



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف
UNIVERSITÉ CHADLI BENDJEDID D'EL-TARF



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des sciences biologiques

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Master académique en
Ecologie et Environnement

Option

Agro-Environnement et Bio-Indicateurs

Thème

Etude du modèle phytopathologique de l'espèce fongique
Colletotrichum gloeosporioides sur les arachides cultivées dans le bassin
versant du lac Oubeira - Région d'El Tarf (Nord est Algérien)

Présenté par par l'étudiant
Saber LAGUEL

Validé par le jury :

Présidente : Dr. Mouissi S. MCB UCBT
Promotrice : Mme KACHOUR L. MAA UCBT
Examinatrice : Dr. Delimi A. MCA UCBT

Année universitaire 2021– 2022

ABSTRACT

The aim of our investigation is to suggest an infection diagram determining the of fungal attack type that applies the phytopathogenic fungus *Colletotrichum gloeosporioides* on groundnut plants grown in agrarian fields close to the Oubeira lake. Conventional microbiology techniques have been applied to isolate the plant pathogen causing the decay of plants collected from the field, it was about (i) the microbiological isolation of the agent *C. gloeosporioides* from soil samples and samples of mainly rhizospheric plant materials ; (ii) the morphomicroscopic identification of the isolated fungus, (iii) phytopathological test on the different peanut organs, in experimental culture and, finally, (vi) the demonstration of a pathogenicity linked to the collar.

Key words:

Phytopathology, *Colletotrichum gloeosporioides*, Lake Oubeira, *Arachis hypogea*, root rot.

الهدف من هذه الدراسة هو اقتراح مخطط لتحديد طريقة الإصابة بالفطر الممرض للنبات *Colletotrichum gloeosporioides* على نباتات الفول السوداني المزروعة في مستجمعات المياه في بحيرة أوبيرا. تم تطبيق تقنيات ميكروبيولوجية تقليدية ل (1) عزل مسببات الأمراض النباتية التي تسبب ذبول النباتات التي تم رصدها في الحقل. (2) التعريف المجهرى للفطر المعزول ، (3) الاختبار المرضي للنباتات على أعضاء الفول السوداني المختلفة ، من خلال الزراعة التجريبية ، وأخيراً (4) إظهار القدرة الممرضة للفطر على مستوى اسفل ساق النبتة.

الكلمات المفتاحية :

Colletotrichum بحيرة أوبيرا ، مناخ البحر الأبيض المتوسط علم الأمراض النباتية ،
تعفن الجذور، *Arachis hypogea* ، *Oubeira* ، بحيرة *gloeosporioides*

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude est de proposer un schéma déterminant le mode d'infection que forme le champignon phytopathogène *Colletotrichum gloeosporioides* sur les plants d'arachide cultivés au bassin versant du lac Oubeira. Des techniques microbiologiques classiques ont été appliquées pour l'isolement de l'agent phytopathogène causal du flétrissement des plants repérés sur champ, il s'agit de (i) l'isolement microbiologique de l'agent *C. gloeosporioides* à partir d'échantillons de sol et de Des échantillons de matériel végétal principalement rhizosphérique ; (ii) l'identification morphomicroscopique de champignon isolé, (iii) le test phytopathologique sur les différents organe de l'arachide, en culture expérimentale et, enfin, (vi) la mise en évidence d'un pouvoir pathogène lié au collet.

Mots clés:

Phytopathologie, *Colletotrichum gloeosporioides*, lac Oubeira, *Arachis hypogea*, pourriture racinaire.

LISTE DES FIGURES

Figure	page
Fig.1. Arbre généalogique simplifié, montrant la position des Oomycètes par rapport aux champignons vrais au sein du domaine des Eucaryotes (Kamoun 2006).	3
Fig.2. <i>Saprolegnia</i>. Elements de la reproduction asexuelle (Kirk et al. 2008).	4
Fig.3. Cycle de vie asexué et sexué des oomycètes (Robideau et al. 2011).	6
Fig.4. Mode de pénétration des chytridiales à travers le tissu épithélial; tubes germinatifs	11
Fig.5. pourriture de la racine, agent causal de la fonte des semis (Hartmann et al. 2015).	13
Fig.6. Chlamydiospore intracellulaire colonisant la racine végétale (Nzungize et al. 2012).	14
Fig.7. Localisation géographique du site d'étude (Belbacha et al. 2009).	17
Fig.8. Turbidité élevée des eaux de lac Oubeira lors de l'échantillonnage.	18
Fig.9. Mise en culture des isolats dans les conditions d'asepsie rigoureuse.	22
Fig.10. Schéma simplifié des étapes expérimentales.	24
Fig.11. Fonte des semis d'arachides, âgés de moins de 3 mois (photographie personnelle, Juin 2020).	26
Fig.12. Semis d'arachides atteints de pourriture racinaire typique de Pythiose (Touffe blanche typique), photographie personnelle prise sur fond noir 2020).	27
Fig.13. Aspects divers des colonies d'Oomycètes, développées sur gélose à base de V8.	30
Fig.14. Chlamydospores caractéristiques du genre <i>Phytophthora</i> (Gx40).	30
Fig.15. Spores à contour irrégulier typique de l'espèce <i>Phytophthora capsici</i> (Gx40).	31
Fig.16. Ramification multiple du sporange typique de l'espèce <i>Phytophthora parasitica</i> (Gx40).	31
Fig.17. : <i>Phytophthora infestans</i> à arborescence typique (Gx40).	32
Fig.18. Anthéridies développées sur un mycélium mature du genre <i>Albugo</i> sp. (Gx40, taille élargie).	32
Fig.19. Oospores repérée à proximité des anthéridies chez le genre <i>Albugo</i> (Gx40).	33
Fig.20. <i>Pythium oligandrum</i> (Gx40).	31
Fig.21. ramifications génératrices de sporanges chez <i>Phytopythium</i> (Gx20).	34
Fig.22. sporange à prolifération subterminale de <i>Phytopythium</i> (Gx20).	34
Fig.23. Apex du mycélium mature typique du genre <i>Saprolegnia</i> (Gx40).	35
Fig.24. <i>Saprolegnia</i> sp (Gx40).	35
Fig.25. <i>Achlya</i> sp. (Gx40).	36
Fig.26. libération d'Oospores au niveau du sporange mature, des organes de fructification, sponages sphériques à paroi épaisse, caractéristiques du genre <i>Aphanomyces</i> en phase sexuée (Gx40).	37
Fig.27. Mycélim caractéristique des éléments du genre <i>Aphanomyces</i> (Gx40).	37
Fig.28. : oogone d'<i>Aphanomyces</i> helicoides entourée d'anthéridie en forme spirale, phase sexuée (Gx60).	38
Fig.29. Répartition des <i>Pythiaceae</i> mis en évidence, avec une prédominance de <i>Pythium</i>.	39
Fig.30. Représentation de l'abondance des oomycètes saprotrophes selon le substrat associé	40

LISTE DES TABLEAUX

tableau	titre	page
Tab.1.	Récapitulatif des pathologies pouvant attaquer les cultures végétales	9
Tab. 2.	composants de gélose PDB V8	20
Tab.3.	Concentrations des solutions d'antibiotiques/antifongiques, additionnées au milieu de culture.	21

SOMMAIRE

Introduction.....	1
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.1. Description générale des Oomycètes	3
1.1.1. Morphologie des zoospores, un critère de base pour la classification	4
1.1.2. Cycle de vie	5
1.1.2.1. Reproduction asexuée d'un oomycète	5
1.1.2.2. Reproduction sexuée d'un oomycète	5
1.1.3. Rôle des microorganismes aquatiques dans le flux bio-énergétique	7
1.1.4. Facteurs favorisant Phytophthora et Pythium dans sol	7
1.1.5. Pouvoir pathogène des oomycètes	9
1.1.6. Modèle théorique de l'infection	11
CHAPITRE 2 : PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
2.1. Problématique	16
2.2. Description du cadre géographique de l'étude	16
2.2.1. Propriétés physico-chimiques de l'eau	17
2.2.2 Activités anthropiques prédominantes dans le lac Oubeira	18
2.3. Matériel et méthodes	19
2.3.1. Echantillonnage	19
2.3.2. Les différentes méthodes d'isolement	19
2.3.3. Culture et isolement des oomycètes in-silico	20
2.3.4. Purification des isolats	23
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	
3.1. Résultats de la mise en culture	27
3.2. Observation microscopique des mycètes mis en évidence	28
3.2.1. Identification	29
3.2.2. Distribution des oomycètes en fonction du substrat.....	38
3.3. Discussion générale	41
Perspectives	44
Références bibliographiques	

INTRODUCTION

Introduction

Le climat algérien tend vers des étages semi-arides à arides en raison de la rareté des ressources naturelles en eau ; désormais, les rares zones humides localisées au Nord du pays, ne font plus exception du risque de sécheresse qui menace la région entière. A titre d'exemple, on cite le Parc National d'El Kala (PNEK), qui recense un ensemble de réserves naturelles aquatiques, dont le lac Oubeira, reconnu pour les activités agricoles développées au niveau de son bassin versant. «L'Arachide de la Calle», fameuse variété de légumineuse herbacée introduite d'Italie en 1926 (Chouaki et al. 2006), représente une ressource phytogénétique et agricole dominante au niveau du bassin versant du lac Oubeira et, fait en vérité, l'objet de la présente étude phytopathologique qui a pour but, d'identifier un agent pathogène d'origine fongique, reconnu pour son adaptation aux écosystèmes à climat chaud. Il servirait en conséquence, de bioindicateur de changements climatiques menaçant la région à l'échelle écologique comme à l'échelle économique.

Sur les rives de l'Oubeira, nous avons entretenu des questionnaires adressés aux riverains propriétaires de ces exploitations agricoles, les interrogeant sur les éventuelles infections fongiques qui pourraient les intriguer au cours de la saison de culture. Ils ont déclaré avoir rencontré de sérieux problèmes aux premiers mois de culture, au niveau racinaire et, que les plants atteints brunissaient, flétrissaient et dépérissaient en quelques jours.

Les agriculteurs réaffirment étonnement que le contrôle des phytopathologies en cultures maraîchères, telles que la fonte des semis et les diverses pourritures des racines et du collet, est majoritairement respecté par l'utilisation des phénylamides, des fongicides systémiques dont les substances actives sont le métalaxyl, l'oxadixyl et le méfénoxam (metalaxyl-M). il semblerait que l'agent fongique en question, soit résistant à un grand nombre de ces molécules. Ces molécules peuvent également être appliqués au niveau des feuilles végétales pour traiter les maladies causées par les pathogènes foliaires. De même, le groupe des phosphonates tels que le fosetyl-Al et l'acide phosphorique a été testé plutôt pour son efficacité en cas d'application foliaire des produits par rapport à un traitement du sol en raison de la dégradation rapide de ces produits par les microorganismes de la rhizosphère (Tisserat & al. 2011). En cas de dégradation du produit, le champignon phytopathogène peut reprendre sa croissance à l'intérieur des tissus de la plante (Pscheidt, 2015).

Introduction

Mais il ne s'agit pas de l'unique souci par rapport aux agriculteurs qui deviennent de plus en plus engagés pour la protection de l'environnement ; l'utilisation de pesticides chimiques et des fongicides conventionnels devient en réalité, limitante sur le plan agro-écologique; les raisons sont majoritairement liées à leur impact direct sur la santé du consommateur, mais aussi à la diminution de leur efficacité sur les phytopathogènes qui développent au fil du temps, une multi-résistance aux agents antimicrobiens, déjà connus dans le domaine phytosanitaire.

Dans l'objectif de suggérer un modèle infectieux Champignon-légumineuse, nous contribuons à travers ce modeste travail réalisé en vue de l'obtention du diplôme de Master 2 dans la spécialité « Agroenvironnement et bioindicateurs », à caractériser cet agent bioagresseur des cultures d'arachides, à travers son isolement et son identification, à étudier son comportement en culture *in silico* comme *in vitro*, de tester son pouvoir pathogène sur différents organes de la plante, en perspective de pouvoir l'inhiber par des moyens de lutte biologique plus efficaces, moins coûteuses, mais aussi moins polluantes, dans le futur.

CHAPITRE 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : partie bibliographique

1.1. Les maladies cryptogamiques des cultures maraichères

L'arachide peut fixer l'azote atmosphérique dans le sol, grâce à sa capacité de s'associer avec des bactéries de la famille des Rhizobiaceae et contribuer ainsi, à un apport allant jusqu'à 92% de ses besoins en azote, pour un tel support de nature sablonneuse très caractéristique des terres agricoles situées essentiellement, sur la rive Sud du lac.

Parallèlement, les techniques perfectionnées de recherche scientifique ont permis d'élucider certains aspects complexes de la biologie des pathogènes et du développement des maladies qui étaient jusqu'alors mal compris. Le présent article résume différents aspects des trois maladies cryptogamiques sus-mentionnées. Dans un contexte d'évolution des systèmes de production agricole et d'une demande croissante pour des aliments de qualité offerts à bon prix et produits selon des méthodes non nocives pour l'environnement, le développement de nouveaux moyens de lutte passe obligatoirement par une meilleure connaissance de la biologie et des dynamiques épidémiologiques.

Si un dépistage adéquat sur le terrain est effectué et que le mildiou est détecté peu de temps après le développement de la maladie, des parcelles localisées de plants de pommes de terre peuvent être tuées avec un dessiccant (par exemple du paraquat) grâce à l'utilisation d'un pulvérisateur à dos. Cette technique de gestion peut être considérée comme une réponse hypersensible à l'échelle du terrain similaire à ce qui se produit dans certaines interactions plante-virus par lequel les cellules entourant le point initial de l'infection sont tuées afin d'empêcher la prolifération du pathogène.

Si des tubercules infectés parviennent dans un bac de stockage, il existe un risque très élevé pour la durée de stockage de l'ensemble du bac. Une fois entreposés, il n'y a pas grand-chose à faire à part vider les parties du bac contenant des tubercules infectés par *Phytophthora infestans*. Pour augmenter la probabilité de conserver avec succès des pommes de terre provenant d'un champ où le mildiou était connu pendant la saison de croissance, certains produits peuvent être appliqués juste avant d'entrer en entreposage (par exemple Phostrol).

Chapitre 1 : partie bibliographique

1.1.1. Les Eumycètes, des champignons « vrais »

À la différence des Oomycètes, les Eumycètes (du grec eu, vrai, et mukes, champignon) font partie des Unicontes, groupe monophylétique qui rassemble les Eucaryotes dont les cellules mobiles possèdent un seul flagelle. La position postérieure de ce flagelle les place, comme les Animaux, au sein des Opisthochontes (du grec optisthios, postérieur). Les Eumycètes sont donc évolutivement plus proches des animaux que des plantes, bien qu'ils aient été longtemps assimilés à des plantes à cause de leur apparente immobilité !

L'appareil végétatif des Eumycètes est composé de filaments à paroi chitineuse (et non cellulosique comme les deux groupes précédents), qui constituent la majeure partie de l'organisme. La partie visible, le « champignon » des cueilleurs, qui peut être comestible ou au contraire toxique, n'est que la structure reproductive de l'individu (le sporocarpe). La reproduction des Eumycètes a ceci de particulier qu'il n'y a pas de gamète mobile libéré dans le milieu. Au contraire, les noyaux haploïdes sont contenus dans les hyphes et c'est la fusion de ceux-ci qui permet la fécondation.

Les Eumycètes présentent une grande diversité de formes et de modes de vie. Ils sont classés en plusieurs groupes, dont les mieux connus et les plus importants en termes de rôle écologique sont les Gloméromycètes (inclus dans le groupe des Mucoromycètes), les Ascomycètes et les Basidiomycètes (figure 5).

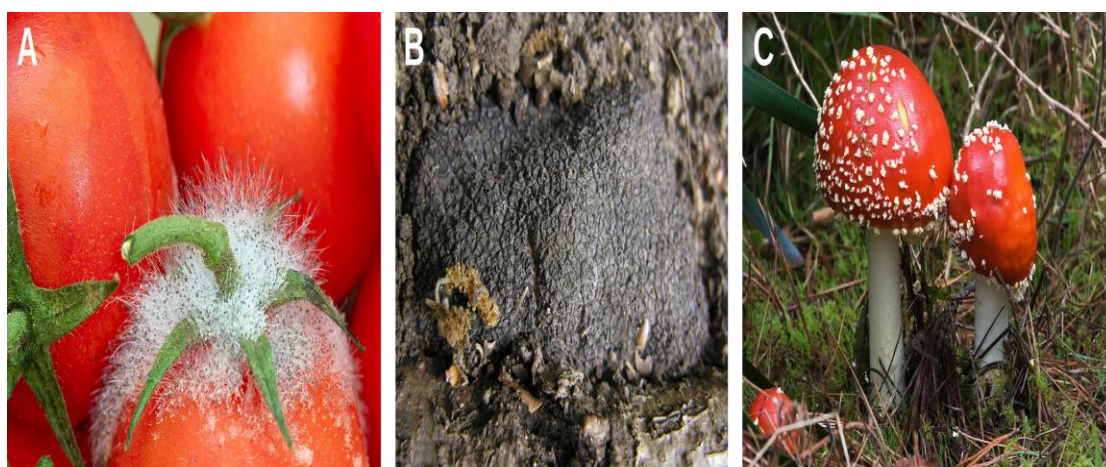


Figure 6 - Des exemples d'Eumycètes

Chapitre 1 : partie bibliographique

A. Moisissures du genre *Rhizopus* (Mucoromycètes) se développant sur des tomates (photographie par Calimo, Wikimedia). B. Ascocarpe de truffe (Ascomycètes) ; photographie par Michel Royon, Wikimedia. C. Basidiocarpe d'amanite tue-mouche, *Amanita muscaria* (Basidiomycètes) ; photographie par JJ Harrison, Wikimedia.

Auteur : Calimo, Michel Royon et JJ Harrison/ Licence : CC-BY-SA

Les trois principaux groupes d'Eumycètes

Les trois groupes d'Eumycètes les plus importants en nombre d'espèces et en rôles écologiques – Mucoromycètes, Ascomycètes et Basidiomycètes – sont caractérisés par l'apparition de relations végétaux-champignons originales : les lichens et les symbioses mycorhiziennes. Dans les deux cas, un champignon s'associe avec un organisme photosynthétique (plantes terrestres dans le cas des mycorhizes, algues et/ou Cyanobactéries dans le cas des lichens), créant ainsi un organe (la mycorhize) ou un organisme (le lichen) mixte au sein duquel les deux partenaires échangent protection et nutriments. C'est aussi dans ces trois groupes que l'on trouve des espèces capables de former des sporocarpes, structures reproductives dans lesquelles sont mises en place les spores. Ces deux caractéristiques, symbioses et sporocarpes, sont absentes chez les autres groupes d'Eumycètes, suggérant qu'elles sont apparues chez le plus récent ancêtre commun des Mucoromycètes, Ascomycètes et Basidiomycètes.

Le phylum des Mucoromycètes comprend un petit groupe d'Eumycètes d'importance écologique majeure : les Gloméromycètes (environ 160 espèces). Plus de 70 % de la flore terrestre établit une association symbiotique unique, appelée endomycorhize, avec une ou plusieurs espèces de Gloméromycètes. Le cycle de vie des Gloméromycètes est mal connu ; en particulier, l'existence d'une reproduction sexuée n'a pas été clairement démontrée, bien que le génome des gloméromycètes contienne des gènes de type sexuel. En revanche, les Gloméromycètes produisent des structures globuleuses riches en lipides, appelées spores, qui sont facilement observables à la loupe binoculaire ou au microscope.

Chapitre 1 : partie bibliographique

Les Mucoromycètes comptent aussi des espèces saprophytes (comme celles du genre *Rhizopus*, moisissures communes), pathogènes (*Mucor*) ou endophytes de plantes. Un groupe récemment décrit, l'ordre des Endogonales, comprend même des espèces ectomycorhiziennes, ce qui indique que l'ectomycorhize est apparue plusieurs fois indépendamment dans l'évolution des Eumycètes. Gloméromycètes et Endogonales, grâce aux symbioses développées avec les plantes, sont très probablement impliqués dans la colonisation du milieu aérien par les premières plantes terrestres.

Les Ascomycètes sont le plus grand phylum d'Eumycètes, avec environ 32 000 espèces décrites. Ils rassemblent des organismes aussi divers que des moisissures de fromage (comme *Penicillium roqueforti*), des champignons comestibles (les morilles, les truffes...), des levures (par exemple *Saccharomyces cerevisiae*), des pathogènes (comme l'agent de la graphiose de l'orme, *Ophiostoma ulmi*) ou encore des lichens. Parmi les Ascomycètes mycorhiziens, on trouve des espèces ectomycorhiziennes (dont les truffes) mais aussi des espèces formant des mycorhizes éricoïdes avec des espèces d'Éricacées (groupe des Hélotiales).

1.2. Modèle théorique de l'infection

Phytopathogénicité d'origine fongique

- Une spore viable tombée par hasard à proximité d'une ouverture naturelle de l'hôte émet, dans des conditions de milieu favorables, un ou plusieurs tubes germinatifs qui assurent la pénétration (voir figure 1).

Chapitre 1 : partie bibliographique

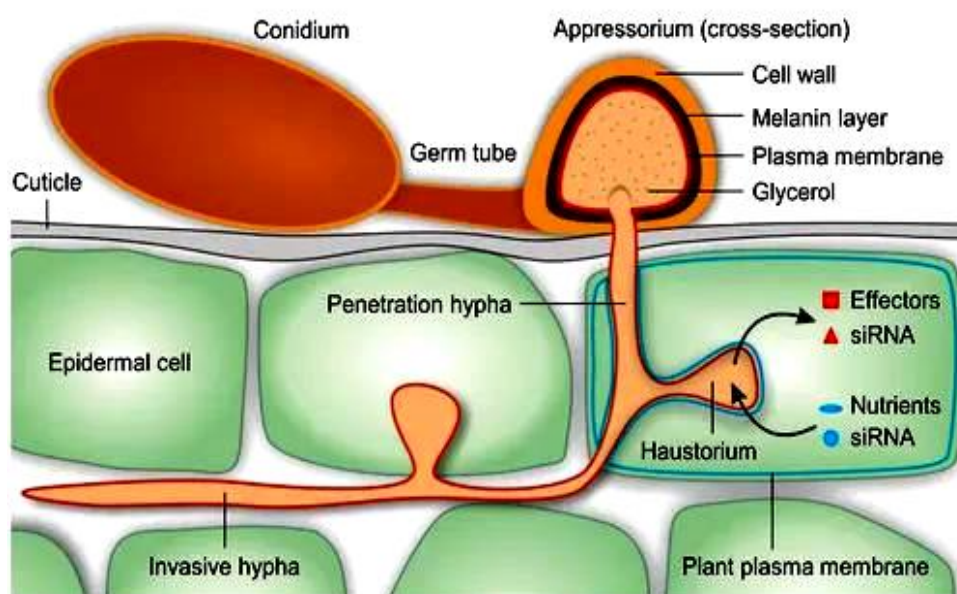


Fig.1. Mode de pénétration du mycélium fongique à travers le tissu épithélial, depuis le dépôt de la spore (conidie) sur le tissu végétal, qui va étendre un tube germinatif afin d'atteindre les cellules de l'épiderme par invasion.

Principalement, le mode infectieux qui caractérise ce groupe de microbe se base sur le mode de « La pénétration par les ouvertures naturelles » et « la pénétration directe à travers les tissus de revêtement » qui peuvent être assurées par des éléments spécialisés du mycélium ; il s'agit de l'appressorium développé en haustorium, deux organes qui peuvent orienter l'identification basée sur la morphomicroscopie.

Dans certains cas, l'orientation des tubes germinatifs en direction des stomates paraît le résultat d'un stimulus exercé par la vapeur d'eau émise par les stomates. Mais ceci ne peut intervenir dans le cas des zoospores qui sont immergées dans l'eau et qu'on a vu se rassembler autour des stomates (Chevaugnon 1957).

1.2.1. Au niveau de la feuille

Indiqué par un jaunissement, flétrissement et dépérissement des feuilles, parfois présence d'une pourriture humide débutant à la base des feuilles externes qui sont en contact avec le sol. Il peut être nécessaire que le stomate soit ouvert. Ce serait le cas, du *Puccinia graminis* (Fetch et al. 2018).

Chapitre 1 : partie bibliographique

1.2.2. Au niveau du Collet

La présence d'une pourriture humide ou d'un étranglement. Sur la plante entière, un flétrissement soudain ou non et mort rapide des plants affectés sans nécessairement montrer de jaunissement du feuillage.

1.2.3. Au niveau de la tige Tige

sur l'épiderme, présence de taches ou de lésions brunes et aqueuses s'étendant parfois sur plus de 10 cm. Présence d'une pourriture humide et/ou de chancre dans la partie basale de la tige. Ramollissement de la tige à la hauteur ou juste au-dessus de la surface du sol (Samson et al. 2004).

1.2.4. Au niveau de la Racine

Les plantes atteintes de pourriture des racines à *Pythium* auront des extrémités de racines noircies ou une pourriture molle et sombre de la couche externe (corticale) des racines. Le *pythium* laisse généralement le centre de la racine (stèle) blanc et ferme. Une astuce diagnostique pour la pourriture des racines à *Pythium* consiste à tenir la racine infectée et à tirer doucement. Le tissu extérieur pourri glisse facilement de la stèle. L'image montre des racines de chrysanthème avec pourriture des racines de *Pythium*.

La pourriture des racines de *Phytophthora* a tendance à rendre la racine entière brune ou noire, à l'intérieur comme à l'extérieur. La pourriture fusarienne des racines et la pourriture des racines à *Rhizoctonia* provoquent des pourritures sèches et font tourner les racines en brun rougeâtre (Hartmann et al. 2015).

Les facteurs environnementaux peuvent provoquer des symptômes similaires à ceux causés par la pourriture des racines. Un excès d'eau, des conditions de sécheresse ou des conditions de faible teneur en azote peuvent produire des symptômes similaires. Les conditions excessivement humides des dernières semaines peuvent endommager les racines, entraînant un déclin avant même que les agents pathogènes de la pourriture des racines n'envahissent.

Chapitre 1 : partie bibliographique

Ecologie (Interactions Oomycètes/environnement aquatique)

La distribution des populations nécrotrophes dans l'environnement aquatique n'a pas été suffisamment étudiée comparé aux études qui ont été menées sur le sol agricole ainsi que les cultures végétales menacées par divers phytopathogènes. Les champignons aquatiques sont de plus en plus pauvres au fur et à mesure que le degré de salinité du milieu augmente avec seulement 5% du total de la microflore fongique. Leur rôle néanmoins n'est pas négligeable dans la dégradation de la matière organique mais aussi en tant que parasites des organismes supérieurs en cohabitation. Les pathogènes facultatifs sont des formes telluriques adaptées à la croissance aquatique (Kohlmeyer, 1979).

Position trophique et Facteurs de croissance

La nature imitée inspire continuellement les scientifiques, à l'exemple de conception de milieux de culture sélectifs pour les oomycètes, fabriqués à base de jus et sucs végétaux, majoritairement les tomates, les carottes et les pommes de terre.

Tous les facteurs influençant la quantité d'eau et la durée pendant laquelle elle reste (précipitation, rétention du sol, température...) sont directement discriminants. Une précipitation abondante sur une courte durée favorise donc

Par exemple, *P. cinnamomi*, peut se développer à partir de 5°C et jusqu'à 34°C, avec un optimum situé entre 24 et 28°C, alors que *P. ramorum* peut se développer entre 2 et 30°C, avec un optimum entre 15 et 25°C. La température influence donc la rapidité du développement des pathogènes et par la même l'intensité de l'attaque.

La fertilité et la salinité du sol peuvent également jouer un rôle.

La température optimale de croissance est comprise entre 22 et 30 °C ou on peut trouver. Pour des températures de 6 et 32 °C on peut également observer quelque mycélium. (Domsch et al. 1993)

Quelques cas exceptionnels de croissance ont été observés à 37 °C, mais aucune à 0°C.

Le point thermique de mortalité dans le sol est de 49 à 55 °C pendant 30 minutes.

Chapitre 1 : partie bibliographique

Le pH doit être compris entre 1,5 et 7, le pH optimum étant de 4,5-5,5. (Domsch et al, 1993).

Pouvoir phytopathogène

Les plantes sont confrontées à une grande variété de microbes phytopathogènes et de ravageurs. On distingue trois types principaux d'agents pathogènes selon leur biologie trophique : les biotrophes, les nécrotrophes et les hémibiotrophes.

Les agents dits biotrophes ont besoin de conserver les tissus de la plante vivants pour s'alimenter et effectuer leur cycle de reproduction, les nécrotrophes, eux, se développant en tuant les tissus sur lesquels ils prolifèrent. Enfin, les hémibiotrophes commencent principalement leur cycle comme des biotrophes, puis passent à un stade déterminé de leur cycle à une phase nécrotrophe.

Les Albuginales sont actuellement divisés en trois genre, *Albugo* parasitic principalement à Brassicales, *Pustula*, parasite principalement à Asterales et à *Wilsoniana*, principalement parasite à Caryophyllales.

Chapitre 2

3.1. Modèle théorique de l'infection

La paroi cellulaire des Oomycètes est composée de cellulose, à l'instar des végétaux. Les Oomycètes sont en fait en quelque sorte des algues qui ont perdu leurs capacités photosynthétiques au cours de l'évolution, c'est que confirme la classification phylogénétique (celle basée sur l'ADN et s'intéresse aux filiations des différentes espèces entre elles).

Leur affinité pour les cellules végétales semble une propriété majeure causale de phytopathogénicité chez de nombreuses espèces.

Principalement, le mode infectieux qui caractérise ce groupe de microbe se base sur le mode de « La pénétration par les ouvertures naturelles » et « la pénétration directe à travers les tissus de revêtement » qui peuvent être assurées par des éléments spécialisés du mycélium ; il

Chapitre 1 : partie bibliographique

s'agit de l'appressorium développé en haustorium, (voir figure 4), deux organes qui peuvent orienter l'identification basée sur la morphomicroscopie.

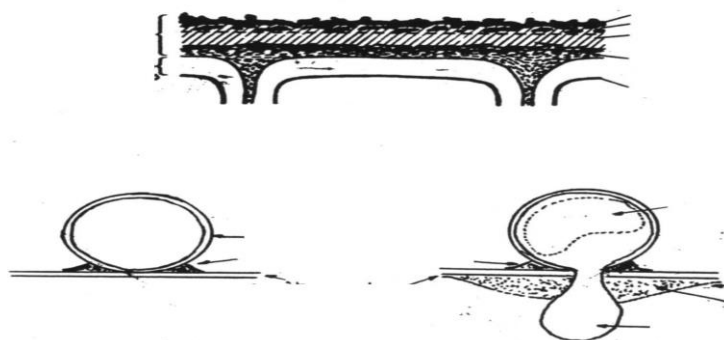


Fig.2. Mode de pénétration des chytridiales à travers le tissu épithélial; tubes germinatifs

- Une spore viable tombée par hasard à proximité d'une ouverture naturelle de l'hôte émet, dans des conditions de milieu favorables, un ou plusieurs tubes germinatifs qui assurent la pénétration. Dans certains cas, l'orientation des tubes germinatifs en direction des stomates paraît le résultat d'un stimulus exercé par la vapeur d'eau émise par les stomates. Mais ceci ne peut intervenir dans le cas des zoospores qui sont immergées dans l'eau et qu'on a vu se rassembler autour des stomates (74). Il peut être nécessaire que le stomate soit ouvert. Ce serait le cas, du *Puccinia graminis* (53). Par contre, Caldwell et Stone (19) ont montré que les tubes germinatifs du *Puccinia triticina* sont capables de s'ouvrir de force une route entre les cellules de garde des stomates fermés : la formation de l'appressorium provoque la fermeture du stomate et la pénétration ultérieure est accomplie par un hyphe plus mince.

Allen (6) a supposé la sécrétion par l'appressorium d'une toxine qui affaiblirait ou même tuerait les cellules de garde et provoquerait ainsi la fermeture du stomate. Mais Caldwell et Stone (19) ne pensent pas que cette lésion des cellules de garde soit nécessaire pour l'entrée des tubes germinatifs. En effet, le *P. triticina* peut infecter des plantules de Blé dont les stomates sont normalement fermés. L'entrée de la rouille s'effectue alors sans suppression préalable de la résistance exercée par les cellules de garde énergiquement fermées.

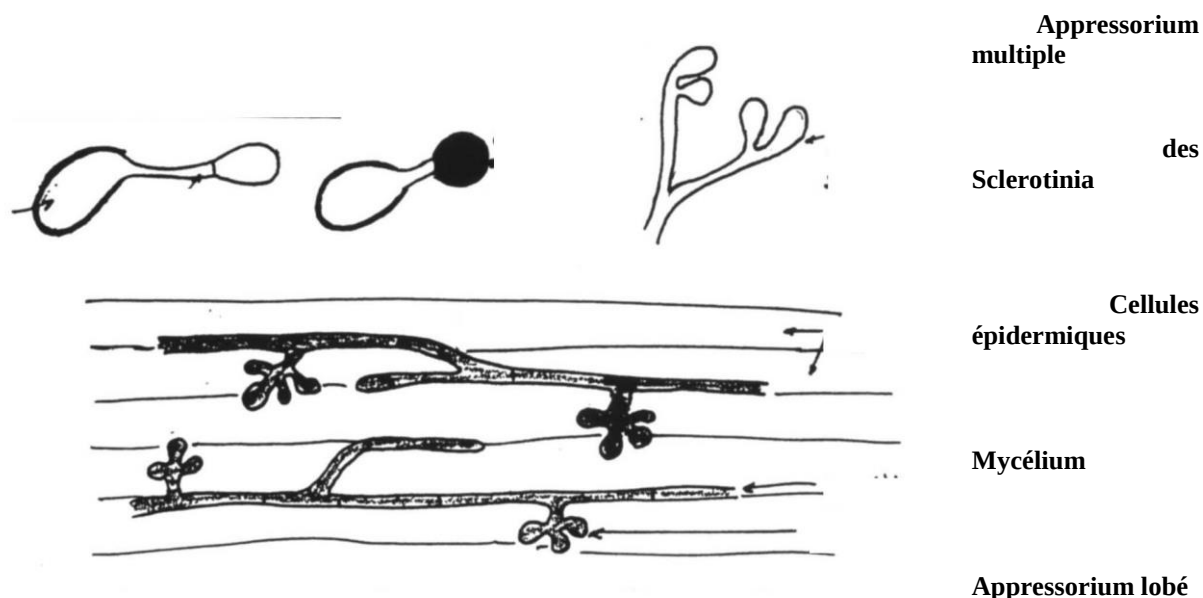
Chapitre 1 : partie bibliographique

L'appressorium formé par l'endospore paraît donc fonctionner comme un organe spécialisé chargé d'appliquer une pression entre les cellules de garde fermées et d'effectuer la traversée en force du stomate par l'intermédiaire d'un hyphé né à sa face inférieure. La pénétration par les lenticelles se produit le plus souvent dans la partie souterraine de l'hôte qui se trouve dans un milieu généralement humide et favorable au parasite. Les tubercules de Pomme de terre sont infectés de cette façon par *Phytophthora infestans*.

Appressorium mélanisé

chez *Colletotrichum*

b



Tube germinatif

Conidie

Fig.3. Infection à partir d'un appressorium développé par le mycélium.

Les oomycètes présentent diverses formes morphologiques en fonction de la nature du substratum fourni. En milieu minimum (pauvre en éléments nutritifs) : mycélium chlamydospores oospores (haploidie) phase de dormance

En milieu enrichi : oogonies et anthéridies (diploidie)

En milieu aquatique : zoospores

En rhizosphère : formes appressorium

CHAPITRE 2

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2. Protocole expérimental

2.1. Problématique

A partir d'échantillons d'eau lacustre collectée dans la cuvette du lac Oubeira, nous envisageons isoler des oomycètes cultivables in vitro, à la recherche de formes reconnues pour leur pathogénicité envers les végétaux. Le diagnostic direct sur les tissus infestés étant éliminé de la présente étude (en raison des conditions restreintes de déplacement et de contact externe), nous nous sommes limités à l'isolement et à l'identification des éléments microbiens à travers une simple microscopie optique. Une pratique qui nous permettra de mettre en évidence, des formes typiques des espèces d'oomycètes à partir de la morphologie de leurs organes de reproduction, en se référant à des clés d'identification actualisées.

2.2. Description du cadre géographique de l'étude

L'Oubeira est un lac endoréique, d'eau douce, Permanent. Il est en forme de cuvette à fond plus ou moins plat légèrement incliné vers le Nord, d'origine naturelle ayant une profondeur maximale de 4m, la profondeur moyenne étant de 1,24 m. Cette première profondeur constitue le toit d'une couche de vase dont la profondeur moyenne est de 1.30m et une valeur maximale de 2,50 m. Le fond de cette dernière constitue le substratum réel du lac avec une forme concave inclinée vers le Sud- Ouest.

Le lac contient un volume de vase de 30.207.685,30 m³, par contre son volume d'eau varie selon les saisons. Le lac Oubeira (Lat. 36° 50' N , Long. 8° 23' E) est situé à près de 25 m d'altitude, avec une superficie de 2200ha (6 km sur l'axe Nord-Sud, 5 km sur l'axe Est Ouest) et une profondeur de 1,5 m pouvant atteindre 3 m en fin de saison pluvieuse.

Chapitre 2 : Protocole expérimental



Fig.3. Localisation géographique du site d'étude (Belbacha et al. 2009).

2.2.1. Propriétés physico-chimiques de l'eau

Sa salinité moyenne est de l'ordre de 0,1 ppm, et son pH varie de 7,72 à 8,26. La concentration d'oxygène dissous est de 5,80 à 6,7 ppm, pour une température moyenne allant de 9°C en Janvier à 28,40°C en Août (Meddour,1988 ; Meddour et al.,1999a). Le volume total du lac estimé par le calcul de différentes tranches de profondeur d'eau est de 32. 031. 078,82 m³ (Messerer,1999). Le lac présente un taux de salinité faible et des fluctuations régulières du niveau d'eau. Les suspensions charriées par l'oued Kebir et l'action des vents qui se conjugue à la faible profondeur du lac, rendent les eaux turbides la majorité de l'année et particulièrement en hiver. Les informations encore assez fragmentaires sur la qualité des eaux des lacs (MORGAN, 1982 ; MIRI, 1996) donnent un pH neutre à légèrement alcalin et une salinité de 0,1 à 0,3 g/l.

Chapitre 2 : Protocole expérimental



Fig.4. Turbidité élevée des eaux du lac Oubeira sur la rive Nord est, lors de l'échantillonnage (photographie personnelle Juin 2020).

2.2.2 Activités anthropiques prédominantes dans le lac Oubeira

Le lac Oubeïra est d'un intérêt social et culturel de par la Production halieutique, l'exploitation de l'eau pour l'agriculture autour du Lac (il s'agit surtout de cultures spéculatives telles que la culture d'arachides consommatrice d'eau), la présence d'un site archéologique (Mégalithique) au Sud-Est du Lac et l'éducation et la recherche scientifique. Son bassin versant a une surface de 125 km² dont 40 km² en terrain plat et 85 km² en collines. Fonctionnant de manière endoréique, il est alimenté par une dizaine d'oueds (Demnet El-Rihan, Boumerchen, Dey Elgraâ, oued Messida pour les principaux...). En hiver, à l'occasion des fortes précipitations, les eaux de l'Oued El-Kebir parviennent au lac principalement par l'oued Messida qui prend naissance au sud. En été, quand le niveau de l'oued El-Kebir est au plus bas, le système hydrologique fonctionne en sens inverse, la Messida ayant la particularité de couler dans les deux sens.

2.3. Matériel et méthodes

2.3.1. Echantillonnage

Chapitre 2 : Protocole expérimental

Les trois types d'échantillonnage étaient réalisés, soit un échantillon de sol, soit un échantillon d'eau, soit un tissu végétal infecté (racines, carottes de bois). Les protocoles d'isolation étaient donc différents pour chaque type d'échantillonnage.

2.3.2. Les différentes méthodes d'isolement

– A partir d'un échantillon de sol

Les échantillons de sol ont été prélevés dans la partie superficielle du sol, soit les 20 premiers centimètres, avec plusieurs répétitions. Environ 250g de terre avec ou sans fragment végétal ont été collectés dans des sacs stériles, numéroté et référencé (lieu, date, contexte, par exemple Lac Oubeira).

A partir d'un échantillon d'eau

Les échantillons d'eau sont systématiquement prélevés à la surface car les zoospores sont toujours situées à l'interface de l'eau et de l'air ambiant. Le volume prélevé est d'un demi-litre dans une bouteille plastique. Plusieurs répétitions sont aussi réalisées. L'échantillon d'eau doit être rapidement traité afin de garantir le maximum de germination des spores. Ainsi, l'idéal serait de garder la bouteille à 4°C jusqu'au traitement en laboratoire. L'échantillon est filtré grâce à un système d'aspiration utilisant l'effet Venturi. L'eau passe d'abord un filtre de 11µm pour enlever les micros fragments végétaux ainsi que des fragments potentiels de mycélium, tout en laissant passer les spores. Une deuxième filtration est réalisée, cette fois à 8µm, les spores restent alors sur le filtre. Ce filtre est ensuite placé entier sur un milieu de culture sélectif de type V8 agar. La boîte de Pétri est alors incubée 24 heures à 20°C et à l'obscurité, ensuite le filtre est retiré de la boîte. On doit ensuite vérifier toutes les 12 heures la croissance de mycélium et procéder à la séparation des différentes colonies.

– Isolation à partir d'un fragment végétal en décomposition

Le fragment de racine parasité (généralement l'écorce de la racine se détache facilement et laisse apparaître un brunissement du liber) est nettoyé à l'eau courante puis désinfecté quelques secondes dans de l'éthanol dilué à 50%, puis rincé abondamment à l'eau distillé et

Chapitre 2 : Protocole expérimental

stérile. La racine est alors découpée en rondelles puis incorporée à un milieu de cultures sélectif. La visualisation de parties colonisées est plus facile.

2.3.3. Culture et isolement des oomycètes *in-silico*

Les ingrédients utilisés dans la préparation du milieu gélosé pour la culture *in silico* des oomycètes, se présentent sur le tableau 2.

Tab. 2. Composants de gélose PDB V8.

Ingrédients	Pour un volume de 800 ml
Pomme de terre-Glucose-Bouillon (« potato dextrose bouillon »)	10,6 g
Agar-agar	6 g
Jus de 8 légumes (Alnatura), naturel	8 ml
Eau distillé	792 ml

La préparation du milieu de culture se fait comme suit :

1. remplir les ingrédients aux volumes indiqués au tableau, dans un flacon ombré de 1 litre, puis ajouter le barreau magnétique convenable ; étiqueter le flacon
2. autoclaver pendant 20 minute, à 120°C.
3. placer le milieu autoclavé sur un agitateur magnétique, jusqu'à refroidissement à 60°C (surfusion).
4. ajouter les antibiotiques et fongicides, comme suit, sous des conditions stériles.

Chapitre 2 : Protocole expérimental

5. par la suite, couler immédiatement la gélose en surfusion dans les boîtes de pétri de 12 cm de diamètres (disponibles en verre). Au bout d'une demi-heure, la gélose est solidifiée par refroidissement, puis les boîtes sont tout de suiteensemencées.

Tab.3. Concentrations des solutions d'antibiotiques/antifongiques, ajoutés au milieu de culture.

	Solution	Volume/litre de milieu
Nystatine	10 mg/400 ml (25 ppm)	400 µl
Ampicilline	40 mg/400 ml (100 ppm)	1600 µl

Mise en culture

L'ensemencement des boîtes se fait par point central, c'est-à-dire déposer délicatemeent le fragment de substrat végétal, au centre de la gélose,

Les techniques de culture sont nombreuses elles varient en fonction :

Ensemencement par l'utilisation des appâts (piégeage des oomycètes)

Ensemencement direct de la matière organique en décomposition inondée dans l'eau du lac

Ensemencement par point central de sédiments

Les fragments de 0.5 cm² sont déposés dans des boîtes de Petri contenant de la gélose à base de V8, rendu sélectif par l'ajout d'antibiotiques et d'antifongiques spécifiques afin de favoriser la croissance des oomycètes d'une façon spécifique.

Les boîtes de pétri ensemencées sun incubées à l'obscurité, dans les conditions ambiantes du laboratoire ; en effet, l'obscurité est indispensable pour la stabilité des antibiotiques photosensibles.

2.3.4. Purification des isolats

Les boîtes de Pétri repiquées (dans les mêmes conditions sus décrites) sont étanchéifiées grâce à un film de paraffine, puis sont placées dans un incubateur obscure et à 20°C. La croissance mycélienne est contrôlée quotidiennement. Les boîtes destinées à la conservation sont placées dans un réfrigérateur à 4°C, après quelques jours de culture.

Techniquement, les *Phytophthora* et *Pythium* sont difficiles à isoler d'une plante infectée ou d'un échantillon de sol en raison des compétitions avec des champignons ou bactéries. En effet, la vitesse de croissance radiale (en milieu de culture) est moins grande que les champignons et les bactéries. De plus, ces organismes peuvent fortement inhiber la croissance des *Phytophthora* et *Pythium* en synthétisant des antibiotiques ou encore en parasitant directement les *Phytophthora* ou les *Pythium*.

Sur une plante fraîchement atteinte, l'isolation est plus facile, puisque la probabilité d'avoir un *Phytophthora* ou un *Pythium* seul est beaucoup plus grande (pathogènes primaires). Contrairement à *Pythium*, les *Phytophthora* ne sont pas ou peu saprophytes et se conservent dans le sol sous forme de spores (oospores, chlamydospores). Ils n'entrent donc pas en compétition avec d'autres organismes du sol et se conservent tant que les conditions ne sont pas favorables à la croissance et à la reproduction.

Dans les mêmes conditions de la première incubation, les souches sont cultivées pendant 03 à 10 jours, afin de pouvoir visualiser les organes de reproduction dite Sexuée. Cette dernière n'apparaît que lors de l'épuisement du milieu de culture.

1. Description géographique de la zone d'étude

2. échantillonnage



Fig.5. Symptôme de pourriture racinaire d'un plant d'arachide récolté au versant de lac Oubeira.

Les semis d'arachide subiront au laboratoire de l'Université de Chadli BenDjedid, une bonne stérilisation, et elle est divisée en parties et placée dans des milieux de culture, en afin d'isoler le champignon phytopathogène.

2.3.2. Culture et isolement

L'échantillon global subi en premier lieu, une homogénéisation par broyage, avant d'êtreensemencé sur les milieux PCA, PDA et CMA (voir figure 5). Ces cultures sont examinées au microscope 48 heures après incubation à température ambiante. Cet examen est suivi régulièrement jusqu'à la colonisation de la gélose. Quelques filaments mycéliens sont soigneusement repiqués sur gélose additionnée au chloramphénicol (50µm/ml) afin d'éliminer les bactéries. Cette Opération est renouvelée une dizaine de fois au moins afin d'obtenir des filaments mycéliens purifiés. Les cultures ainsi obtenues sont repiquées plusieurs fois de suite.

Chapitre 2 : Protocole expérimental



Fig.6. Collecte d'isolats fongiques en monoculture sur gélose sélective au laboratoire.

3.1. Choix du phytopathogène

Le phytopathogène ainsi isolé, a été identifié sur le plan morphologique aussi bien en colonie qu'au microscope optique à l'état frais. L'identification du champignon phytopathogène et le mécanisme infectieux ne faisant pas l'objet de ce présent rapport, nous nous contenterons de citer uniquement le genre auquel il appartient dans la section des résultats.

traitement des échantillons d'arachide

description : les gousses ont été traitées préalablement à l'eau pure (hypochlorite de sodium)

germination pendant

transfert sur substratum stérile

Chapitre 2 : Protocole expérimental



Fig.7. Collecte d'isolats fongiques en monoculture sur gélose sélective au laboratoire.

le protocole du test phytopathologique a été effectué selon la matrice représentée sur le tableau 1

Conditions de culture des plants d'arachides

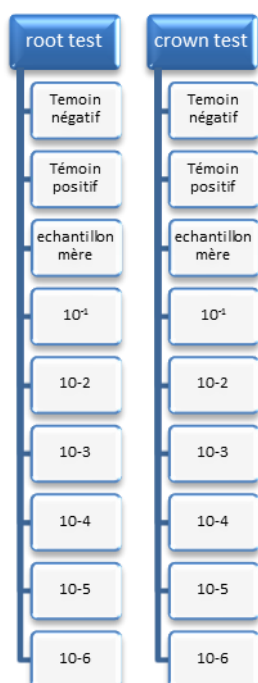


Eau phy stérile

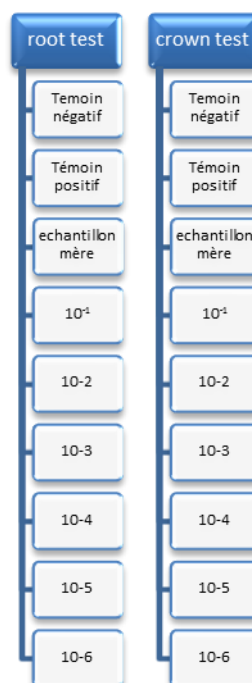


Chapitre 2 : Protocole expérimental

Test foliaire (T)



Sol stérilisé du bassin versant de



Sol brut du bassin versant de

ig.1. protocole expérimental du test phytopathologique

oogonies et anthéridies (diploidie)

h. Morphologie microscopique des isolats d'oomycètes

Les cultures sont soumises après incubation à des observations au microscope photonique, Olympia, à de faibles grossissements. Les différentes formes obtenues sont

Chapitre 2 : Protocole expérimental

photographiées puis, à l'aide de différentes clés d'identification, nous sommes arrivés à déterminer le genre et l'espèce d'oomycète, cultivée dans chaque boîte.



Fig.8. Schéma simplifié des étapes expérimentales.

2.3.4. Purification des isolats

Fondamentalement, l'identification des Oomycètes isolés est basée sur l'étude microscopique d'un grand nombre de critères morphologiques. La description des structures de reproduction asexuée est nécessaire à la détermination du genre. Une fois le genre est déterminé, une description précise des structures de reproduction sexuée incluant la présence ou l'absence

Chapitre 2 : Protocole expérimental

des anthéridies, l'origine des branches anthéridiales, la taille des oogones, le type de la paroi des oogones, le nombre d'oospores par oogone, la position des gouttelettes lipidiques dans les oospores,.... est primordiale pour arriver au niveau espèce.

Or, ces manipulations microscopiques sont très délicates et nécessitent beaucoup de temps et de patience. Parfois les isolats ne forment pas les structures sexuées ni en culture simple ni en confrontation avec des espèces hétérothalliques connues (Plaats-Niterink, 1981) ce qui oblige les chercheurs à arrêter l'identification au niveau du genre pour la majorité des isolats (Paul, 1984 ; Ali et al, 2001). Selon ces derniers, l'abondance qualitative et quantitative des isolats dépend de nombreux paramètres tels que la localisation dans le temps et dans l'espace des prélèvements et les techniques de détection et d'isolement.

	prégermination	germination	Racine	Collet	Feuille
Témoin sol	Biote de petri	Biote de petri	Culture végétale	Culture végétale	Culture végétale
Témoin eau	Biote de petri	Biote de petri	Culture végétale	Culture végétale	Culture végétale
Pythium	Biote de petri	Biote de petri	Culture végétale	Culture végétale	Culture végétale
Phytophthora	Biote de petri	Biote de petri	Culture végétale	Culture végétale	Culture végétale
phytopythium	Biote de petri	Biote de petri	Culture végétale	Culture végétale	Culture végétale
Colletotrichum	Biote de petri	Biote de petri	Culture végétale	Culture végétale	Culture végétale

Chapitre 2 : Protocole expérimental

Les boîtes de Pétri repiquées (dans les mêmes conditions sus décrites) sont étanchéifiées grâce à un ruban parafilm, puis sont placées dans un incubateur obscure et à 20°C. La croissance mycélienne est contrôlée quotidiennement. Les boîtes destinées à la conservation sont placées dans un réfrigérateur à 4°C, après quelques jours de culture.

Résultats et discussion

3. Résultats

Lors des campagnes d'échantillonnage, nous avons eu l'occasion d'entretenir un bref questionnaire avec quelques agriculteurs et propriétaires des exploitations d'arachides sur le versant de l'Oubeira ; notre question clé a porté sur le signalement d'éventuelles maladies observées sur les semis d'arachides ou en stock de grains, ayant un impact remarquable sur le rendement ; les agriculteurs ont exprimé leur inquiétude vis-à-vis de 'apparition de formations cotonneuses blanches au niveau de la rhizosphère, ce qui provoque le jaunissement des parties aériennes puis, la mort des plantules à un stade précoce de la culture (figure10).



Fig.10. Fonte des semis d'arachides, âgés de moins de 3 mois (photographie personnelle, Juin 2020).

Les agriculteurs ont exposé bien d'autres problèmes et nuisances d'origine fongique ayant un impact sur le rendement et la qualité de leur production agricole, tout le long de la chaîne phyto-technique, mais aussi au niveau du stockage de la denrée récoltée à partir du mois de Septembre. Dans la présente étude, il a fallu exclure les étapes qui sont en dehors de la phase où les eaux d'irrigation présentent l'un des suspects majeurs dans la contamination des semis par le microorganisme pathogène, afin de cerner son origine.

L'observation oculaire du système racinaire après arrachage nous a permis de constater la présence d'une pourriture comme indiqué sur la figure 11.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

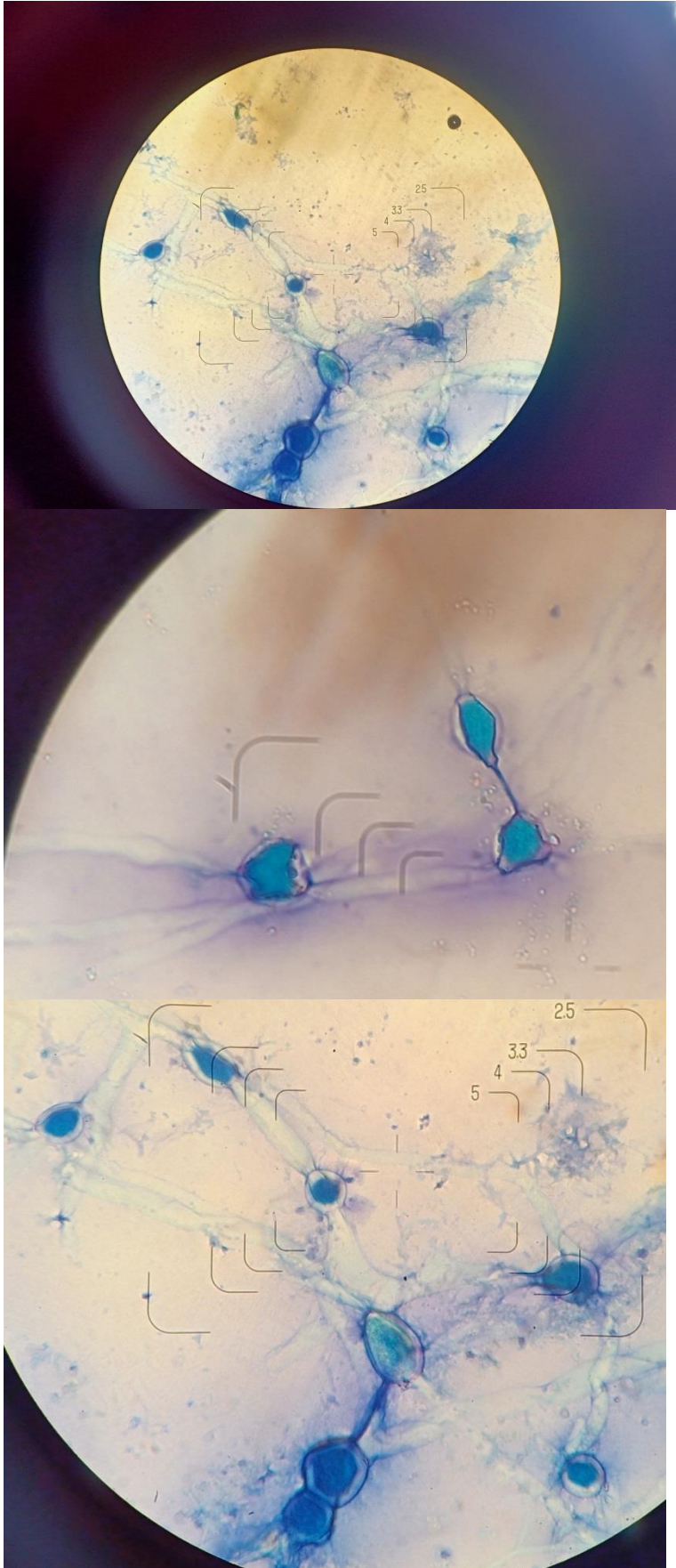


Fig.11. Semis d'arachides atteints de pourriture racinaire typique de Pythiose (Touffe blanche typique), photographie personnelle prise sur fond noir 2020).



fig.12. Résultats d'isolement et d'Identification du microorganisme fongique

Chapitre 3 : Résultats et discussion



Chapitre 3 : Résultats et discussion

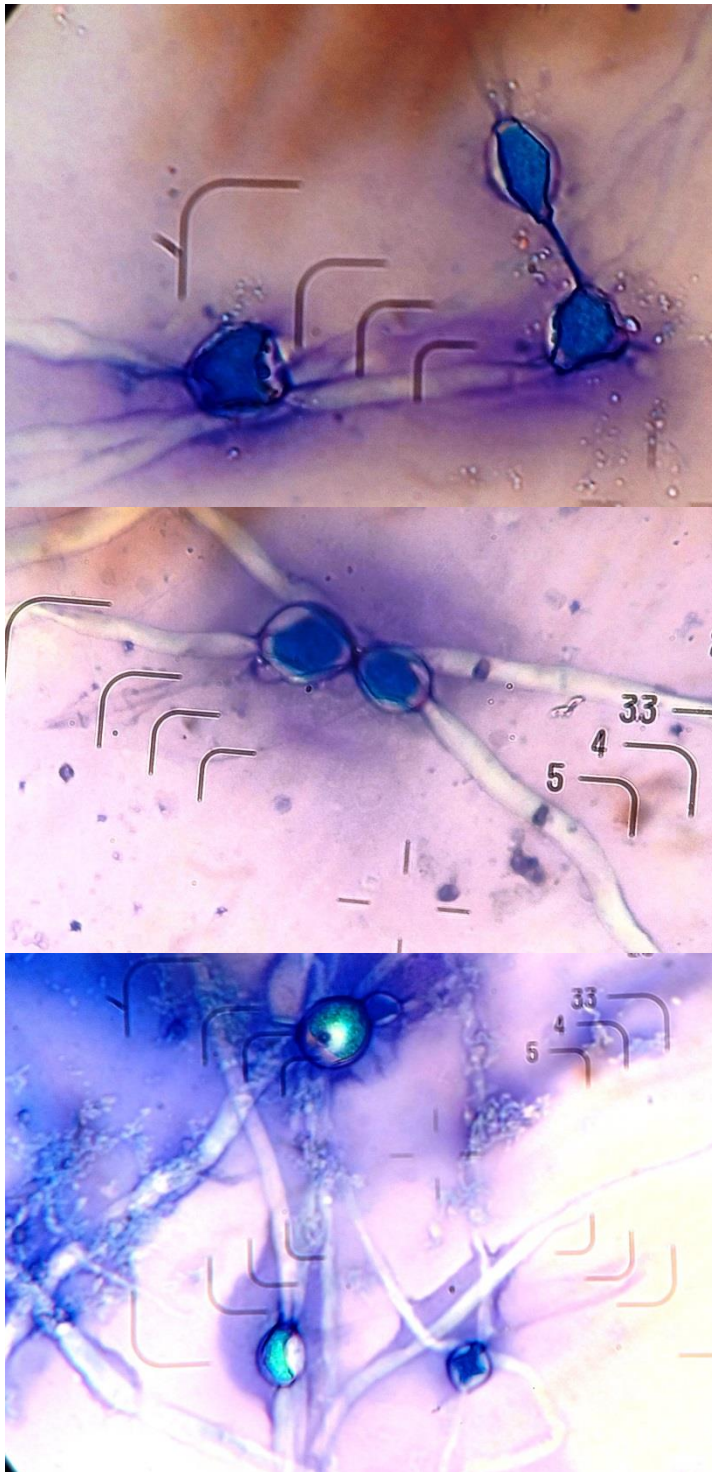


Fig.13. Fonte des semis d'arachides, âgés de moins de 3 mois (photographie personnelle, Juin 2020).

Chapitre 3 : Résultats et discussion



Fig.14. Fonte des semis d'arachides, âgés de moins de 3 mois (photographie personnelle, Juin 2020).

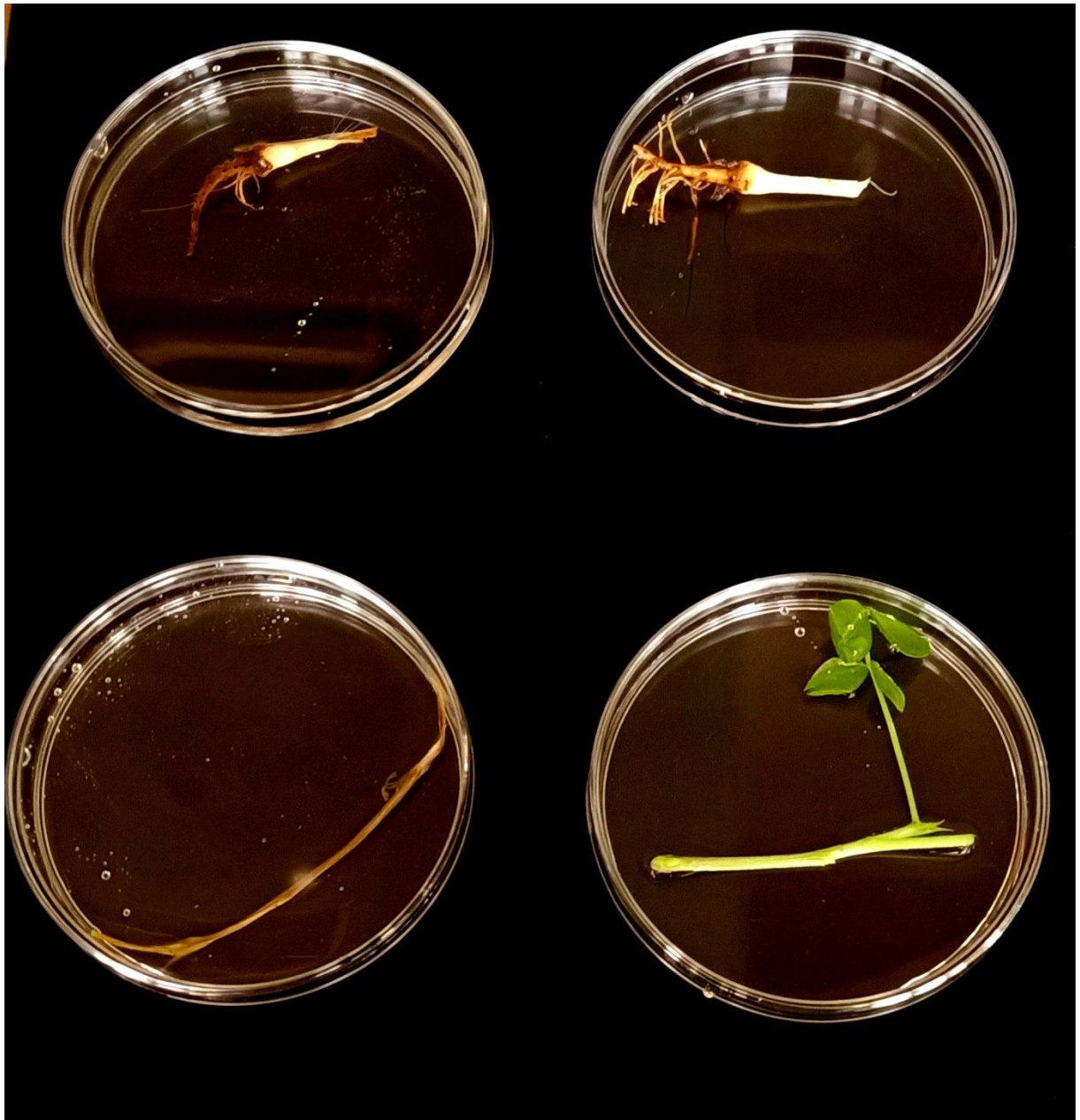
Chapitre 3 : Résultats et discussion



Chapitre 3 : Résultats et discussion



Chapitre 3 : Résultats et discussion



3.1. Résultats de la mise en culture

Les colonies isolées lors de la mise en culture in silico, montrent une croissance caractéristique des colonies d'Oomycètes sous forme de duvet blanchâtre, ne présentant pas de couleurs ; le duvet assez relâché, sans mycélium aérien, se distingue clairement de celui des champignons vrais.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Les résultats de la culture ont été observés au laboratoire dès le troisième jour d'incubation ; le mycélium développé sur gélose molle et en profondeur de la boîte de Pétri, est capable de traverser l'épaisseur de la gélose grâce aux zoospores qui ont la capacité de NAGER grâce à leur flagelle double. Ces observations ont fait le premier critère de sélection des isolats recherchés ; seules quelques-unes sont représentées sur la figure 13.

La culture par point central sur gélose molle préparée à base d'extraits de divers légumes, a donné au bout de 5 à 6 jours d'incubation, différents aspects dont le point commun est l'absence totale de pigmentation sur le mycélium, ainsi que l'absence de partie aérienne des filaments mycéliens hyalins légèrement humides.



Fig.14. Aspects divers des colonies d'Oomycètes, développées sur gélose à base de V8.

3.2. Observation microscopique des mycètes mis en évidence

Nous nous sommes basés essentiellement sur la morphologie microscopique des souches obtenues en culture pour les identifier à l'échelle du 'genre', allant parfois jusqu'à l'espèce; l'organisation cellulaire en mycélium, les organes de fructification (reproduction), la forme et l'arrangement des spores et leur type selon la littérature, représentent d'essentiels critères

Chapitre 3 : Résultats et discussion

d'identification pour les genres les plus fréquents. La description des individus a été principalement basée sur la comparaison des sporanges et des spores générées en une dizaine de jours d'incubation.

Parmi les observations effectuées, nous avons sélectionné les formes appartenant aux genres reconnus pour leur pathogénicité vis-à-vis des végétaux, dans la littérature, dont les clés dichotomiques (Plaats-Niterink 1981), (Watanabe 2010). Quelques images photographiques obtenues par microscopie photonique à l'état frais, sans coloration ni fixation du matériel cellulaire et, à de faibles grossissements, sont présentées ci-dessous. Il est important de préciser que la microscopie optique a été effectuée directement à partir de la culture en gélose sur boîte de Pétri, ce qui explique la superposition des champs visuels sur les figures.



Fig.15. Fonte des semis d'arachides, âgés de moins de 3 mois (photographie personnelle, Juin 2020).

3.2.1. Identification

Les souches microbiennes purifiées et mises en évidence lors de cette investigation ont été classées dans quatre ordres dominants, reconnus comme étant largement répandus à travers le monde ; il s'agit des Peronosporales, Pythiales Leptolegniales et Saprolegniales.

a. Ordre des Peronosporales

Ce groupe inclue principalement les agents les plus redoutables en phytopathologie, dont principalement le genre *Phytophthora*, historiquement reconnu comme agent dévastateur des cultures de pomme de terre et de vigne (Erwin et al. 1996, Samson et al. 2004).

Le genre *Phytophthora*

Les espèces de ce genre hautement pathogènes des végétaux, sont extrêmes importantes quant au recyclage de la matière organique ; il s'agit d'élément très actif sur la végétation en décomposition à basses températures et donc en période hivernale (figures 14, 15, 16, 17).



Fig.16. Chlamydospores caractéristiques du genre *Phytophthora* (Gx40).

Chapitre 3 : Résultats et discussion



Fig.17. sporange à prolifération subterminale de *Phytophthora* (Gx20).

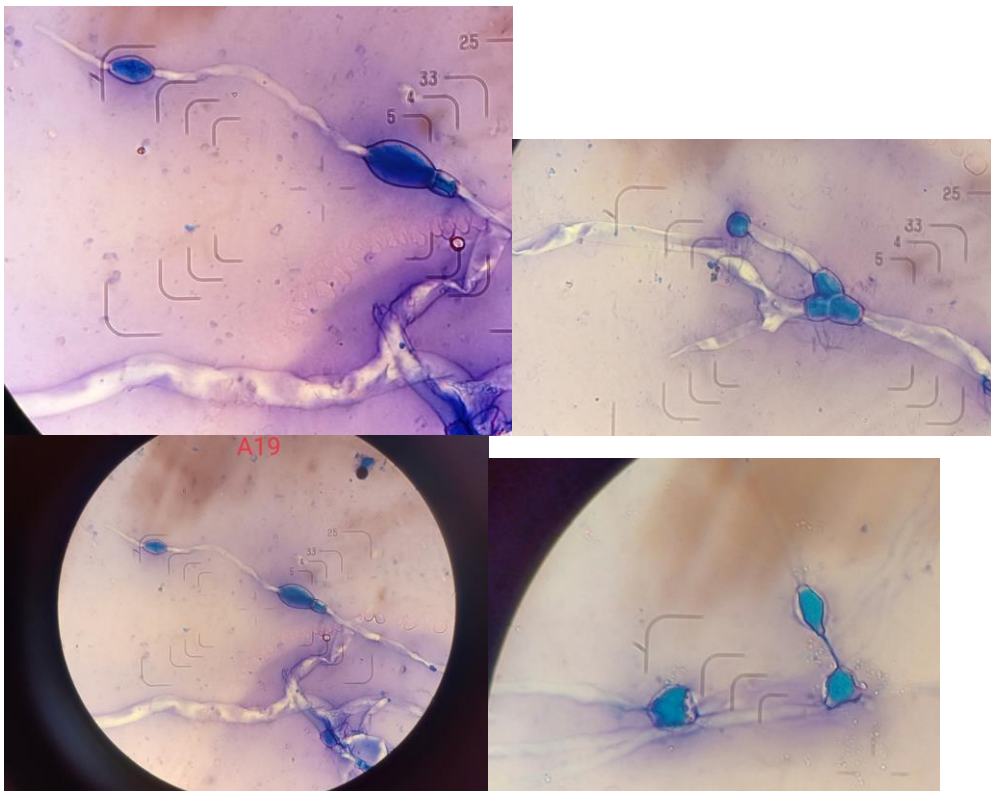


Fig.18. sporange à prolifération subterminale de *Phytophthora* (Gx20).

Chapitre 3 : Résultats et discussion



Fig.19.

3.3. Discussion générale

Le champignon isolé et identifié a été reporté il y a au moins une trentaine d'années passées, dans plusieurs publications comme étant phytopathogène du collet chez un nombre important de cultures maraîchères en Côte d'Ivoire, au Sénégal et dans de nombreux milieux du continent africain, dont les cultures. Il a été décrit comme Parmi les champignons phytopathogènes des plantes tropicales, les *Cotieto~hum* et leur forme parfaite *Geom~ella* tiennent une place importante du fait de leur très large répartition sur une gamme d'hôtes extrêmement variée.

Ils sont le plus souvent responsables le terme général d'antracnoses qui correspondent affectant principalement les parties aériennes des et fruits. de maladies désignées sous à des altérations nécrotiques plantes : rameaux, feuilles ;

En Côte d'Ivoire, les antracnoses sont communes sur cultures maraîchères et fruitières, sur cultures ornementales, sur cultures pérennes industrielles ou traditionnelles telles que : palmier à huile, hévéa, caféier, cacaoyer, ainsi que sur de nombreuses cultures vivrières : igname, manioc, patate douce, etc. (BOISSON et RENARD 1967, CHEVAUGEON 1956, RESPLANDY et al.1954). (lourd 1982, Martin 1999).

Park et al. (1978) ont constaté que les rivages fournissent plus d'isolats Oomycètes que le centre des lacs. Dick (2001), dans le même sens, a remarqué que les populations des Saprolegniacées et des Pythiacées fluctuent considérablement et rapidement au cours des saisons de l'année. Toutefois, d'après ce même auteur, ces populations restent en général plus abondantes dans les saisons froides et pluviales. Par ailleurs, la richesse des isolements est influencée par les techniques d'isolement choisis.

L'existence et l'accessibilité de nombreux points pour l'irrigation de cette culture, notamment à travers le pompage direct des eaux superficielles du Lac Oubeira -de manière illicite et sans aucun prétraitement- sont à l'origine de la présence de populations microbiennes d'origine aquatique, dont certaines sont hautement bénéfiques pour le biofonctionnement de l'agrosystème ; on en cite le cas des décomposeurs/minéralisateurs, qui se chargent spécifiquement de

Chapitre 3 : Résultats et discussion

solubiliser la matière nutritive et contribuent aux échanges d'énergie et de matière, formant des réseaux complexes, définis par divers modes trophiques (Holden & Raitt 1974), (López-García et al. 2007).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Conclusion

La culture d'arachide est considérée comme l'activité anthropique majeure de la région d'El tarf ; elle demande beaucoup de soins et de connaissances approfondies du point de vue phytosanitaire, suite au développement de certains phtopathogènes de nature fongique pouvant avoir un impact sur le rendement économique de la denrée.

La pourriture du collet provoquée par *Colletotrichum gloeosporioides*, est une maladies cryptogamiques connue en zones tropicales de l'Afrique continentale depuis une trentaine d'années ; semble surgir sur notre site d'étude suite à une éventuelle adaptation au climat de la région du lac Oubeira, toujours considéré comme étant humide à température modérée. Il s'agit d'un bioindicateur de changement climatique qui menace le Sud de la méditerranée

L'étude de quelques caractéristiques morphologiques et comportementales en milieu expérimental, a fait l'objet de la présente étude dans le but de mieu comprendre le bioagresseur de la culture agricole ; il est impératif de signaler que dans une étude parallèle à celle-ci, des bactéries telluriques isolées du même milieu rhizosphérique, ont développé un effet antagoniste non négligeable sur le champignon étudié, les résultats ne sont en revanche, pas traités ici.

Conclusion et perspectives

Perspectives

La culture d'arachide dans la région d'El Tarf à travers laquelle elle va ont pour objectif de déterminer tous des conditions environnementales de la production et d'éclairer la filière d'arachide de production à consommation, et détermination de tous les principaux problèmes à son développement, ainsi que de proposer des solutions.

L'isolement et la caractérisation des propriétés phytochimiques de certaines molécules antagonistes au champignon étudié pourraient donner conduire à mettre des moyens de lutte biologique de la maladie du collet d'arachide, en évidence. Ces molécules prometteuses sont d'origine bactérienne rhizosphérique.

L'impact sur la santé publique de ces agents pathogènes, vis-à-vis des activités agricoles développées au niveau du bassin versant est également en perspective.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. *Allélopathie: Définition, types et exemples*. projetecolo.com. Retrieved June 16, 2022, from <https://www.projetecolo.com/allelopathie-definition-types-et-exemples-537.html>
2. Alayat
3. Benhamou, N., & Rey, P. (2012a). Stimulateurs des défenses naturelles des plantes: Une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable.: I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection*, 92(1), 1–23. <https://doi.org/10.7202/1012399ar>
4. *Coloration de Gram | PDF | Biologie cellulaire | Biologie*. (n.d.). Scribd. Retrieved June 17, 2022, from <https://fr.scribd.com/document/460523938/coloration-de-gram-docx>
5. *Dialogue chimique plantes-microorganismes—Produits SCF*. (n.d.). Société Chimique de France (SCF). Retrieved June 17, 2022, from <https://new.societechimiquedefrance.fr/produits/dialogue-chimique-plantes-microorganismes/>
6. Nassima, D. (2020). *El Tarf: Hausse de la production des arachides*. Retrieved June 17, 2022, from <https://www.aps.dz/regions/114782-el-tarf-hausse-de-la-production-des-arachides>
7. Petera, B. (n.d.). *Extraction et caractérisations (structurale et physico-chimique) de polysaccharides hydrosolubles issus de cladoces de Cereus triangularis*. 237.
8. Yosra Ben M'henni. (2020) . Gestion de la maladie de dépérissement du pommier : criblage invitro et implantation des activités protectrices d'une collection de microorganismes contre les Pythiacées et caractérisation chimique du principal actif produit par l'isolat .westerdijkiaeA7. Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay École doctorale N° 567 Sciences du Végétal : du Gène à l'Ecosystème Spécialité de doctorat : Biologie Unité de recherche : Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech, UMR BIOGER, 78850, ThivervalGrignon, France.
9. Baameur M. & Nefsi K. (2019). Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme Master Filière : Hydrobiologie marine et continentale Option : Ecosystème aquatique Thème : Etude écobioologique du lac Oubeira – El Kala.
10. Gurusinghe, S., Brooks, T. L., Barrow, R. A., Zhu, X., Thotagamuwa, A., Dennis, P. G., Gupta, V. V. S. R., Vanniasinkam, T., & Weston, L. A. (2019). Technologies for the Selection, Culture and Metabolic Profiling of Unique Rhizosphere Microorganisms for Natural Product Discovery. *Molecules*, 24(10), 1955. <https://doi.org/10.3390/molecules24101955>.