de la phase végétative et reproductrice (Cahagnier et Richard, 1998).

- **Le thalle :**

Tous les champignons possède une appareil végétatif, constitué de filament (hyphes) qui forment le thalle ou mycélium, le thalle peut être siphonné ou septé (Botton et *al.*, 1990).

- **Les spores :**

Les spores qui sont le produit de la reproduction asexuée peuvent être endogènes ou exogènes (Botton et *al.*, 1990).

#### **2.5.2-L'identification des bactéries :**

L'identification des bactéries se fait suivant une clé basée sur les caractères les plus vastes aux plus pointus pour aboutir à une espèce bactérienne donnée. L'étude de la morphologie bactérienne est le premier acte effectué dans un laboratoire de diagnostic pour identifier une bactérie. L'observation de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire du diagnostic (Fauchère, 1997).

##### **2.5.2.1-Les critères macroscopiques :**

A l'œil nu, on peut distinguer les caractéristiques d'une colonie: la forme du relief, la taille, la couleur, l'aspect (collant, filamenteux...), la transparence, l'allure des contours (Bousseboua, 2002).

### 2.5.2.2-Les critères microscopiques :

- **Coloration de Gram :**

Les bactéries étant en général quasiment transparentes, on commence par préparer un étalement sur lame de microscope auquel on applique une coloration de Gram. Les bactéries à Gram positif apparaîtront mauves alors que celles à Gram négatif apparaîtront roses. La coloration de Gram permet de déterminer le type de paroi cellulaire (Fauchère, 1997).

- **Forme :**

La forme est extrêmement diverse au sein du monde bactérien. Si on excepte les bactéries dépourvues de paroi (Mycoplasmes), qui peuvent être très polymorphes, la diversité est relativement restreinte pour les bactéries d'intérêt médical et vétérinaire. Parmi celles-ci, on distingue principalement des formes sphériques (cocci), cylindriques (bacille), spiralées (spirille), enroulées (spirochète) à appendice bourgeonnante ou filamenteuse (Bousseboua, 2002).

- **Mode de groupement :**

Elles peuvent se regrouper en chaînes (Streptococcus, Enterococcus, Lactococcus...), en amas asymétriques ou grappes (Staphylococcus), en amas cubiques réguliers (sarcines), en palissades ou en paquets d'épingles (Corynebacterium)... Le mode de groupement, à condition de l'apprécier sur une culture jeune effectuée en milieu liquide et de tenir compte de l'aspect prédominant, est également un élément important pour orienter l'identification (Fauchère, 1997).

- **Présence de spore :**

Toutes les bactéries n'ont pas la possibilité de sporuler. Il faut noter que la totalité des bacilles à Gram + sporulent en situation de stress. Pour mettre en évidence les spores au microscope optique on fait une coloration de Gram (absence de coloration) (Fauchère, 1997).






## 2.6-Les tests de lutte biologique :

C'est notre objectif primordial pour ce thème, dont on a étudié l'activité antifongique et antibactérienne vis-à-vis du *Phytophthora capsici*, et pour cela on fait le test biologique par confrontation directe qui consiste à déposer dans la même boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud deux pastilles gélosées (la distance entre les deux pastilles est 3 Cm), prélevé à partir des colonies de l'agent pathogène *Phytophthora capsici* et de l'agent antagoniste (Benhamou et Chet, 1996).

**Chapitre II : Résultats et Discussion.**

**1- Symptomatologie :**

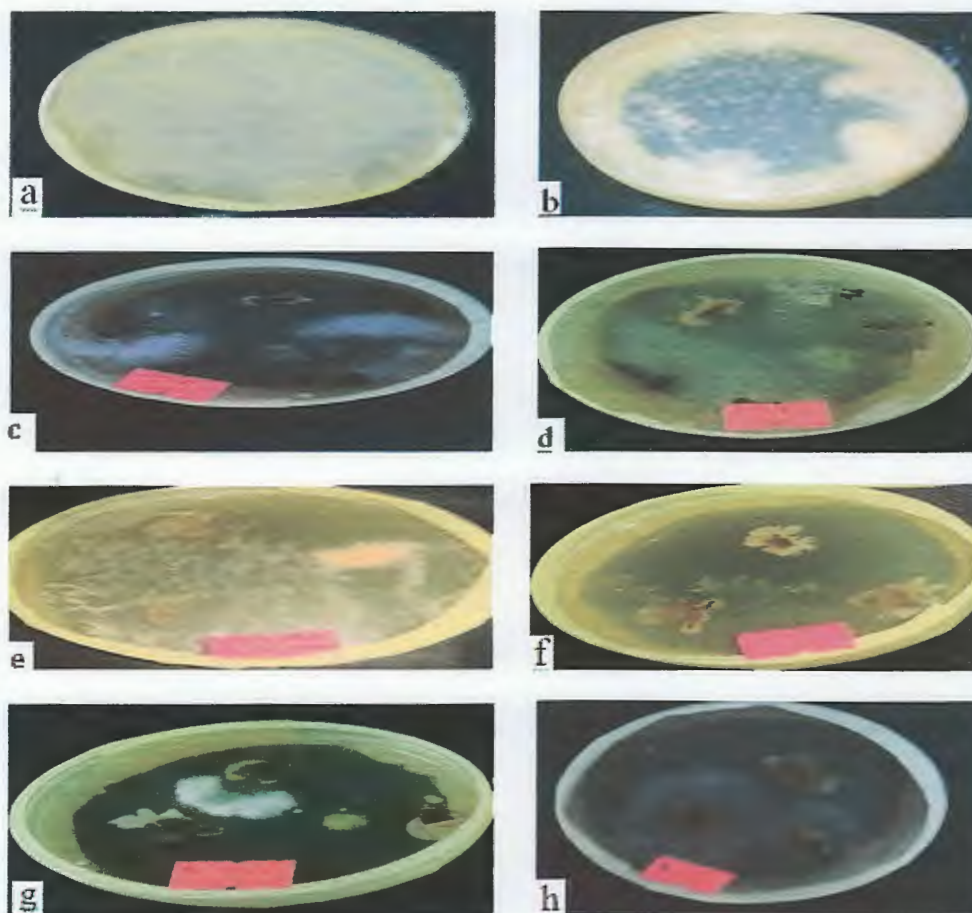
**Tableau I.** Les différents symptômes sur différents organes du poivron.

Station	Organes infectés	Symptômes observés	Photos	
Bazoul	Feuilles	-Taches brunes sur les bordures, avec détachement des tissus infectés		
	Fruits	-Taches brunes		
El-Taher	Feuilles	- Taches brunes - Dessèchement		
	Tiges	-Brunissement -Le collet recouvert par une bonde blanche -Rabougrissement		
	Racines	-Brunissement -Pourriture des collets		
Djemar	Tige	-Brunissement apical		
	Racine	-Brunissement -Pourriture des collets		

## 2- Isolement :

### 2.1-Isolement de l'agent pathogène : *Phytophthora capsici*.

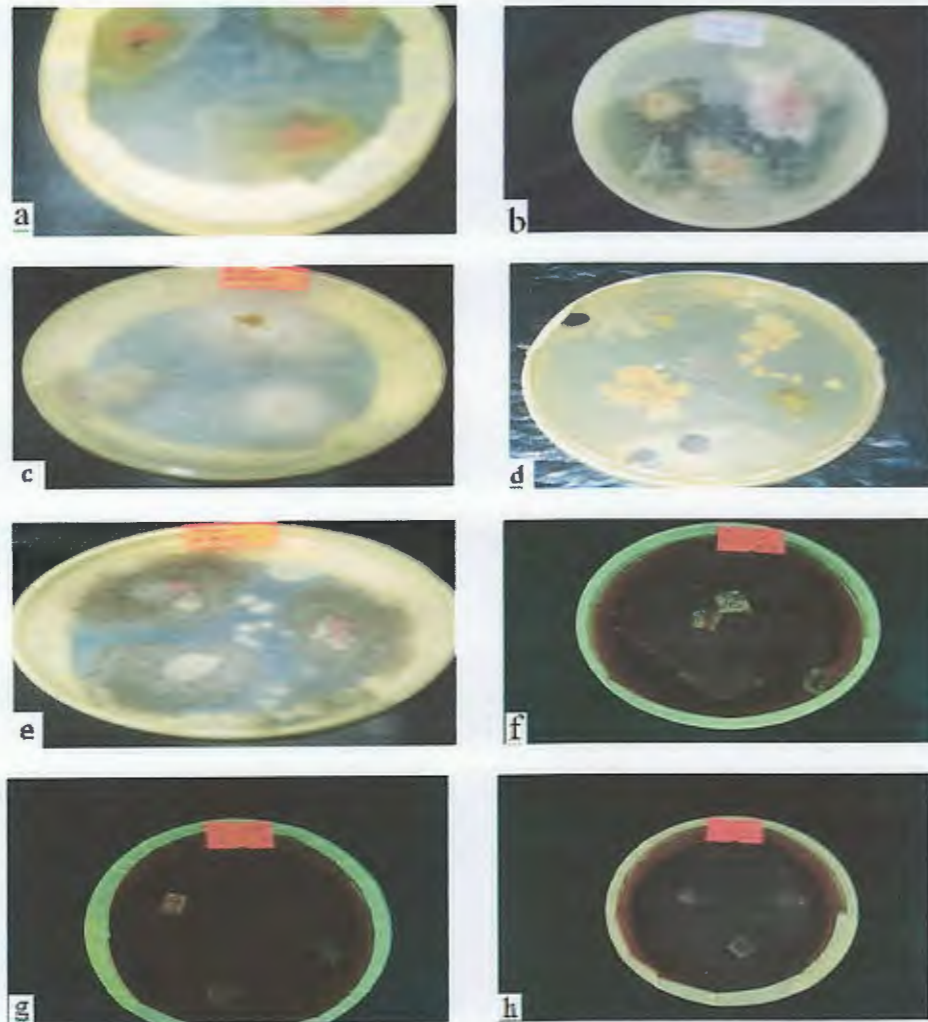
Après l'incubation du *Phytophthora capsici* à 28°C pendant 8 jours, les colonies ont été développées différemment sur le milieu V- 8 selon les différents organes, et on a constaté que la suspension racinaire a donné des colonies propres (Figure 3).



**Figure 3.** Les différentes colonies développées à partir des organes du poivron infecté par le champignon *Phytophthora capsici* : (a, b) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des racines ; (c, d) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des tiges ; (e, f) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des feuilles ; (g, h) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des fruits.

## 2.2-Isolement de l'agent antagoniste :

Les antagonistes (champignons et bactéries) sont développés après leur incubation, et donnèrent des colonies variantes (filament, couleur, aspect...etc) propre et non propre selon le genre (Figure 4).



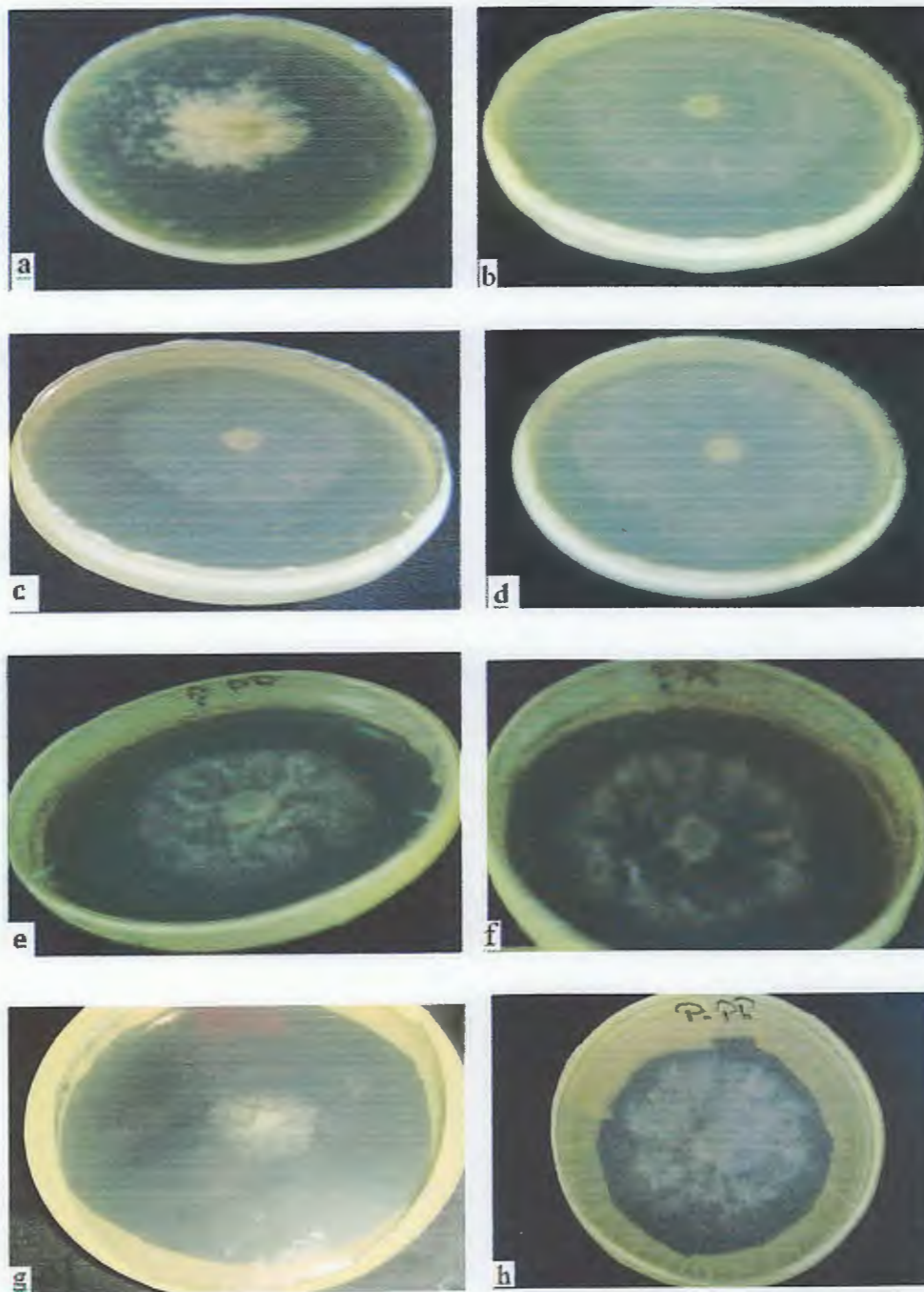
**Figure 4.** Les différentes colonies développées à partir des organes des végétaux infectées par des microorganismes (bactéries, champignons) : (a) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des feuille de poivron ; (b) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des fruits de tomate ; (c) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des fruits de courgette ; (d) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des fruits de chou ; (e) La colonie mycélienne issue de l'isolement à partir des fruits d'oignon ; (f) Les colonies bactériennes issues de l'isolement à partir des fruits de la tomate ; (g) Les colonies bactériennes issues de l'isolement à partir des fruits de chou ; (h) Les colonies bactériennes issues de l'isolement à partir des fruits d'oignon.



### 3-Purification :

#### 3.1-Purification de l'agent pathogène: *Phytophthora capsici*.

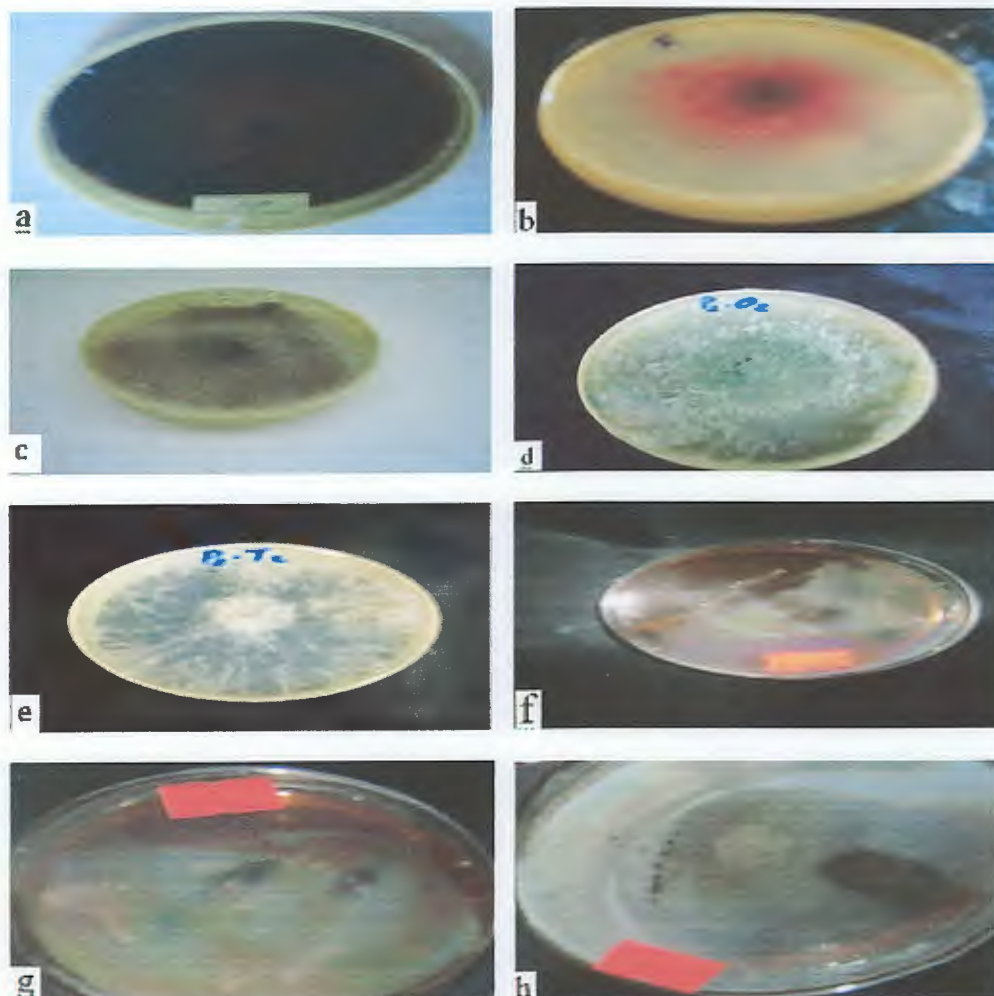
Le résultat de la purification de *Phytophthora capsici* après l'incubation à 28°C a donné des colonies pures (Figure 5).



**Figure 5.** Les colonies de *Phytophthora capsici* issues de la purification des isolats : (a, e) La colonie mycélienne issue de la purification à partir des racines; (b, f) La colonie mycélienne issue de la purification à partir des tiges ; (c, g) La colonie mycélienne issue de la purification à partir des feuilles ; (d, h) La colonie mycélienne issue de la purification à partir des fruits.

### 3.2-Purification des agents antagonistes :

La purification des antagonistes (champignons bactéries) sont développés après leur incubation, et donnèrent des colonies propres (Figure 6).



**Figure 6.** Les colonies des antagonistes issues de la purification des isolats : (a) La colonie mycélienne issue de la purification de champignon antagoniste à partir des feuilles de poivron ; (b) La colonie mycélienne issue de la purification champignon antagoniste à partir de courgette ; (c) La colonie mycélienne issue de la purification de champignon antagoniste à partir de chou ; (d) La colonie mycélienne issue de la purification de champignon antagoniste à partir de l'oignon ; (e) La colonie mycélienne issue de la purification de champignon antagoniste à partir de la tomate ; (f) La colonie bactérienne issue de la purification des bactéries antagoniste à partir de la tomate ; (g) La colonie bactérienne issue de la purification des bactéries antagoniste à partir d'oignon ; (h) La colonie bactérienne issue de la purification des bactéries antagoniste à partir de chou.

#### 4-Identification :

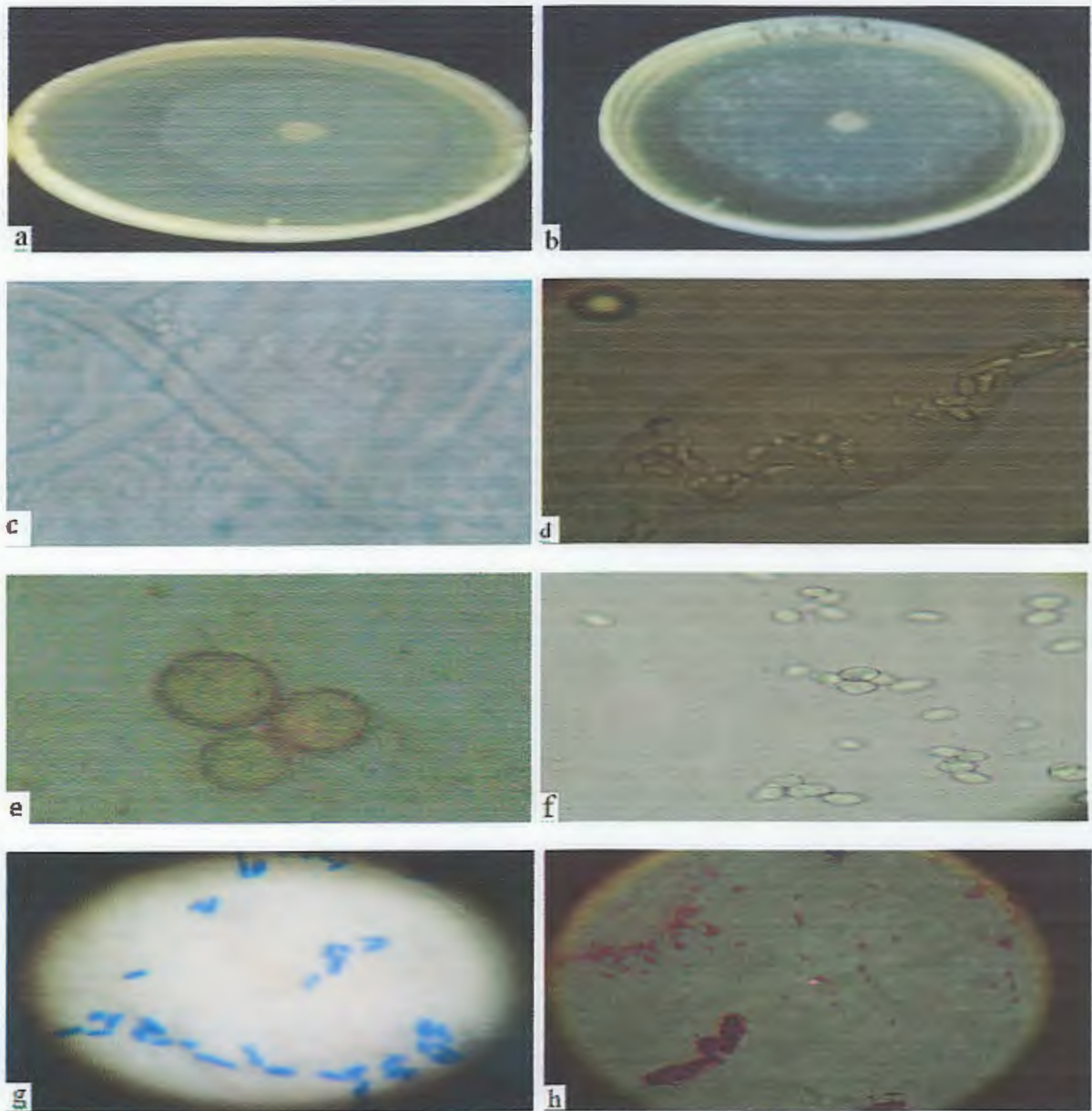
##### 4.1- Agent pathogène : *Phytophthora capsici*.

La première étape est la plus importante pour identifier les isolats de *Phytophthora capsici*, et d'avoir une culture propre constitué d'un seul isolat (Jeffers, 2006). En général, l'identification de *Phytophthora capsici* est basée principalement sur trois critères morphologiques: La morphologie des colonies, Caractéristiques des sporanges et de mycélium (Babadoost, 2004).

Les caractères d'identification macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier cette espèce seion Jeffers (2006) (Tableau II ; Figure 7).

**Tableau II.** Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de *Phytophthora capsici* avec la source d'isolement.

Source	Observation macroscopique	Observation microscopique
Poivron	-Colonies laineuse -La couleur blanche -Forme presque arrondie	-Mycélium non cloisonné -Les sporanges sont de forme citronnée, ovoïde, papilleuse et effilées à la base avec pédicelles longs -Zoospores arrondie ou ovoïde -Chlamydospores sphériques



**Figure 7.** Caractères macroscopiques et microscopiques (x 40, x100) de *Phytophthora capsici* :

(a) La colonie mycélienne issue de la purification de *Phytophthora capsici* (verso) ; (b) La colonie mycélienne issue de la purification de *Phytophthora capsici* (recto), (c) le mycélium de *Phytophthora capsici* ; (d, f) Sporange de *Phytophthora capsici* ; (e) Les chlamydospores de *Phytophthora capsici* ; (g) les sporanges de *Phytophthora capsici* avec coloration de lactophénole ; (h) Les spores (sporangies et zoospores) de *Phytophthora capsici* par coloration de fushine.

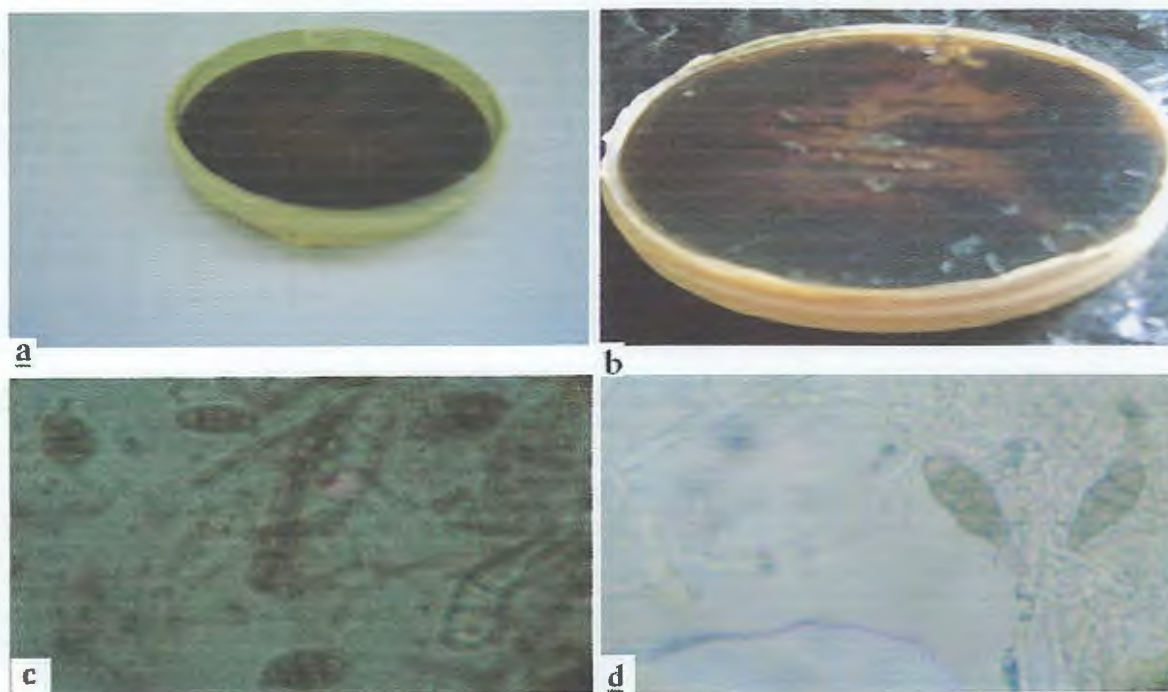
4.2-Champignons antagonistes :

4.2.1- *Alternaria solani* :

Les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier cette espèce selon Watanabe (2002), Botton *et al.* (1990) et Cahanier et Richard (1998) (Tableau III ; Figure 8).

**Tableau III.** Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques d'*Alternaria solani* avec la source d'isolement.

Source	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Feuille de poivron	-Colonies veloutées -La couleur marron -Forme régulier	-Mycélium septé -Conidiophore septé -Conidies irrégulière avec extrémité apicale



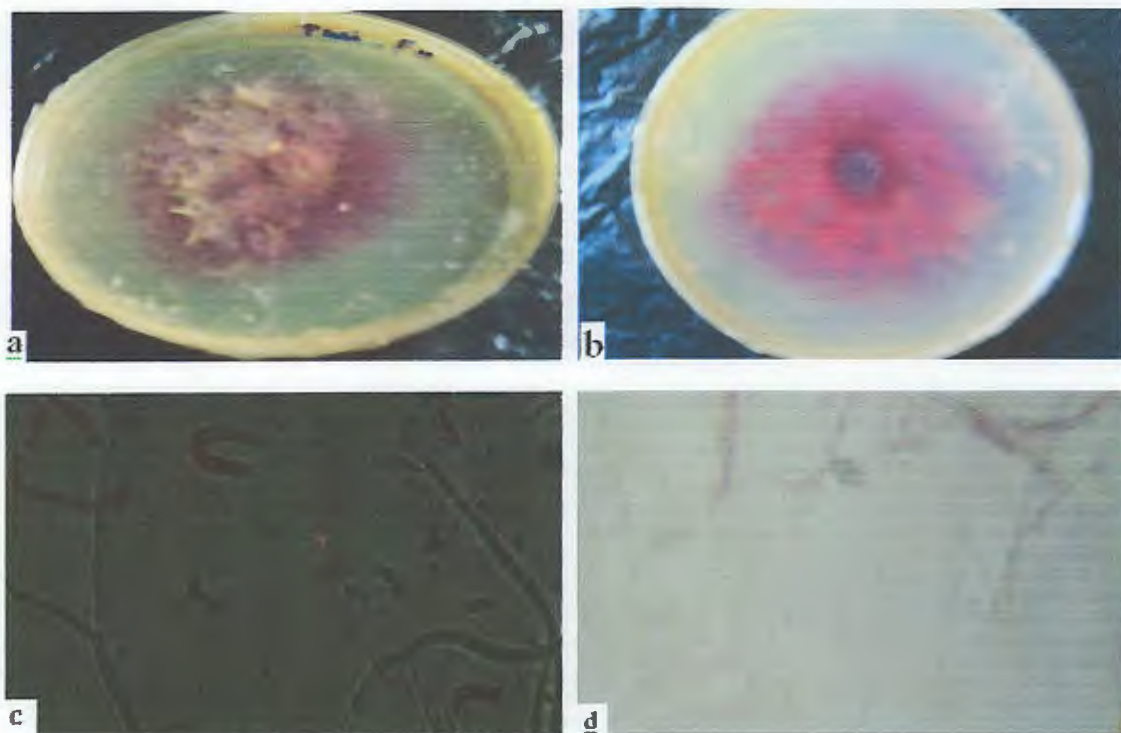
**Figure8.** Caractères macroscopiques et microscopiques (x40, x100) d'agent antagoniste *Alternaria solani* : (a,b) Colonies résultantes de la purification d'*Alternaria solani* (recto, verso) ; (c,d) Mycélium et conidies d'*Alternaria solani*.

4.2.2- *Fusarium oxysporium* :

Les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier cette espèce selon Watanabe(2002), Botton et *al.* (1990) (Tableau IV ; Figure 9).

**Tableau IV.** Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de *Fusarium oxysporium* avec la source d'isolement.

Source	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Courgette	-La colonie cotonneuse -La couleur grenat et revers rouge -Forme régulier	-Mycélium cloisonnée -Conidiophores ramifiés -Conidies fusiformes



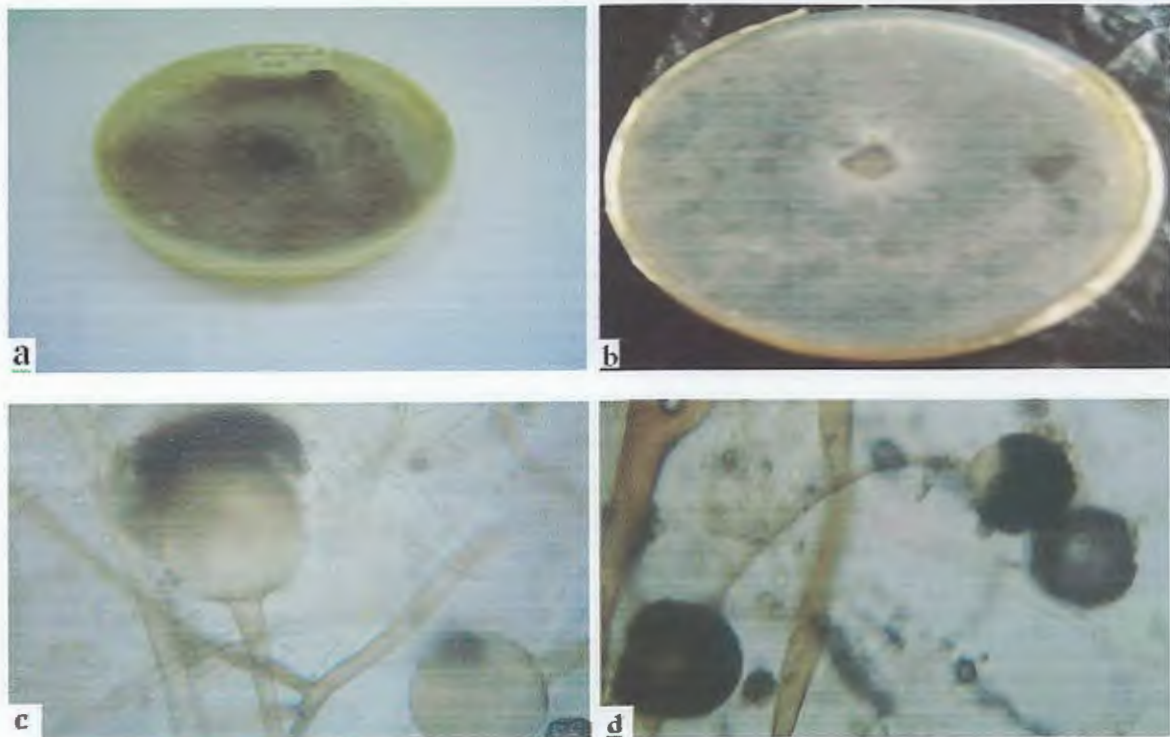
**Figure 9.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes *Fusarium oxysporium* : (a, b) Colonies résultantes de la purification de *Fusarium oxysporium* (recto, verso) ; (c,d) Conidies et mycélium de *Fusarium oxysporium*.

4.2.3-Genre *Aspergillus sp* :

Les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier ce genre selon Cahagnier et Richard (1998) (Tableau V ; Figure 10).

**Tableau V.** Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques d'*Aspergillus sp* avec la source d'isolement.

Source	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Chou-fleur	-Colonies laineuse -La couleur grise-vert -Forme régulier	-Mycélium septé -Conidiophore non cloisonné contient des phialide bien dressés -Conidies globuleux



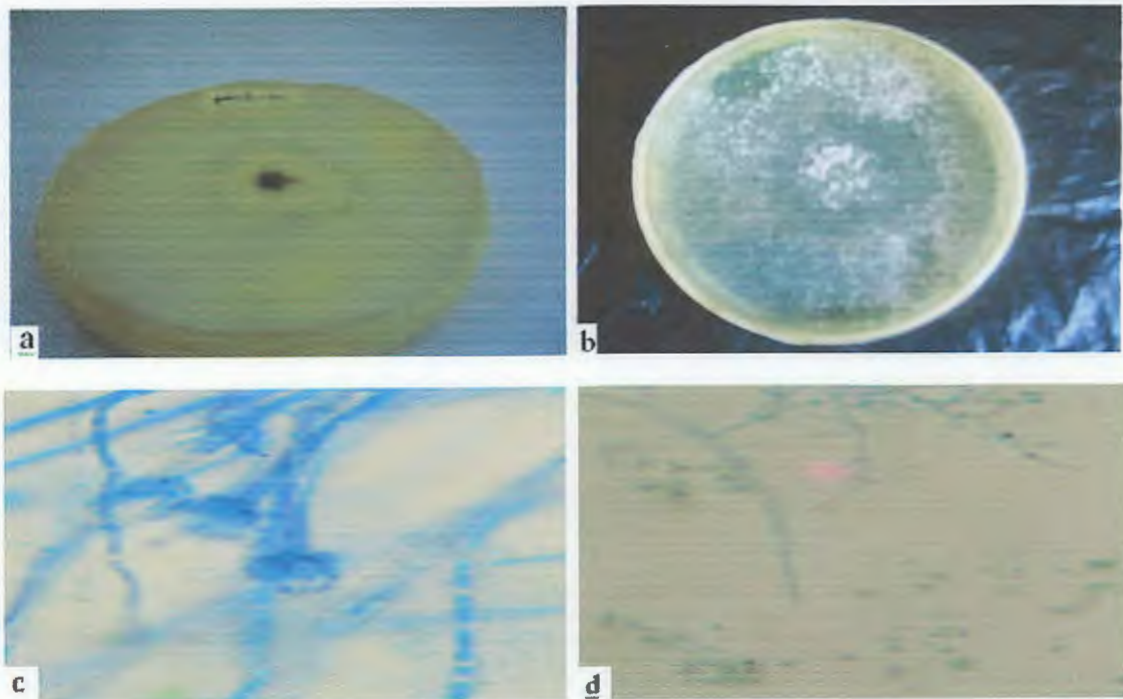
**Figure 10.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes *Aspergillus sp* : (a, b) Colonies résultantes de la purification d'*Aspergillus sp* (recto, verso) ; (c,d) Conidies et mycélium d'*Aspergillus sp*.

4.2.4-Genre *Trichoderma* sp :

Les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier ce genre selon Watanabe(2002), Botton et al. (1990) (Tableau VI ; Figure 11).

**Tableau VI.** Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de *Trichoderma* sp avec la source d'isolement.

Source	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Oignon	-Couleur vert foncé -Colonie poudreux et plissé -Forme irrégulière	-Mycélium cloisonné abondamment ramifiés  -Les spores rondes ou ellipsoïdales  -Phialides ovoïdes



**Figure 11.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes *Trichoderma* sp : (a, b) Colonies résultantes de la purification de *Trichoderma* sp (recto, verso) ; (c,d) Conidies et mycélium de *Trichoderma* sp.

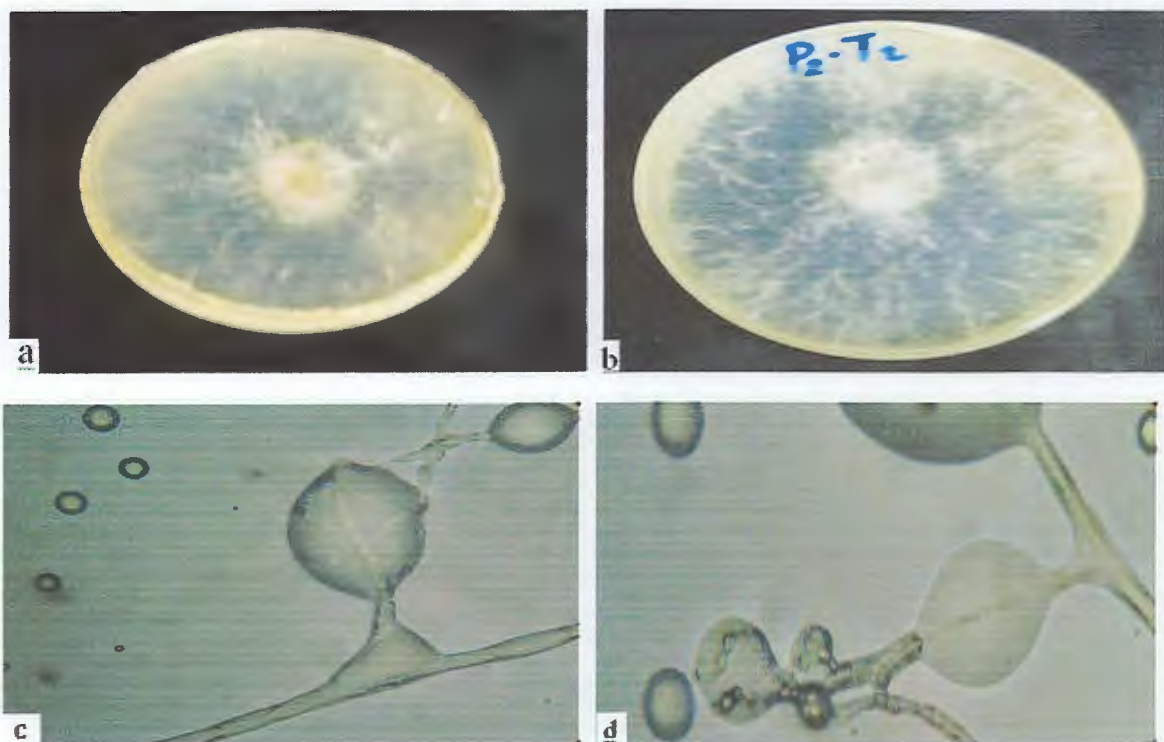


4.2.5-Espèce *Phytophthora parasitica* :

Les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier ce genre selon Galiana et al. (2008)(Tableau VII ; Figure 12).

**Tableau VII.** Les principaux caractères macroscopiques et microscopiques de *Phytophthora parasitica* avec la source d'isolement.

Source	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Tomate	-Colonies laineuse -La couleur blanche -Forme régulier	-Mycélium non cloisonné -Sporanges citronnées -Spores ronde



**Figure 12.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes *Phytophthora parasitica* : (a, b) Colonies résultantes de la purification de *Phytophthora parasitica* (recto, verso) ; (c,d) Conidies et mycélium de *Phytophthora parasitica*.

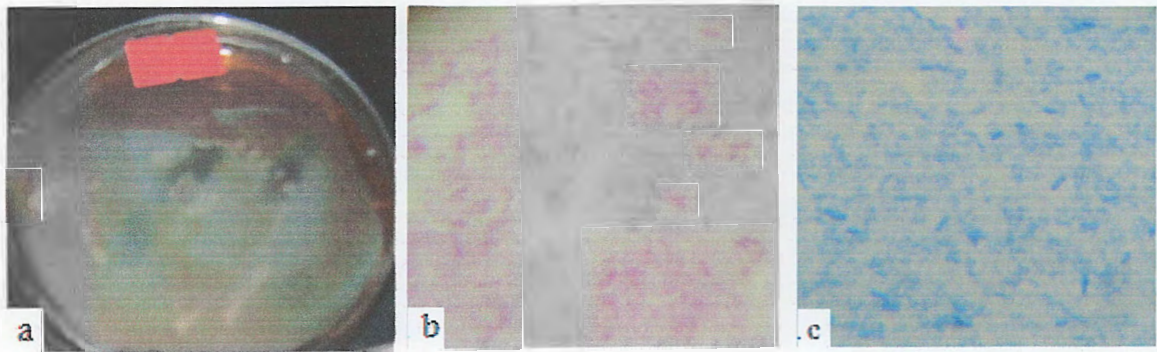
**4. 3- Bactéries antagonistes :**

**4.3.1-Genre *Erwinia sp*:**

Les symptômes et les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier ce genre *Erwinia sp* selon Delahaut et Stevenson (2004) et Snaiki et al. (2006) (Tableau VIII ; Figure13).

**Tableau VIII.** Les principaux symptômes et caractères macroscopiques et microscopiques d'*Erwinia sp* avec la source d'isolement.

Source	Symptômes	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Oignon	-Une odeur nausée abonde -Aspect humide et aqueuses -Couleur brun	- Colonies de couleur jaune. - Circulaire. -Luisantes	-Forme bacille - Mobile -Gram négatif - Isolé déposé par deux



**Figure 13.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagonistes *Erwinia sp* :

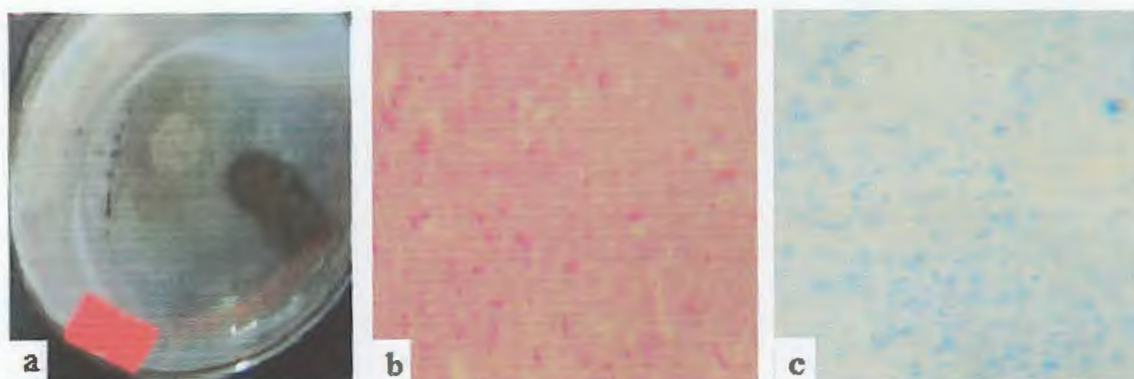
(a) Colonies résultats de purification de l'agent antagoniste *Erwinia sp*; (b) La bactérie *Erwinia sp* par coloration de Gram; (c). La bactérie *Erwinia sp* par coloration de bleu de méthylène.

**4.3.2-Genre *Xanthomonas sp*:**

Les symptômes et les caractères macroscopiques et microscopiques permettent d'identifier ce genre *Xanthomonas sp* selon Shenge et al. (2007) (Tableau IX; Figure14)

**Tableau IX.** Les principaux symptômes et caractères macroscopiques et microscopiques de l'espèce *Xanthomonas sp* avec la source d'isolement.

Source	Symptômes	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
- Chou-fleur	-pourriture sur les fruits - Couleur noir	-Les colonies sont grandes -Lisses -Jaunes à bords entiers	-Forme bacille - Mobile -Gram négatif



**Figure14.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagoniste *Xanthomonas sp*:

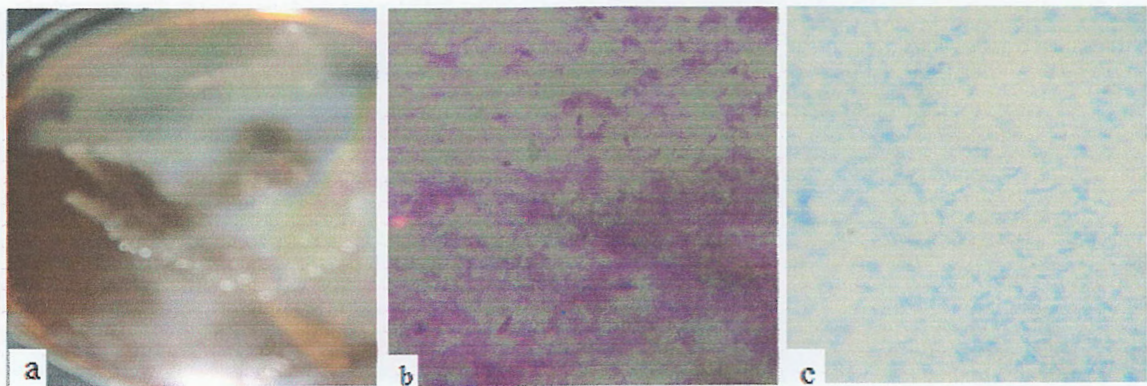
(a) Colonies résultats de purification de l'agent antagoniste *Xanthomonas sp* ; (b) La bactérie *Xanthomonas sp* par coloration de Gram; (c) La bactérie *Xanthomonas sp* par coloration de bleu de méthylène.

**3.3.3-Bactérie inconnu :**

Les symptômes et les caractères macroscopiques et microscopiques d'une bactérie inconnue (Tableau X; figure15).

**Tableau X.** Les principaux symptômes et caractères macroscopiques et microscopiques d'une bactérie inconnue avec la source d'isolement.

Source	Symptômes	Caractères macroscopiques	Caractères microscopiques
Tomate	-Des taches brunes au centre.  -Entouré avec un halo blanchâtre.	-Les colonies sont luisantes.  -Circulaires.  -Jaunes.	-Forme bacille  - Mobile  -Gram négatif



**Figure15.** Caractères macroscopiques et microscopiques de l'agent antagoniste inconnu:

(a) Colonies résultats de purification d'un agent antagoniste inconnu; (b) La bactérie inconnue par coloration de Gram; (c) La bactérie inconnue par coloration de bleu de méthylène.

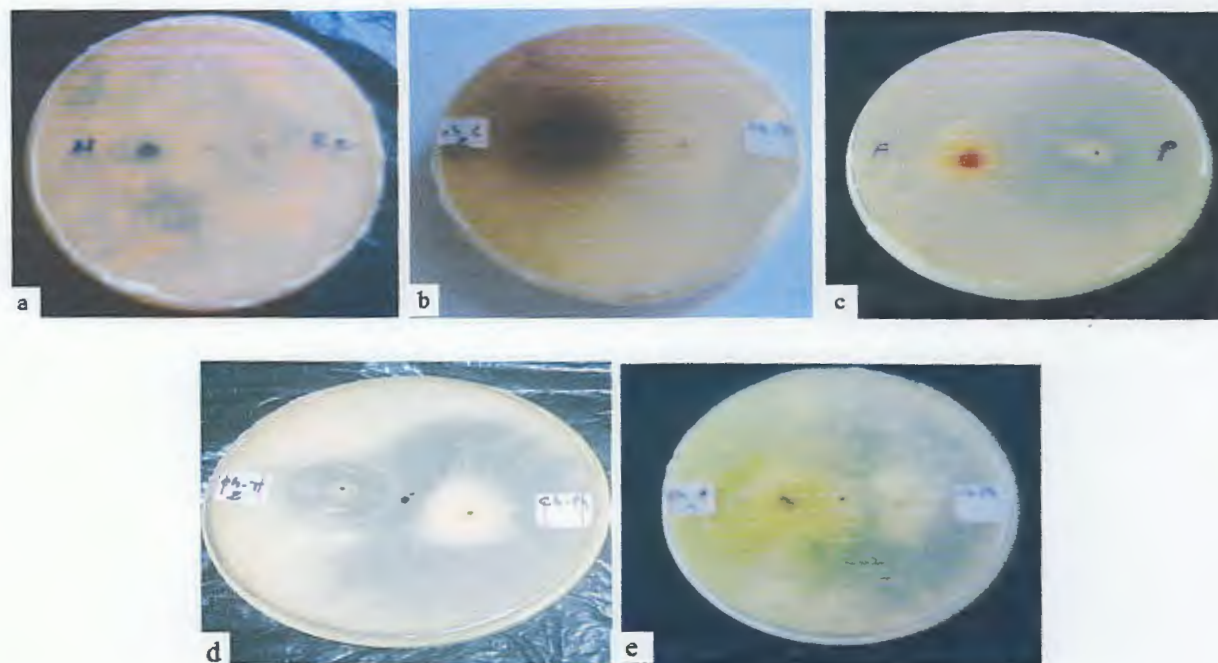
## 5-Tests biologiques

### 5-1. Tests biologiques par les champignons:

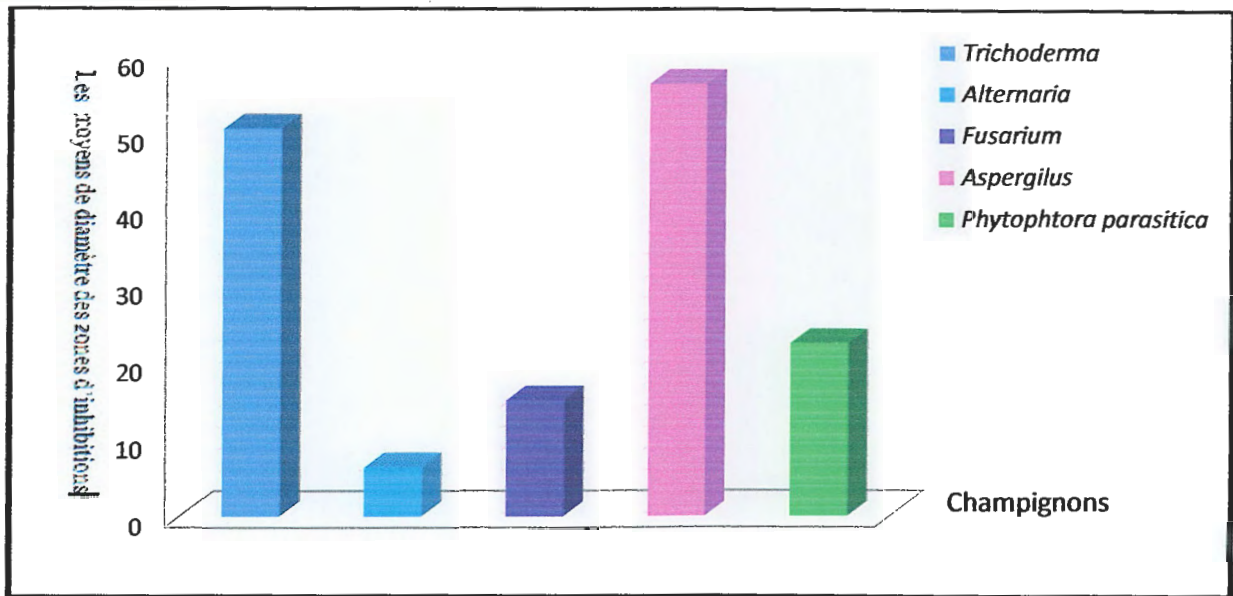
Les résultats obtenus après 6 jours d'incubation sont photographiés (Figure16) et représentés par un histogramme (Figure17), ont montré qu'il y a des différences des moyens de diamètres de la zone d'inhibition des champignons testés envers le champignon *Phytophthora capsici*.

L'*Aspergillus* a marqué la grande zone avec un diamètre moyen de 5,65 mm, par contre l'*Alternaria* a marqué la petite zone avec un diamètre moyen de 0,63mm.

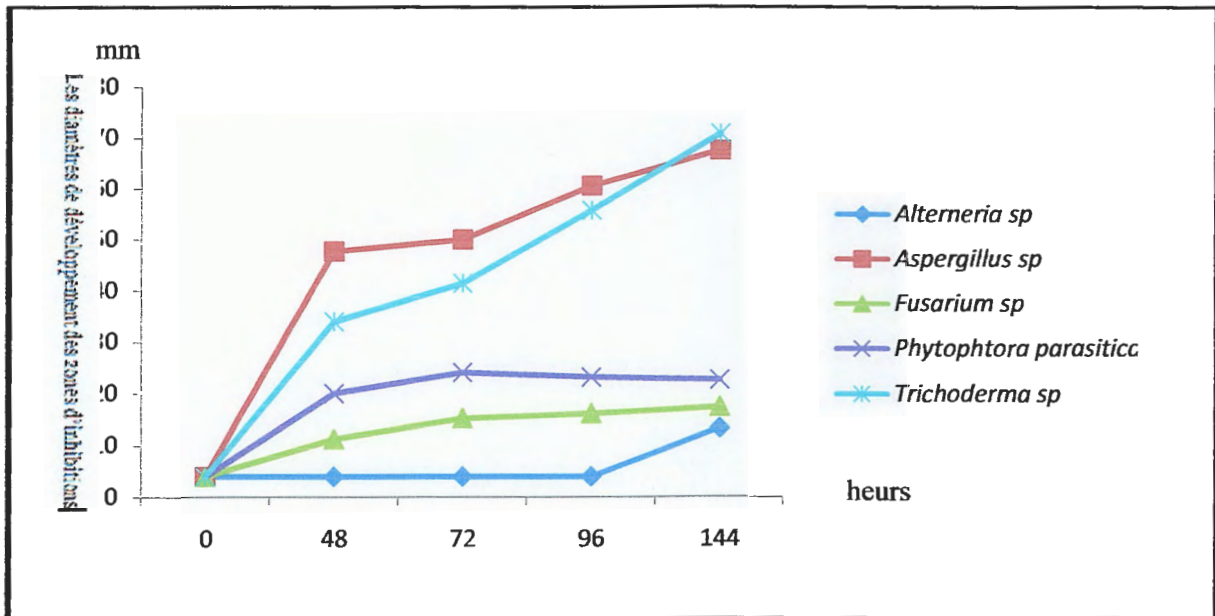
Si on veut étudier l'extension de ces zones d'inhibition, on remarque qu'elles sont corrélées avec le temps, chaque zone d'inhibition de chaque champignon s'accroît parallèlement avec le temps (Figure).



**Figure16.** Effet inhibiteur des champignons antagonistes sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici* après 6 jours d'incubation à 28°C: (a) Effet inhibiteur d'*Alternaria sp* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*; (b) Effet inhibiteur d'*Aspergillus sp* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*; (c) Effet inhibiteur de *Fusarium sp* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*; (d) Effet inhibiteur de *Phytophthora parasitica* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*; (e) Effet inhibiteur de *Trichoderma sp* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*.



**Figure17.** Comparaison entre les moyennes de diamètre des zones d'inhibition des champignons antagonistes.



**Figure18.** Comparaison entre les diamètres de développement des zones d'inhibition des champignons antagonistes.

Au cours de l'interaction de nombreux champignons antagonistes (*Trichoderma sp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium oxysporium*, *Alternaria solani* et *Phytophthora parasitica*) avec l'agent pathogène *Phytophthora capsici* les résultats présente que la croissance mycélienne de l'agent pathogène *Phytophthora capsici* est variable selon l'antagoniste et stoppé aux cours de 6jours de confrontation directe.

La présence de *Trichoderma sp* et *Aspergillus sp* dans le milieu de culture réduit considérablement la croissance mycélienne d'isolat *Phytophthora capsici* à des pourcentages variable. Ils ont recouvert au cours de 6 jours presque toute la surface des colonies de l'agent pathogène *Phytophthora capsici*. Tandis que l'*Aspergillus sp* a montré une plus grande compétition pour l'espace et les nutriments par apport au *Trichoderma sp*.

Les résultats obtenus sont similaire avec les résultats signalait antérieurement par Ezziyyani et al (2009) ; Noveriza et Quimio (2007) qui ont montré que l'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène *Phytophthora capsici* par les antagonistes *Trichoderma sp* et *Aspergillus sp* à de taux d'inhibition variable.

Nos résultats sont confirmées par Moayedi et André (2009) qui ont montré l'effet inhibiteur de *Trichoderma sp* au *Phytophthora capsici* par l'action des enzymes en produisant des divers métabolites toxiques et des antibiotiques qui impliquent dans l'inhibition et la lyse de mycélium des champignons pathogènes.

D'autre part, les résultats de contacte par confrontation directe des champignons antagonistes (*Fusarium oxysporium*, *Alternaria solani* et *Phytophthora parasitica*) avec l'agent pathogène *Phytophthora capsici* montre que ces champignons n'inhibe pas la croissance mycélienne de (*Phytophthora capsici*), donc il y a une augmentation significatif de la densité de la population de l'agent pathogène (*Phytophthora capsici*) qu'est recouvrent presque toute la surface de milieu a cause d'un action enzymatique des métabolites toxiques qui inhibent la croissance mycélienne des agents antagonistes.

Dans le même sens, Fernandez-Herrera et al. (2007) montré que l'effet de l'agent antagoniste *Fusarium oxysporium* sur l'agent pathogène *Phytophthora capsici* est négatif.

### 5-2. Tests biologiques par les bactéries :

Les résultats de l'interaction des bactéries antagonistes (*Erwinia sp*, *Xanthomonas sp* et la bactérie inconnue) avec le champignon *Phytophthora capsici* sont mentionnés dans la figures(19) et représenté par un histogramme (figure 20), ont montré qu'il ya des différences entre les zones d'inhibitions.

La bactérie inconnue a enregistré la grande zone avec un moyen de diamètre 6,2 mm, et les bactéries *Erwinia sp* et *Xanthomonas sp* ont enregistré la petite zone.



**Figure19.** Effet inhibiteur des bactéries antagonistes sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici* après 3 jours d'incubation à 28°C : (a) Effet inhibiteur d'*Erwinia sp* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*; (b) Effet inhibiteur de *Xanthomonas sp* sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*; (c) Effet inhibiteur de bactérie inconnue sur la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici*,



**Figure 20.** Comparaison entre les moyens de diamètre des zones d'inhibition des bactéries antagonistes



Nos résultats montrent que, la colonie bactérienne de l'*Erwinia sp Xanthomonas sp* et la bactérie inconnue ne développe pas au cours de l'interaction avec le champignon pathogène *Phytophthora capsici*.



# ***Conclusion***

## Conclusion

Le poivron (*Capsicum annuum*) est une espèce tropical, mais elle est adaptée à une culture en zone tempérée pendant le printemps et elle est cultivée sous abri toute l'année. C'est une plante annuelle mais quelque fois comme plante vivace à vie courte dans les jardins familiaux. Elle est cultivée pour ces fruits largement utilisé à l'état frais, comme des épices et en médecine.

Le *Phytophthora capsici*, est un agent pathogène du sol appartenant à la classe des oomycètes qui provoque une grande perte à la production du poivron (*Capsicum annuum*) dans le monde.

Pour réduire les risques de cette maladie, des nombreux producteurs utilisent des différentes méthodes qui peuvent être des méthodes physiques, chimiques, génétiques, culturales et biologiques. Ces derniers consistent à combattre une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme.

Des nombreux bactéries et champignons possèdent une capacité d'antagoniste contre d'autres micro-organismes.

Après l'isolement et l'identification des agents antagonistes qui se fait par l'examen macroscopique et microscopique, on a identifié sept isolats antagonistes utilisés contre l'agent pathogène *Phytophthora capsici*, classé à cinq champignons appartenant aux genres suivants : *Alternaria sp* , *Aspergillus sp* , *Fusarium sp* , *Phytophthora parasitica* et *Trichoderma sp*, et deux bactéries appartenant aux genres : *Erwinia sp* et *Xanthomonas sp* avec un isolat bactérienne inconnue.

Au cours de ces essais, les résultats obtenus montre que les souches de *Trichoderma sp* et d'*Aspergillus sp* possèdent la capacité de réduire la croissance mycélienne de l'agent pathogène *Phytophthora capsici* à des pourcentages respectivement 59,41% et 66,44%.

De plus, le *Phytophthora capsici* est un champignon résistant envers les antagonistes utilisées : *Alternaria solani* , *Fusarium sp*, *Phytophthora parasitica*, *Erwinias sp*, *Xanthomonas sp* et la bactérie inconnue.

## References bibliographiques:

- Babadoost M., 2004.** *Phytophthora* blight: a serious threat to cucurbit industries. University of l'Illionois, 14p.
- Bencheqroun S., 2009.** Etude de mécanisme d'action implique dans le biocontrolle d'une souche d'Aureobasidium pullulance (de Bary) Arnaud vis-a-vis de *Penicillium expansum* sur pommes en post-récolte. Université de Liege, Belgique, 104p.
- Benhamou N. and Chet I., 1996.** Parasitism of sclerotia by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* **86**: 405–416.
- Beyries A., Leroux J.P. et Messian C. M., 1965.** Essaie de lutte contre *Phytophthora capsici* par addition de fongicides solubles dans l'eau d'arrosage. Ann phytopathologie, 166:14-22.
- Bilodeau G.J., 2008.** Détection et génomique de *Phytophthora ramorum* agent causal de la mort subite de chêne. Université LavaL, Canada.
- Blancard D., 1998.** Maladies du tabac ; observer, identifier, lutter, INRA, Paris, 294-295.
- Boiron P., 1996.** Organisation et biologie des champignons. Nathan, Paris, 51-58.
- Bousseboua H., 2002.** Microbiologie générale. Université Mentouri Constantine, Algerie.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. et Veau P., 1990.** Identification des moisissures, In moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Masson, Paris, 36-204.
- Bud P., 2008.** Potato diseases caused by oomycète species pathogens. Canada.
- Cahagnier B. et Richard D., 1998.** Analyse mycologique, In moisissures des aliments peu hydratés, Lavoisier. TEC&DOC, Paris, 140-158.
- Candy J., 2008.** Effet de la durée de compétition des mauvaises herbes sur la culture du poivron (*Capsicum annuum*). UNDH, Haïti, 57p.
- Cassier P., Brugerolle G., Combes C., Grain G. et Raibaut A., 1989.** Le parasitisme : un équilibre dynamique. Masson, Paris, 328p.

- Cerkauskas R., 2004.** Maladie pepper. AVRDC, Canada.
- Cristophe R., 2010.** Introduction à la phytopathologie. Université Luminy, Marseille, 16p.
- Daniel P.R., Hayoun S.L., Mary D. S., Park S.C., Ruy C. M., Rachel L.M. and Baily B. A., 2011.** Endophyte *Trichoderma* isolat. MPMI, 24(3): 336-351.
- Davet P. et Rouxel F., 1997.** Détection et isolement des champignons du sol. INRA, Paris, 360p.
- Delahaut K. et Stevenson W., 2004.** La pourriture molle bactérienne d'oignon. Uwex, Amerique.
- Ducattillon C., Van K.M. et Vandemeule B., 2006.** Le mildiou de la pomme de terre. CARAH, 2p.
- Erard P., 2002.** Le poivron. Ctifl, France, 20-23.
- Erwin D.C and Ribeiro O., 1996.** *Phytophthora* diseases worldwide. APS press, America.
- Ezziyyani M., Requena M.E., Egea-Gilabert C., Requena A.M. et Candela M.E., 2009.** Lutte biologique contre la pourriture racinaire *Phytophthora capsici* de poivron (*Capsicum annuum*) en utilisant *Burkholderia cepacia* et *Trichoderma harzianum*. Journal d'applied biosciences, (13): 745-754.
- Fauchère J-L., 1997.** Bactériofiche, techniques en bactériologie chimique. Ellipses, Paris, 12- 13.
- Fernandez-Herrera E., Acosta-Ramos M., Ponce-Gonzalez F. et Manuel-Pinto V., 2007.** La gestion biologique des *Phytophthora capsici* Leo, *Fusarium oxysporium* et *Rhizoctonia solani* chez la tomate. Journal de phytopathologie, (25): 35-42.
- Galiana E., Fourré S. et Engler G., 2008.** *Phytophthora parasitica* biofilm formation. Sofia Antipolis Cedex, France, 10 (8), 2164-2171.
- Gevens A.J., Roberts P.D., McGovern R.J. and Kucharek T.A., 1994.** Vegetable diseases caused by *Phytophthora capsici* in Florida. UF, Florida, 5p.
- Grubben G.J.H. et Mohamed E.I., 2004.** *Capsicum annuum* L. PROTA, Paysbas.
- Johnson S.A., 1999.** Plant pathology. NCSU, North Carolina.

**Jeffers S.N., 2006.** L'identification des espèces de *Phytophthora*. UC, Clemson.

**Jourdheuil P., Grison P. et Fraval., 1991.** La lutte biologique : un aperçu historique. INRA, France, 15, 37-60.

**Koç E. and Üstün A. S., 2011.** Influence of *Phytophthora capsici* L. inoculation on disease severity, necrosis length, peroxidase and catalase activity, and phenolic content of resistant and susceptible pepper (*Capsicum annum* L.) plants. Tübitak, Turkey.

**Krishna De.A., 2003.** Genre *Capsicum*: Aromatic and medicinal plants. Taylor and Francis, NewYork, 33: 275.

**Lanoux et Stephani A., 2002.** Lutte biologique. Sciences animales.

**Lefort F., 2010.** Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Hepia HES-SO, Genève.

**Leonian L. H., 1922.** Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici*. Phytopathology, 12(9): 401-408.

**Lepoivre P., 2003.** Champignons phytopathogènes, In phytopathologie. Debeek, Bruxelles, 130-131.

**Leroux P. et Gardan L., 2003.** La lutte chimique en phytopathologie, In phytopathologie, Lepoivre P., Debeek, Bruxelles, 319-320.

**Louws F.J., Holmes G.J. and Ivors K.L., 2008.** Pepper mildiou. NCSU, Carolina.

**Marouf A. et Raynaud J., 2007.** La botanique de A à Z. Dunod, Paris.

**McDonald G.V., 2007.** Efficacité sur la réduction des *Phytophthora capsici* en l'eau recyclée. A et M Université, Texas.

**Messian CM., Blancard D., Rouxel F. et Lafon R., 1991.** Les maladies des plantes maraichères, 3<sup>ème</sup> édition, INRA, Versailles (France).

**Moayedi G. et Mostowfizadeh A.G., 2010.** Activités antagonistes de *Trichoderma spp* sur les pourridies Phytophthoréen de la betterave à sucre. Université de Chiraz, Iran, 29 :1-2.

**Molot P. M. et Mas P., 1985.** La résistance du piment à *Phytophthora capsici*. INRA, Montfavet.

**Nasraoui B., 2006.** Les champignons parasites des plantes cultivés. Centre de Publication Universitaire, Tunisie, 229-323.

**Noveriza R. et Quimio T.H., 2007.** Mycroflore du sol de la rhizosphère de poivron noir. IJAS, Indonésia, 5(1): 1-10.

**Perry J., Staley J.T. et Lory S., 2004.** Microbiologie cours et questions de révision. Dunod, Paris.

**Rabasse J.M., 1985.** Lutte intégrée sur tomate en serre. Revue horticole, 257: 23-25.

**Rahme L.G., Sandy M.W., Ronald G.T., Stephen B.C. et Frederick M.U., 1997.** Utilisez des plantes hotes du modèle à identifier *Pseudomonas aeruginosa*. Pro. Natl. Acad. Sci. USA, 94.

**Regnault C. et Coord R. 2005.** Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture de l'environnement. TEC&DOC, Paris, 349p.

**Risoail P., 2005.** Bases et principe de diagnostic des mycoses muqueuses et cutanéophanéariennes. Faculté de Médecine Montpellier, Nimes, 8p.

**Roberts P.D., McGovern R.J., Kucharek T.A. et Mitchelle D.J., 2000.** Vegetable diseases caused by *Phytophthora capsici* in Florida. University of Floride, Florida, 6p.

**Rodriguez M., Luis Leon Sanchez M., Liudmila M. and Sabrina Lekeisha M.M., 2005.** Comportement de la population de la lutte antiparasitaire des champignons dans la culture de poivron (*Capsicum annum L.*). Université de Pinar delrio, Cuba.

**Rouxel T., 1989.** Les phytoalaxines et leur intervention dans la résistance hypersensible aux champignons phytopathogènes. Versailles cedex, France.

**Satur M.M. and Butler E.E., 1967.** A root and grown rot of tomato caused by *Phytophthora capsici* and *Phytophthora parasitica*. Phytopathology, (57): 510-115.

**Shenge K.C., Mabagala R.B. et Mortenson C.N., 2007.** Identification and characterization of strains of *Xanthomonas compestris pv. Vesicatoria* from Tanzania. Cornell University, New York, 6(1): 15-22.

**Skirej A., Elattir H. et Elfadl A., 2003.** Fiches techniques V : la tomate, l'aubergine, le poivron et le gombo. DERD, Maroc, 100, 4.

**Snaiki J., Nadif A. et Ouhssine M., 2006.** Détection biochimique d'*Erwinia carotovora sub sp carotovora* de tubercule de betterave sucrière atteint de pourriture molle. Bul. Soc. Pharma, Bordeaux, (145): 53-60.

**Stephen A.J., 1999.** Maladies des plantes. Phytopathology, America, (83) :12.

**Toussaint V., 1996.** Caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF76 antagoniste à *Phytophthora fragariae* var. Rubi causant le pourridié des racines du framboiser. Sherbrook Québec, Canada.

**Vincent C., Bernard P. et Francis F. L., 2000.** La lutte physique en phytoprotection. INRA, Paris, 15-16.

**Watanabe T., 2002.** Pictorial atlas of soil and seed fungi. CRC Press, USA, 578p.

**Zitter T. A., 1989.** Végétale cultures. Cornelle University, New York, 736p.

المراجع بالعربية:

طومسون ه. و ليام س. و كيليلي؛ 1989. محاصيل الخضراوات. الدار العربية للنشر والتوزيع. القاهرة.



### Résumé :

La lutte biologique est une moyenne bénéfique pour protéger les cultures de poivron (*Capsicum annuum*) qui a été toujours menacées par les pathogènes, principalement le champignon *Phytophthora capsici*. A cet égard on a fait des essais pour isoler le champignon principal (*Phytophthora capsici*) et les microorganismes antagonistes : *Alternaria solani*, *Aspergillus sp*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora parasitica*, *Erwinia sp*, *Xanthomonax sp* et une bactérie inconnue. Les résultats de tests biologiques ont donné une efficacité inhibitrice pour les champignons plus que les bactéries. L'*Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* marqués des grandes zones d'inhibition avec des pourcentages (66,44% et 59,41%) respectivement.

**Mots clés :** Lutte biologique, Poivron (*Capsicum annuum*), *Phytophthora capsici*,

### ملخص:

تعد مكافحة البيولوجية وسيلة فعالة لحماية مزارع الفلفل (*Capsicum annuum*) , الذي هو دائما مهدد من طرف عوامل ممرضة يتراهم فطر *Phytophthora capsici* . من اجل ذلك قمنا بإجراء تجارب لعزل الفطر الرئيسي (*Phytophthora capsici*) و الكائنات الدقيقة المضادة: (*Alternaria solani*, *Aspergillus sp*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora parasitica*, *Erwinia sp*, *Xanthomonax sp* ) و قد أسفرت نتائج الاختبارات على أن قدرة الفطريات على تثبيط نمو الفطر اكبر من قدرة البكتيريا, حيث أعطى الفطرين: (*Aspergillus sp* et *Trichoderma sp*) اكبر نسبة وذلك بالقيم التالية: 66,44% , 59,41% على الترتيب

**الكلمات المفتاحية:** مكافحة البيولوجية, الفلفل *Capsicum annuum*, الفطر *Phytophthora capsici*

### Abstract :

The biological fight is a beneficial average to protect the cultures from sweet pepper (*Capsicum annuum*) which was always threatened by the pathogenic ones, mainly the mushroom *Phytophthora capsici*. In this respect one carried out tests to isolate principal mushroom (*Phytophthora capsici*) and the antagonistic micro-organisms: *Alternaria solani*, *Aspergillus sp*, *Fusarium oxysporium*, *Phytophthora parasitica*, *Erwinia sp*, *Xanthomonax sp* and an unknown bacterium. The biological results of tests gave an inhibiting effectiveness for mushrooms more than the bacteria. Marked *Aspergillus sp* and *Trichoderma sp* great zones of inhibition with percentages (66,44% and 59,41%) respectively.

**Key words:** Biological fight, Sweet pepper (*Capsicum annuum*), *Phytophthora capsici*,