



N° d'ordre:

N° de série:



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la

Recherche Scientifique

Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued

Faculté de sciences de la Nature et vie

Département de biologie cellulaire et moléculaire

Mémoire de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Spécialité: Biochimie Appliquée

Thème

L'antagonisme d'un mélange de *Pseudomonas* sp.,
Bacillus sp. et *Trichoderma* sp. vis-à-vis les agents
pathogènes de la pomme de terre dans région El Oued

Présentée par:

- ▽ MESBAHI Doniazad
- ▽ BAKKOUCHE Sabrina
- ▽ KHELIFI Assia

Devant le jury composé de:

M.	Président	Université d'El Oued
M.	Examineur	Université d'El Oued
M. ALLALI Ahmed	Encadreur	MCB Université d'El Oued
M. DJOUDI Abdelhak	Co-Encadreur	MAA Université d'El Oued

Année universitaire : 2022/2023

A decorative border with a light beige background and a thin, dark brown circular line. The border is adorned with illustrations of leaves in dark grey and golden-yellow colors, along with small gold speckles scattered throughout.

Dédicace

Nous souhaitons dédier humblement ce travail :

A nos chers parents, qui sont une source de
tendresse et de force.

Nous leur exprimons notre gratitude pour leur soutien constant, leur amour
inconditionnel et leur protection bienveillante.

A tous nos amis (es).

Remerciements

Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements et notre gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Avant tout, nous remercions Dieu le Tout-Puissant pour nous avoir accordé la force, la santé et la détermination nécessaires pour mener à bien ce projet.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance envers notre encadrant, le **Dr Allali Ahmed**, pour avoir accepté de diriger ce travail et nous avoir offert l'opportunité de travailler sur un projet si intéressant. Nous lui sommes reconnaissants pour ses conseils avisés et son soutien constant tout au long de notre recherche.

Nous adressons nos respects et nos remerciements au **Dr Djoudi Abdelhak**, qui a co-dirigé ce travail, pour l'honneur qu'il nous a fait. Nous tenons à souligner son aide précieuse et ses conseils uniques qui ont grandement enrichi notre travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude au **Dr. Zaoui Hamza** du laboratoire **Al-Majd** pour avoir fourni certains des matériaux manquants. Sa collaboration et sa générosité dans la fourniture de ces matériaux reflètent son soutien à la recherche et au développement. Nous sommes extrêmement reconnaissants pour ses efforts et nous apprécions sa contribution à la réussite de notre recherche.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude à l'ensemble du personnel du laboratoire de biochimie pour leur esprit d'équipe et leur collaboration tout au long de notre projet.

Enfin, nos remerciements vont à tous nos enseignants qui nous ont accompagnés durant notre cursus universitaire. Nous n'oublions pas toutes les personnes qui nous ont apporté leur soutien et leur aide tout au long de la réalisation de ce modeste mémoire.

Nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce travail.

Liste de figure:

	Page
Chapitre I : maladies cryptogamiques	
Figure I.1: Symptomatologie du chancre des tiges et du rhizoctone brun de la pomme de terre	05
Chapitre III : Partie expérimentale	
Figure III.1: les feuilles et tige. (Photo original)	34
Figure III.2: un tubercule infecté (Le rhizoctone). (Photo original)	35
Figure III.2: un tubercule infecté (Le rhizoctone). (Photo original)	36
Figure III.4 : milieu de gélose PDA. (Photo original)	37
Figure III.5 : les zones infectées sur tubercule (L'alternariose). (Photo original)	38
Figure III.6 : les zones infectées sur les feuille et tiges (Le rhizoctone). (Photo original).	38
Figure III.7 : maladie de tige (Photo original)	38
Figure III.8 : maladie de tubercule. (Photo original)	38
Figure III.9 : maladie de feuille. (Photo original)	38
Figure III.10: maladie de tige (Fusarium). (Photo original)	39
Figure III.11: maladie de tubercule (L'alternariose). (Photo original)	39
Figure III.12: maladie de feuille (Le rhizoctone). (Photo original)	39
Figure III.13 : les papiers Wattman stérilisée. (Photo original)	42
Figure III.14 : le repiquage de souches fongique. (Photo original)	42
Figure III.15 : les disques placés sur la surface gélosée. (Photo original)	42
Figure III.16 : boîte de Pétri divisée en deux. (Photo original)	43

Liste des tableaux

Chapitre III : Partie expérimentale	
Tableau III.1 : les produits utilisant.	40
Tableau III.2 : Test Antagonisme Rhizoctone	44
Tableau III.3 : Test Antagonisme L'alternariose	46
Tableau III.4 : Test Antagonisme Fusarium	48
Tableau III.5 : Test Antagonisme.	49
Tableau III.5: Le rhizoctone	53
Tableau III.6 : L'alternariose	55
Tableau III.7 : Fusarium	58

Table des matières

Dedicase	
Introduction	
1 Maladies cryptogamiques	3
1.1 Fondements des maladies cryptogamiques :	3
1.1.1 Définition des maladies cryptogamiques :	3
1.1.2 Caractéristiques générales des champignons pathogènes :	3
1.2 Principales maladies cryptogamiques :	4
1.2.1 Le mildiou:	4
1.2.2 L'oïdium:	6
1.2.3 Rouille:	8
2 Des approches durables pour la gestion des maladies cryptogamiques	33
2.1 Antagonisme:	33
2.1.1 Définition de l'antagonisme:	33
2.1.2 Types d'antagonismes:	33
2.1.3 Mécanismes d'action des agents antagonistes :	34
2.1.4 Utilisation d'agents antagonistes dans la lutte contre les maladies cryptogamiques :	35
2.1.5 Technique L'antagonisme microbien:	36
2.1.6 les effets de l'antagonisme:	37
2.2 Exemples de biocontrôle dans la gestion des maladies cryptogamique:	38
2.2.1 Utilisation de Bacillus subtilis comme agent antagoniste :	38
2.2.2 Utilisation d'extraits de plantes comme traitement antifongique:	39
2.2.3 Utilisation de Trichoderma spp. comme bio-fongicide:	39
2.3 Perspectives et développement du biocontrôle dans la gestion des maladies cryptogamiques:	39
2.3.1 Recherche et développement sur le bio-contrôle:	39
3 III.1. Matériels et méthodes:	33
1.1 Travaux sur terrain:	33
1.1.1 Le test d'antagonisme:	33
1.1.2 Description des maladies étudiée de la pomme de terre:	33
3.2 Travaux au laboratoire :	36
3.2.1 Préparation milieux de culture;	36
3.2.2 Préparation des échantillons pour l'ensemencé:	38
III	

3.2.3	Description des souches utilisées :	39
3.2.4	Méthodes utilisées pour détecter l'activité antifongique:	41
3.3	Résultats:	43
3.4	Discussion:	52
4	Conclusion générale :	51
5	Références :	53

Résumé :

Ce manuscrit présente une étude expérimentale visant à évaluer l'efficacité des micro-organismes dans la lutte contre les agents pathogènes de la pomme de terre. Les maladies cryptogamiques, telles qu'*Alternaria*, *Fusarium* et *Rhizoctonia*, sont des problèmes majeurs qui affectent la production de pommes de terre à travers le monde. Dans cette étude, différents micro-organismes tels que d'un mélange de *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp. et *Trichoderma* sp. ont été sélectionnés, puis testés pour évaluer leur capacité à inhiber la croissance et la propagation de ces maladies. Les résultats obtenus suggèrent que certaines souches de micro-organismes peuvent offrir une protection significative contre les maladies cryptogamiques, ce qui ouvre la voie à de nouvelles approches de lutte biologique.

Au terme de cette étude, les produits les plus efficaces dans la lutte biologique contre *Alternaria*, *Fusarium* sont Bactiva, Tetracil et Vitabac qui contiennent *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma harzianum* et *Bacillus subtilis*, il y a d'autres produits qui ont une efficacité contre *Alternaria*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* comme Pentacil et Humus de Vermicompost mais ce n'est pas l'efficacité nécessaire pour inhiber la croissance de ces champignons.

Mots clé : *Alternaria*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, lutte biologique .

Abstract:

This report presents an experimental study aimed at evaluating the effectiveness of microorganisms in the control of cryptogamic diseases in potatoes. Cryptogamic diseases, such as *Alternaria*, *Fusarium*, and *Rhizoctonia*, are major problems that affect potato production worldwide. In this study, we selected different microorganisms, such as bacteria and fungi, and tested them for their ability to inhibit the growth and spread of these diseases. The results obtained suggest that certain strains of microorganisms can offer significant protection against Cryptogamic diseases, opening up new avenues for biological control approaches.

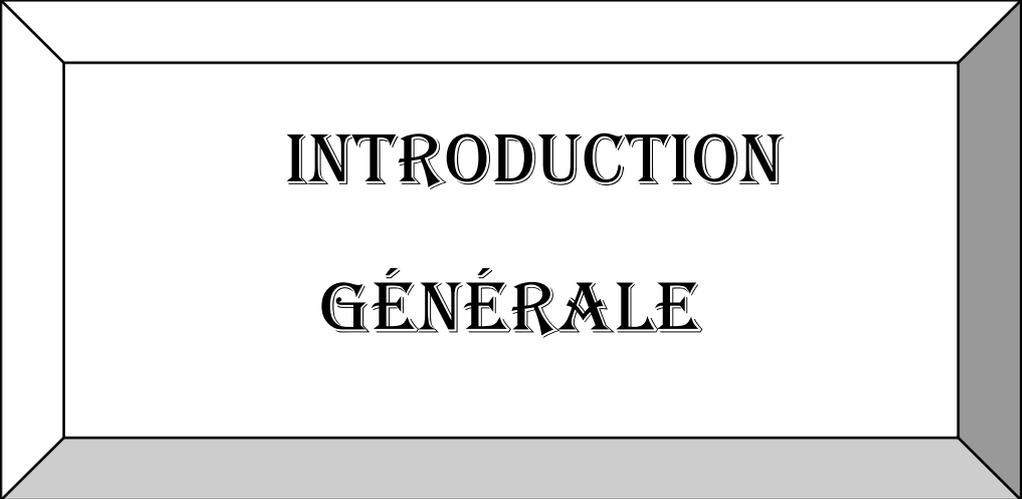
At the end of this study, the most effective product in biological control against *Alternaria* and *Fusarium* are Bactiva, Tetracil and Vitabac, which contains *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. There are other products like Pentacil Humus

of Vermicompost that have some efficacy against Rhizoctonia, Alternaria and Fusarium but it is not sufficient to inhibit the growth of these fungi.

Keywords: Alternaria, Fusarium, Rhizoctonia, biological control, Antagonism test

ملخص:

يقدم هذا التقرير دراسة تجريبية تهدف إلى تقييم فعالية الكائنات الدقيقة في مكافحة الأمراض الكريبتوجامية في البطاطس. الأمراض الكريبتوجامية مثل الألتيرناريا، الفيوزاريوم، وريزيكتونيا هي مشاكل رئيسية تؤثر على إنتاج البطاطس في جميع أنحاء العالم. في هذه الدراسة، اخترنا كائنات دقيقة مختلفة مثل البكتيريا والفطريات، واختبرنا قدرتها على تثبيط نمو وانتشار هذه الأمراض. تشير النتائج المستنتجة إلى أن بعض سلالات الكائنات الدقيقة يمكن أن توفر حماية كبيرة ضد الأمراض الكريبتوجامية، مما يفتح المجال لنهج جديد في مكافحة الأمراض البيولوجية. بناء على هذه الدراسة تبين أن منتجات الحماية البيولوجية الأكثر فعالية في مكافحة Fusarium و Alternaria هي Bactiva و Tetracil Vitabac، التي تحتوي على Pseudomonas fluorescens, Trichoderma و Bacillus subtilis و harzianum. وهناك منتجات أخرى مثل التي تمتلك فعالية في مكافحة Rhizoctonia, Alternaria و Fusarium ولكنها ليست الفعالية المطلوبة لتثبيط نمو هذه الفطريات. **كلمات المفتاحية:** الألتيرناريا، الفيوزاريوم، وريزيكتونيا، مكافحة البيولوجية، اختبار التنافس.



INTRODUCTION

GÉNÉRALE

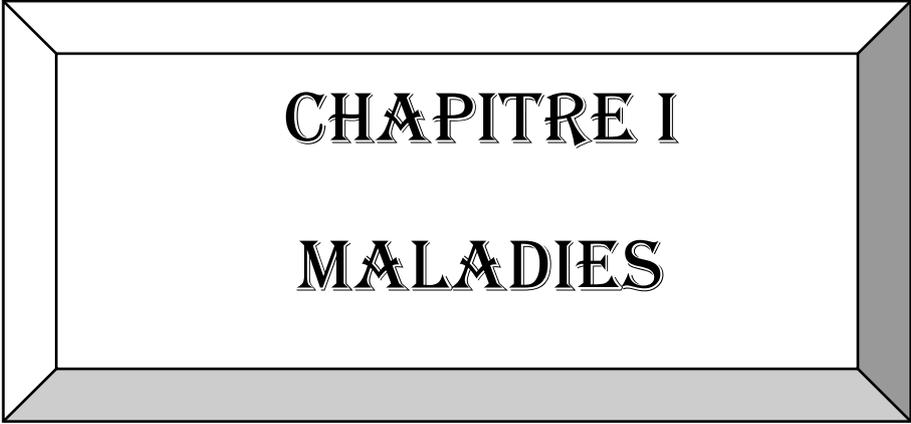
Introduction générale:

La culture de la pomme de terre est d'une importance cruciale pour la sécurité alimentaire mondiale. Cependant, les maladies pathogènes de la pomme de terre peuvent causer d'énormes pertes de récolte, menaçant ainsi la production et la disponibilité de ce tubercule vital. Traditionnellement, les producteurs de pommes de terre ont eu recours à l'utilisation de produits phytosanitaires chimiques pour lutter contre ces maladies, mais cela a souvent entraîné des problèmes d'impact environnemental, de résistance des pathogènes et des préoccupations quant à la sécurité alimentaire.

Cependant, une alternative prometteuse émerge : l'utilisation de produits à base de microorganismes bénéfiques pour contrôler les maladies pathogènes de la pomme de terre. Ces microorganismes comprennent des bactéries, des champignons et des virus qui peuvent agir de manière spécifique contre les pathogènes responsables des maladies, tout en préservant l'équilibre naturel de l'écosystème agricole.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité des produits à base de microorganismes bénéfiques dans la lutte contre les maladies pathogènes de la pomme de terre, en mettant l'accent sur l'*Alternaria*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* de la pomme de terre. Nous examinerons leur capacité à inhiber la croissance et la propagation du pathogène, ainsi que leur potentiel à stimuler la résistance naturelle de la plante hôte. De plus, nous évaluerons les effets de ces produits sur l'équilibre écologique du sol, la biodiversité et d'autres aspects clés de l'écosystème agricole.

Cette étude vise à contribuer à la transition vers des pratiques agricoles plus durables et respectueuses de l'environnement, tout en maintenant des niveaux de rendement adéquats pour la culture de la pomme de terre. Les résultats de cette recherche pourraient fournir des informations précieuses pour les agriculteurs, les décideurs politiques et les acteurs de l'industrie, les aidant ainsi à prendre des décisions éclairées sur l'utilisation des produits à base de microorganismes bénéfiques dans la protection des cultures de pommes de terre contre les maladies pathogènes. Comment faire face aux maladies cryptogamiques de la pomme de terre sans recourir aux produits chimiques, en préservant et améliorant la qualité du produit, tout en respectant le fonctionnement de l'écosystème ?



CHAPITRE I

MALADIES

1 Maladies cryptogamiques

1.1 Fondements des maladies cryptogamiques :

1.1.1 Définition des maladies cryptogamiques :

Les maladies cryptogamiques, également connues sous le nom de maladies fongiques, sont des infections causées par des micro-organismes du règne des champignons. Ces maladies affectent les plantes, qu'elles soient des cultures agricoles, des arbres forestiers, des plantes ornementales ou des plantes sauvages. Les champignons responsables de ces maladies se reproduisent généralement par spores, qui se propagent par le vent, l'eau, les insectes, le sol ou d'autres vecteurs [02].

Les maladies cryptogamiques peuvent attaquer différentes parties des plantes, telles que les feuilles, les tiges, les fleurs, les fruits ou les racines. Elles peuvent provoquer une gamme de symptômes, tels que des taches, des lésions, des pourritures, des flétrissements, des déformations ou des nécroses. Ces maladies peuvent réduire la croissance, la vigueur et le rendement des plantes, et elles peuvent entraîner des pertes économiques significatives [02].

1.1.2 Caractéristiques générales des champignons pathogènes :

Les champignons pathogènes responsables des maladies cryptogamiques présentent généralement certaines caractéristiques communes.

Mode de propagation: Les champignons pathogènes des maladies cryptogamiques se reproduisent généralement par la formation de spores, qui sont des structures de dispersion. Ces spores peuvent se propager par le vent, l'eau, les insectes, les animaux, le sol ou d'autres vecteurs, permettant ainsi la dissémination de l'infection [09].

Cycle de vie : Les champignons pathogènes des maladies cryptogamiques peuvent avoir des cycles de vie complexes. Ils peuvent passer par différentes étapes, telles que la germination des spores, la formation de structures de reproduction, la pénétration des tissus végétaux, la croissance et la colonisation des tissus infectés, et la production de nouvelles spores pour propager l'infection [02].

Dépendance de l'hôte : Les champignons pathogènes des maladies cryptogamiques sont spécifiques à certains hôtes végétaux. Chaque espèce de champignon pathogène a souvent une gamme limitée d'hôtes qu'elle peut infecter. Certains champignons peuvent également avoir des races ou des formes spécialisées qui ne peuvent infecter qu'un type spécifique de plante [02].

Mécanismes d'infection : Les champignons pathogènes des maladies cryptogamiques ont des mécanismes d'infection spécifiques. Ils peuvent utiliser des enzymes pour dégrader les barrières de défense de la plante, tels que la paroi cellulaire ou les substances chimiques toxiques. Certains champignons peuvent également former des structures spécialisées, comme des appressoria ou des haustorium, pour pénétrer les tissus végétaux et établir l'infection [02].

Symptômes : Les infections causées par les champignons pathogènes des maladies cryptogamiques peuvent entraîner une variété de symptômes visibles sur les plantes. Cela peut inclure des taches foliaires, des pourritures, des nécroses, des déformations, des flétrissements, des tumeurs, des formations de fructifications fongiques, ou d'autres altérations des tissus végétaux [02].

1.2 Principales maladies cryptogamiques :

1.2.1 Le mildiou:

Le mildiou, causé par le champignon *Phytophthora infestans*, est l'une des maladies cryptogamiques les plus destructrices affectant de nombreuses cultures, notamment la pomme de terre et la tomate [02].

1.2.1.1 Les symptômes:

Les symptômes apparaissent principalement sur les feuilles, les tiges et les fruits des plantes infectées.

Sur les feuilles, des taches de couleur vert olive à brune apparaissent, souvent bordées d'un halo jaune pâle. Ces taches peuvent se développer rapidement et se fondre entre elles.

Un feutrage blanc grisâtre, constitué de spores fongiques, peut se former à la face inférieure des feuilles lorsque l'humidité est élevée.

Sur les tiges, des lésions brunes ou noires peuvent se former, entraînant un flétrissement et une nécrose des parties supérieures de la plante.

Les fruits infectés peuvent présenter des taches brunâtres, molles et pourries, souvent accompagnées d'un feutrage gris [02].

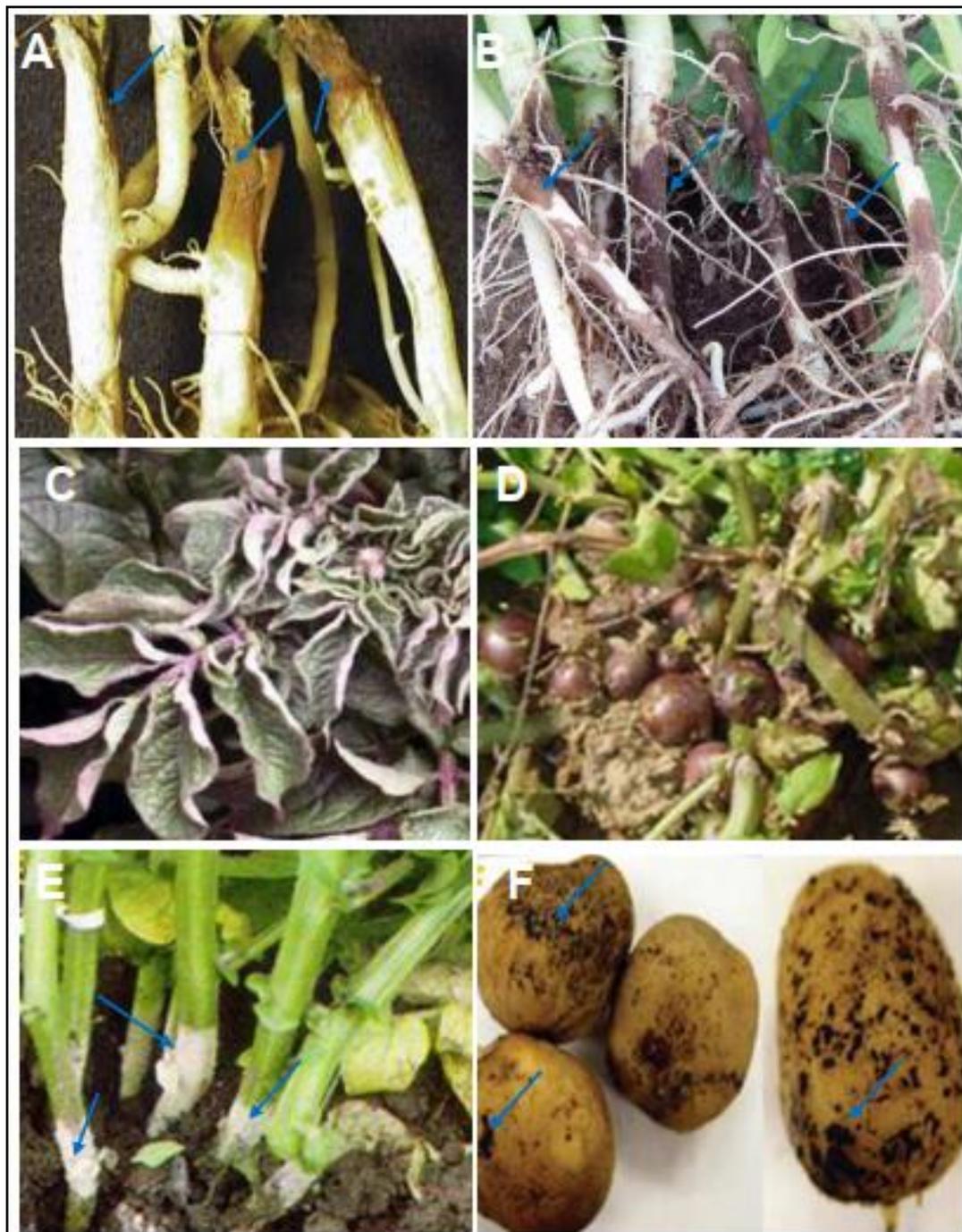


Figure I.1: Symptomatologie du chancre des tiges et du rhizoctone brun de la pomme de terre

A : Mort des extrémités des germes (flèche) avant leur émergence du sol,
B : Tiges montrant des chancres (flèche) [38],
C : Bouquets foliaire terminal dont les feuilles de coloration rougeâtre à violacée ont tendance à s'enrouler [39].

D : Formation de petits tubercules aériens au voisinage de la surface du sol [13],
E : Stade sexué de *R. solani* se formant à la base des tiges (flèche) [13],
F : Tubercules montrant des sclérotés de couleur foncé (flèche) [38].

1.2.1.2 Cycle de vie:

Le mildiou passe l'hiver sous forme de structures dormantes (oospores) dans les tubercules de pomme de terre ou les débris végétaux.

Au printemps, les spores produites sur ces structures sont libérées et dispersées par le vent ou l'eau.

Lorsque les conditions sont favorables (température de 15 à 25°C et humidité élevée), les spores germent et pénètrent les tissus végétaux.

À l'intérieur des tissus, le champignon se développe et se propage, produisant de nouvelles spores qui se disséminent et infectent d'autres parties de la plante ou d'autres plantes [08].

1.2.1.3 Facteurs favorisants :

Des conditions chaudes (20-25°C) et humides, avec des périodes de pluie ou d'humidité élevée, favorisent la germination des spores et la propagation de l'infection.

La présence de plantes infectées, de débris végétaux ou de tubercules contaminés dans les champs favorise la propagation du mildiou [02].

1.2.1.4 Méthodes de gestion :

Utilisation de plants résistants : Des variétés de pomme de terre et de tomate résistantes au mildiou sont **disponibles** et peuvent réduire les dommages.

Rotation des cultures : Éviter de cultiver des plantes sensibles au mildiou au même endroit chaque année.

Pratiques culturales : Éliminer les débris végétaux infectés, espacer les plantes pour favoriser la circulation de l'air, éviter les arrosages excessifs et maintenir une bonne nutrition des plantes.

Surveillance et prévention : Surveiller régulièrement les cultures pour détecter les premiers symptômes et prendre des mesures préventives, telles que l'application de fongicides bio-contrôles ou chimiques, lorsque les conditions sont propices au développement du mildiou [04].

1.2.2 L'oïdium:

L'oïdium, également connu sous le nom de blanc, est une maladie cryptogamique courante qui affecte de nombreuses plantes, y compris les cultures maraîchères, les fruits et les plantes ornementales [02].

1.2.2.1 Symptômes :

Les symptômes de l'oïdium apparaissent généralement sous la forme de taches poudreuses blanches ou grises sur les feuilles, les tiges, les fleurs et les fruits des plantes infectées.

Les taches de l'oïdium peuvent se développer rapidement et recouvrir une grande partie de la plante.

Les feuilles infectées peuvent se déformer, se recroqueviller ou tomber prématurément. Sur les fruits, l'oïdium peut causer des déformations, des taches blanches et une détérioration de la qualité [02].

1.2.2.2 Cycle de vie:

L'oïdium est causé par différents champignons du genre Erysiphales.

Le champignon produit des spores asexuées appelées conidies qui sont facilement dispersées par le vent.

Lorsque les conditions sont favorables, les conidies germent et infectent les tissus végétaux.

À l'intérieur des tissus, le champignon se développe en formant des filaments appelés mycélium qui produit de nouvelles conidies.

Le cycle de vie de l'oïdium peut être rapide, avec une multiplication rapide du champignon dans des conditions favorables [04].

1.2.2.3 Facteurs favorisants :

Des conditions de température modérée, généralement entre 15°C et 25°C, favorisent le développement de l'oïdium.

Une humidité relative élevée, généralement supérieure à 60%, est propice à la germination des conidies et à la croissance du champignon.

Un faible ensoleillement et une faible circulation de l'air peuvent également favoriser le développement de l'oïdium [02].

1.2.2.4 Méthodes de gestion :

Utilisation de variétés résistantes : Certaines variétés de plantes sont résistantes à l'oïdium et peuvent réduire l'incidence de la maladie.

Pratiques culturales : Éviter la densité excessive des plantes pour favoriser la circulation de l'air et l'ensoleillement. Éliminer les mauvaises herbes et les débris végétaux pour réduire les sources d'inoculum.

Surveillance régulière : Inspecter les cultures régulièrement pour détecter les premiers signes d'oïdium et prendre des mesures préventives dès que possible.

Application de fongicides : En cas d'infestation sévère, des fongicides spécifiques peuvent être utilisés conformément aux recommandations agricoles [02].

1.2.3 Rouille:

La rouille est une maladie cryptogamique qui affecte de nombreuses plantes, y compris les cultures céréalières, les arbres fruitiers et les plantes ornementales. Voici des informations sur les symptômes, le cycle de vie, les facteurs favorisants et les méthodes de gestion de la rouille [02].

1.2.3.1 Symptômes :

Les symptômes de la rouille apparaissent généralement sous forme de pustules de couleur rouge, orange ou brune sur les feuilles, les tiges, les fleurs et parfois même les fruits des plantes infectées.

Les pustules de rouille peuvent être élevées et avoir une texture rugueuse.

Les feuilles infectées peuvent se décolorer, se dessécher, se déformer et tomber prématurément.

Les tiges et les fruits peuvent également présenter des lésions nécrotiques [02].

1.2.3.2 Cycle de vie:

La rouille est causée par différents champignons appartenant aux genres *Puccinia*, *Melampsora* et d'autres.

Le champignon produit des spores spécifiques appelées spores de rouille, qui sont dispersées par le vent.

Lorsque les spores de rouille entrent en contact avec une plante hôte sensible, elles germent et pénètrent les tissus végétaux.

À l'intérieur des tissus, le champignon se développe en formant des structures reproductrices, telles que des pustules, qui produisent de nouvelles spores de rouille.

Les spores de rouille peuvent se propager à d'autres parties de la plante ou à d'autres plantes, contribuant ainsi à la propagation de la maladie [04].

1.2.3.3 Facteurs favorisants:

Des conditions de température modérée à élevée, généralement entre 15°C et 25°C, favorisent le développement de la rouille.

Une humidité relative élevée, généralement supérieure à 75%, est propice à la germination des spores de rouille et à la propagation de la maladie.

La présence d'une plante hôte sensible est un facteur favorisant important pour la propagation de la rouille [02].

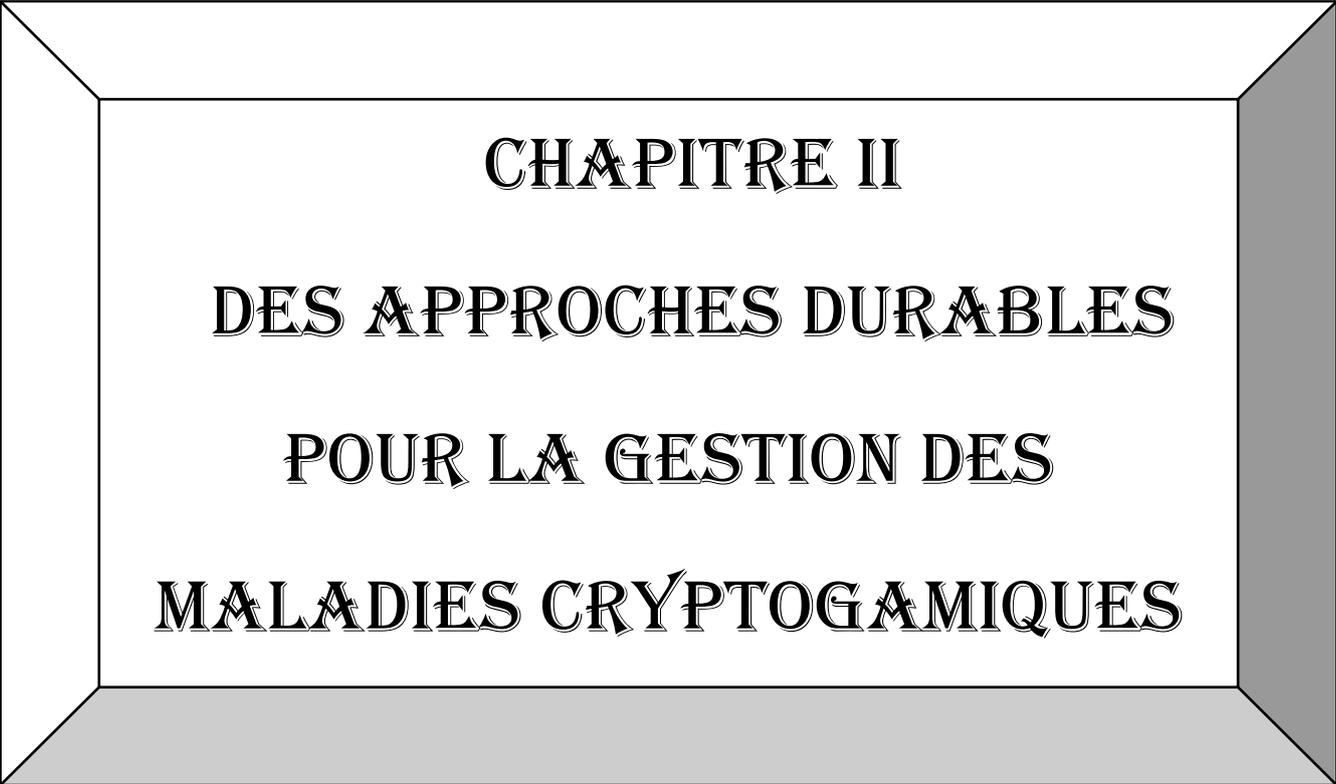
1.2.3.4 Méthodes de gestion :

Utilisation de variétés résistantes : Certaines variétés de plantes sont résistantes à la rouille et peuvent réduire l'incidence de la maladie.

Pratiques culturales : Éliminer les mauvaises herbes et les débris végétaux pour réduire les sources d'inoculum. Espacer les plantes pour favoriser la circulation de l'air et réduire l'humidité.

Surveillance régulière : Inspecter les cultures régulièrement pour détecter les premiers signes de rouille et prendre des mesures préventives dès que possible.

Application de fongicides : En cas d'infestation sévère, des fongicides spécifiques peuvent être utilisés conformément aux recommandations agricoles [33].



CHAPITRE II

DES APPROCHES DURABLES

POUR LA GESTION DES

MALADIES CRYPTOGAMIQUES

Des approches durables pour la gestion des maladies cryptogamiques

2.1 Antagonisme:

2.1.1 Définition de l'antagonisme:

L'antagonisme se réfère à une relation entre deux entités où l'une exerce une influence négative ou inhibitrice sur l'autre. Cela peut se produire dans différents contextes, tels que la microbiologie, la pharmacologie, l'écologie, la physiologie et les relations sociales. Dans le domaine biologique, l'antagonisme microbien fait référence à la capacité d'un microorganisme à inhiber ou à supprimer la croissance d'autres microorganismes, généralement par des mécanismes tels que la production de substances chimiques toxiques, la compétition pour les ressources ou la modification de l'environnement. Dans d'autres contextes, l'antagonisme peut se manifester par des effets opposés entre des substances chimiques, des muscles antagonistes, des gènes ou des entités commerciales ou politiques. L'antagonisme joue un rôle essentiel dans la régulation des interactions et des équilibres entre les organismes et les systèmes [19].

Il s'agit d'une interaction négative entre deux espèces, dans laquelle le cycle de vie de l'une est interrompu, directement ou indirectement, par l'autre espèce antagoniste qui produit des substances inhibitrices. Cette relation antagoniste a été documentée par plusieurs études, notamment celles de Drapeau.

2.1.2 Types d'antagonismes:

Ces différents types d'antagonismes sont utilisés dans le cadre du bio-contrôle pour contrôler les maladies cryptogamiques de manière écologique et durable. Les types d'antagonismes peuvent être classés en plusieurs catégories :

2.1.2.1 Antagonism antibactérien :

Il s'agit d'une forme d'antagonisme où des bactéries produisent des substances ou des métabolites qui inhibent la croissance ou la survie d'autres bactéries pathogènes [32].

2.1.2.2 Antagonisme antifongique:

C'est une forme d'antagonisme dans laquelle des champignons ou des bactéries produisent des substances antifongiques qui inhibent la croissance ou le développement de champignons pathogènes [21].

2.1.2.3 Antagonisme antiviral :

Il se réfère à un type d'antagonisme où des organismes produisent des substances qui inhibent la réplication ou la propagation de virus pathogènes [21].

2.1.2.4 Antagonisme antiparasitaire :

C'est une forme d'antagonisme dans laquelle un organisme inhibe la croissance, le développement ou la survie d'autres organismes parasites tels que les nématodes ou les acariens [21].

2.1.2.5 Antagonisme compétitif:

Il s'agit d'une forme d'antagonisme dans laquelle des organismes concurrents se disputent les ressources disponibles, limitant ainsi la croissance ou la survie des organismes pathogènes [21].

2.1.2.6 Antagonisme indirect:

On parle ici d'une relation de compétition entre les espèces sur les ressources nutritionnelles du microenvironnement où elles coexistent. La germination des conidies du phyto-pathogène *Botrytis cinerea*-à titre d'exemple- est inhibée par les différentes espèces de *Pseudomonas* sp. due à la compétition sur les acides aminés [01].

2.1.2.7 L'antagonisme par inhibition de croissance:

Est une stratégie utilisée pour gérer les maladies cryptogamiques. Elle implique l'utilisation de micro-organismes bénéfiques ou de composés naturels pour inhiber la croissance des agents pathogènes responsables de ces maladies. Les antagonistes sont introduits dans l'environnement des plantes pour coloniser leurs organes et produire des substances inhibitrices [35].

2.1.3 Mécanismes d'action des agents antagonistes :

Ces mécanismes d'action peuvent varier en fonction des interactions spécifiques entre les agents antagonistes et les agents pathogènes, ainsi que des conditions environnementales. La combinaison de plusieurs mécanismes d'action peut améliorer l'efficacité des agents antagonistes dans la gestion des maladies cryptogamiques [28].

Les agents antagonistes utilisés dans la lutte contre les maladies cryptogamiques agissent selon différents mécanismes pour inhiber la croissance et la propagation des agents pathogènes responsables de ces maladies [28].

2.1.3.1 Compétition pour les ressources :

Les agents antagonistes colonisent les organes des plantes et utilisent les ressources disponibles, privant ainsi les agents pathogènes de ces ressources essentielles à leur croissance et leur développement [21].

2.1.3.2 Production de substances inhibitrices:

Les agents antagonistes produisent des substances chimiques ou biologiques qui ont des effets inhibiteurs sur les agents pathogènes. Ces substances peuvent être des enzymes, des toxines, des antibiotiques ou d'autres composés inhibiteurs de la croissance des pathogènes [21].

2.1.3.3 Stimulation du système de défense des plantes :

Certains agents antagonistes peuvent stimuler le système de défense naturel des plantes, renforçant ainsi leur résistance aux maladies cryptogamiques. Cela peut se faire par l'induction de la production de phytoalexines, de protéines de défense ou d'autres mécanismes de résistance [12].

2.1.3.4 Parasitisme ou prédation des agents pathogènes :

Certains agents antagonistes sont des prédateurs ou des parasites des agents pathogènes. Ils attaquent directement les pathogènes en les parasitant, les dévorant ou en les utilisant comme source de nutriments, réduisant ainsi leur population et leur impact sur les plantes hôtes [12].

2.1.3.5 Modification de l'environnement:

Certains agents antagonistes modifient l'environnement microbien autour des plantes, créant des conditions défavorables à la croissance des agents pathogènes. Par exemple, ils peuvent acidifier le milieu, réduire la disponibilité des nutriments ou perturber les interactions entre les pathogènes et leur environnement [21].

2.1.4 Utilisation d'agents antagonistes dans la lutte contre les maladies cryptogamiques :

L'utilisation d'agents antagonistes est une stratégie prometteuse dans la lutte contre les maladies cryptogamiques. Ces agents, tels que des micro-organismes bénéfiques ou des composés naturels, sont introduits dans l'environnement des plantes pour inhiber la croissance des agents pathogènes responsables des maladies [26].

2.1.4.1 Sélection d'agents antagonistes :

Il est crucial de sélectionner des agents antagonistes adaptés qui sont efficaces contre les agents pathogènes spécifiques responsables des maladies. Ces agents peuvent être des bactéries, des champignons, des virus ou même des extraits de plantes ayant des propriétés antifongiques [21].

2.1.4.2 Mode d'application:

Les agents antagonistes peuvent être appliqués de différentes manières, selon le type d'agent et la culture cible. Cela peut inclure l'application de suspensions de cultures,

l'utilisation de composts ou de substrats enrichis en micro-organismes bénéfiques, ou même l'inoculation de semences avec des agents antagonistes. [26]

2.1.4.3 Conditions environnementales:

L'efficacité des agents antagonistes dépend des conditions environnementales, telles que la température, l'humidité et le pH. Il est important de prendre en compte ces facteurs lors de l'application des agents antagonistes pour maximiser leur efficacité [25].

2.1.4.4 Compatibilité avec d'autres méthodes:

Les agents antagonistes peuvent être utilisés en complément d'autres méthodes de gestion intégrée des maladies, telles que l'utilisation de produits chimiques, la rotation des cultures et la gestion de l'environnement. Une approche combinée peut renforcer l'efficacité globale de la lutte contre les maladies cryptogamiques [25].

2.1.4.5 Durabilité et sécurité:

L'utilisation d'agents antagonistes offre une approche durable et respectueuse de l'environnement pour la gestion des maladies cryptogamiques. Contrairement à l'utilisation excessive de produits chimiques, l'utilisation d'agents antagonistes vise à réduire la dépendance aux pesticides tout en préservant la santé des plantes et de l'écosystème [25].

2.1.5 Technique L'antagonisme microbien:

L'antagonisme microbien peut être exploité et favorisé par différentes techniques pour contrôler les pathogènes, améliorer les rendements agricoles ou favoriser la santé des plantes. Voici quelques-unes des techniques couramment utilisées :

2.1.5.1 Utilisation de micro-organismes antagonistes:

Certains micro-organismes bénéfiques peuvent être utilisés de manière ciblée pour contrôler les pathogènes. Par exemple, l'introduction de bactéries ou de champignons antagonistes dans le sol ou sur les plantes peut réduire l'incidence des maladies en inhibant la croissance des pathogènes. Cette approche est connue sous le nom de bio-contrôle ou de lutte biologique [18].

2.1.5.2 Utilisation de produits biologiques:

Des produits biologiques contenant des microorganismes antagonistes ou leurs métabolites peuvent être développés et utilisés pour le contrôle des maladies. Ces produits peuvent être appliqués directement sur les cultures pour réduire l'infection par les pathogènes [24].

2.1.5.3 Utilisation de techniques de lutte biologique augmentative :

La lutte biologique augmentative consiste à augmenter délibérément la population de microorganismes antagonistes dans un écosystème pour contrôler les pathogènes. Cela peut

être réalisé en libérant massivement des microorganismes antagonistes ou en utilisant des produits commerciaux contenant des microorganismes bénéfiques [24].

2.1.5.4 Utilisation de substrats compétitifs:

Certains microorganismes antagonistes peuvent utiliser des substrats spécifiques pour se développer et concurrencer les pathogènes pour les ressources disponibles. L'application de substrats compétitifs, tels que des nutriments spécifiques ou des sources de carbone, peut favoriser la croissance des microorganismes antagonistes et réduire la compétitivité des pathogènes [22].

2.1.5.5 Utilisation de bio-fertilisants:

Les bio-fertilisants contiennent des microorganismes bénéfiques, tels que des bactéries fixatrices d'azote, des champignons mycorhizes ou des bactéries solubilisatrice de phosphate. Ces microorganismes peuvent améliorer la nutrition des plantes, renforcer leur système immunitaire et inhiber la croissance des pathogènes [22].

2.1.5.6 Utilisation de techniques de compostage:

Le compostage est un processus de décomposition des matières organiques qui implique l'activité de nombreux microorganismes. L'utilisation de techniques de compostage appropriées peut favoriser le développement de microorganismes antagonistes et contribuer à la suppression des pathogènes présents dans les déchets organiques [22].

2.1.5.7 Utilisation de mulch biologique:

L'application de mulch biologique, tel que de la paille, des feuilles mortes ou des débris végétaux, sur le sol peut favoriser la présence de microorganismes antagonistes. Le mulch fournit un environnement favorable à leur croissance et à leur activité, tout en réduisant la propagation des pathogènes par éclaboussures d'eau ou par contact direct [32].

2.1.5.8 Utilisation de techniques de solarisation :

La solarisation consiste à couvrir le sol avec une bâche transparente pour utiliser l'énergie solaire afin de chauffer le sol. Cette technique peut contribuer à la suppression des pathogènes en créant des conditions défavorables à leur survie tout en favorisant l'activité des microorganismes antagonistes bénéfiques [32].

2.1.6 Les effets de l'antagonisme:

L'antagonisme est un phénomène qui se produit lorsque deux organismes ou composés exercent des effets opposés l'un sur l'autre. Dans le contexte de la lutte contre les maladies cryptogamiques, l'antagonisme se réfère à l'action des agents antagonistes sur les agents pathogènes responsables de ces maladies. Voici quelques effets de l'antagonisme [34].

2.1.6.1 Inhibition de la croissance:

Les agents antagonistes sont capables d'inhiber la croissance des agents pathogènes en produisant des substances qui les empêchent de se développer et de se propager. Ces substances peuvent être des enzymes, des toxines ou d'autres composés inhibiteurs [15].

2.1.6.2 Compétition pour les ressources:

Les agents antagonistes concurrencer les agents pathogènes pour les ressources essentielles à leur survie et leur croissance, comme les nutriments et l'espace. Cette compétition réduit les chances de survie et de propagation des agents pathogènes [15].

2.1.6.3 Altération de l'environnement:

Les agents antagonistes peuvent modifier l'environnement microbien autour des plantes, ce qui crée des conditions défavorables pour les agents pathogènes. Ils peuvent acidifier le milieu, produire des métabolites antimicrobiens ou induire des changements physicochimiques qui limitent la croissance des agents pathogènes [07].

2.1.6.4 Induction de résistance systémique:

Certains agents antagonistes ont la capacité de stimuler le système immunitaire des plantes, ce qui renforce leur résistance aux infections fongiques. Cela se traduit par une réponse de défense plus rapide et plus efficace en cas d'attaque pathogène [36].

Contrôle biologique:

L'antagonisme peut également contribuer au contrôle biologique des maladies cryptogamiques. En colonisant les organes des plantes, les agents antagonistes empêchent l'établissement des agents pathogènes et réduisent ainsi leur prévalence dans l'environnement [36].

2.2 Exemples de bio-contrôle dans la gestion des maladies cryptogamique:

Ces différentes méthodes de bio-contrôle offrent des alternatives durables et respectueuses de l'environnement pour la gestion des maladies cryptogamiques, réduisant ainsi la dépendance aux produits chimiques tout en préservant la santé des cultures [18].

2.2.1 Utilisation de *Bacillus subtilis* comme agent antagoniste :

Bacillus subtilis est une bactérie bénéfique largement utilisée dans le bio-contrôle. Elle possède des propriétés antagonistes contre de nombreux agents pathogènes. En tant qu'agent de lutte biologique, *Bacillus subtilis* produit des substances antimicrobiennes telles que des enzymes, des peptides et des antibiotiques, qui inhibent la croissance des pathogènes et réduisent leur impact sur les cultures. Il peut être appliqué directement sur les plantes ou utilisé comme traitement des semences pour protéger les plantes dès le stade initial de croissance [26].

2.2.2 Utilisation d'extraits de plantes comme traitement antifongique:

Certains extraits de plantes possèdent des propriétés antifongiques et peuvent être utilisés comme alternative naturelle aux fongicides chimiques. Ces extraits contiennent des composés actifs tels que des huiles essentielles, des polyphénols, des alcaloïdes et des flavonoïdes, qui ont la capacité d'inhiber la croissance des champignons pathogènes. Ils peuvent être utilisés sous forme de pulvérisation foliaire ou d'application au sol pour protéger les cultures contre les maladies fongiques [20].

2.2.3 Utilisation de *Trichoderma* spp. comme bio-fongicide:

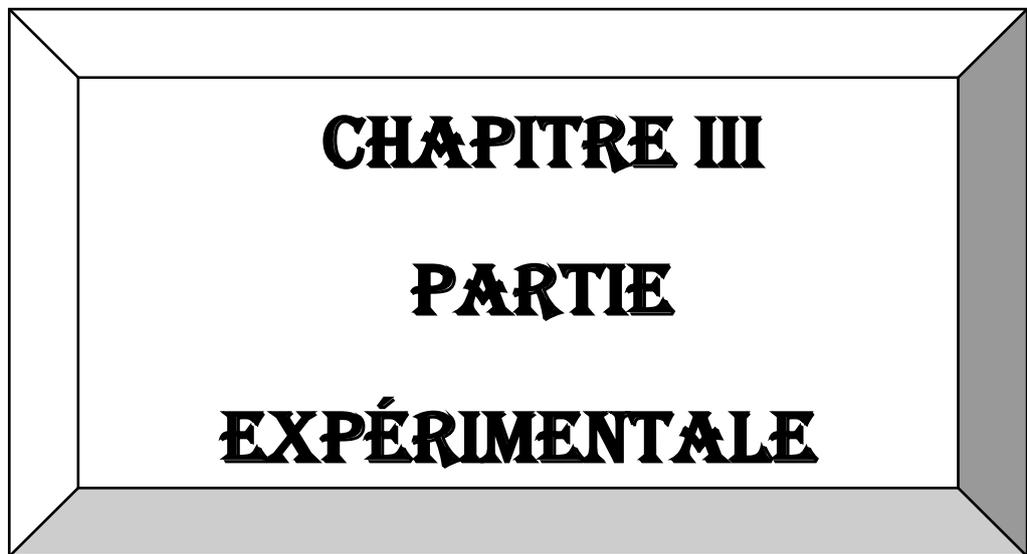
Trichoderma spp. est un genre de champignons bénéfiques largement utilisé comme bio-fongicide. Ces champignons colonisent le système racinaire des plantes et établissent une relation symbiotique. Ils produisent des enzymes antifongiques et concurrencer les champignons pathogènes pour les ressources, ce qui réduit leur développement et leur virulence. Les produits à base de *Trichoderma* spp. sont appliqués dans le sol ou sur les semences pour protéger les plantes contre les maladies fongiques et favoriser une croissance saine [20].

2.3 Perspectives et développement du bio-contrôle dans la gestion des maladies cryptogamiques:

Les perspectives et le développement du bio-contrôle dans la gestion des maladies cryptogamiques sont prometteuses, en combinant ces perspectives, le bio-contrôle a le potentiel de devenir une composante clé de la gestion durable des maladies cryptogamiques. Son utilisation peut contribuer à réduire l'impact des produits chimiques sur l'environnement, à préserver la biodiversité et à assurer une production agricole plus durable et résiliente [37].

2.3.1 Recherche et développement sur le bio-contrôle:

La recherche continue dans le domaine du bio-contrôle permettra d'identifier de nouveaux agents antagonistes, de mieux comprendre leurs mécanismes d'action et d'améliorer leur efficacité. Des efforts sont également déployés pour développer des formulations plus stables et pratiques, ainsi que pour optimiser les conditions d'application [37].



CHAPITRE III

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

III.1. Matériels et méthodes:

1.1 Travaux sur terrain:

Les prélèvements ont été effectués à partir des échantillons de la pomme de terre infesté (partie végétale, tubercule et racine), les échantillons prélevés ont été mis dans des récipients stériles.

1.1.1 Le test d'antagonisme:

Le test d'antagonisme est une méthode utilisée en microbiologie pour évaluer la capacité d'un microorganisme à inhiber la croissance ou l'activité d'autres microorganismes. Il permet de déterminer si un organisme produit des substances antimicrobiennes, telles que des antibiotiques, qui peuvent être utilisées pour contrôler la croissance des pathogènes [12].

1.1.2 Description des maladies étudiée de la pomme de terre:

3.1.1.1 Le rhizoctone de la pomme de terre:

Le rhizoctone est une maladie qui affecte les pommes de terre à différents stades de leur cycle de végétation, provoquant divers dommages. Ce pathogène peut également être présent sur d'autres cultures telles que la pomme de terre, le maïs, la betterave, les crucifères, etc. [15].

Au début de la végétation, les symptômes du rhizoctone de la pomme de terre incluent des levées irrégulières ou tardives, en particulier dans un climat froid et humide. On peut également observer des taches brunes (nécroses) sur les germes et les stolons. En cas d'attaque importante, le rendement brut et le calibrage des tubercules peuvent être altérés [31].

Les symptômes sur les tubercules se manifestent par des déformations, des entailles ou des crevasses, ainsi qu'une altération superficielle de la peau avec l'apparition de liège ou de desquamation. De plus, des amas superficiels noirs appelés sclérotés peuvent persister même après le lavage des tubercules. En conséquence, les tubercules atteints ne sont pas commercialisables en tant que pommes de terre lavées [31].

Plusieurs facteurs favorisent le développement de la maladie, notamment un climat frais et humide après la plantation, ainsi que des conditions qui retardent la levée des plants. Cela peut inclure une plantation profonde, précoce ou dans un sol froid avec des plants non germés ou non réchauffés [31].

Le rhizoctone peut entraîner des pertes de rendement pouvant atteindre 20%. De plus, le calibrage et la qualité des tubercules peuvent être considérablement altérés, au point de rendre

un lot non commercialisable en tant que pommes de terre lavées. Il est donc essentiel de mettre en place des mesures de prévention et de contrôle adéquates pour minimiser les risques associés à cette maladie [31].



Figure III.1: les feuilles et tige. (Photo original)

3.1.1.2 L'alternariose de la pomme de terre:

L'alternariose peut entraîner des pertes de rendement, en particulier lorsque la maladie se manifeste de manière précoce [30].

Les symptômes de l'alternariose de la pomme de terre sur les feuilles se caractérisent généralement par une attaque du feuillage après la floraison, en commençant par les étages foliaires inférieurs. Cela peut entraîner une sénescence précoce des plantes. Sur les feuilles, on observe des taches nécrotiques brunes de taille variable, avec des anneaux concentriques sur les taches les plus importantes, sur les tubercules, des taches brunes déprimées peuvent apparaître pendant le stockage [30].

Plusieurs facteurs favorisent le développement de la maladie. L'alternariose est favorisée par l'alternance de périodes sèches et humides, ainsi que par un stress de la culture, tel que la sécheresse, les attaques d'insectes ou les carences nutritionnelles. L'intensité de la maladie n'est pas liée à la pression de l'inoculum à chaque cycle, mais plutôt à la succession de cycles rapprochés [16].

En cas d'attaque précoce, les pertes de rendement peuvent varier de 5% à 20%. Bien que généralement peu élevées, les pertes de rendement peuvent devenir significatives en cas d'attaque très précoce, atteignant parfois plus de 50% de la récolte dans certains cas [09].



Figure III.2: un tubercule infecté (Le rhizoctone). (Photo original)

3.1.1.3 La fusariose:

La fusariose est une maladie cryptogamique qui affecte la pomme de terre. Elle est causée par différents champignons appartenant au genre *Fusarium*. Cette maladie peut provoquer des dommages considérables aux plantes de pomme de terre à différents stades de leur cycle de croissance. Les champignons *Fusarium* peuvent également être présents sur d'autres cultures, comme le maïs, la betterave, les crucifères, etc. [31].

Les symptômes de la fusariose de la pomme de terre peuvent varier, mais ils sont souvent observés au début de la végétation. Lorsque les conditions climatiques sont froides et humides, les levées des plantules peuvent être irrégulières ou tardives. Des taches brunes, appelées nécroses, peuvent apparaître sur les germes et les stolons [35].

Sur les tubercules, on peut observer des déformations, des entailles ou des crevasses. La peau des tubercules peut présenter une altération superficielle telle que du liège ou de la desquamation. Des amas superficiels noirs, appelés sclérotés, peuvent également être présents et persistent même après le lavage des tubercules. Les tubercules affectés par la fusariose ne sont pas commercialisables en tant que pommes de terre lavées [34].

Plusieurs facteurs favorisent le développement de la maladie. Un climat frais et humide après la plantation est propice à l'infection. Tout ce qui retarde la levée des plantules, comme une plantation profonde ou précoce dans un sol froid, peut également favoriser la fusariose. Les plantes de pomme de terre non germées ou non réchauffées sont également plus susceptibles d'être affectées [31].

3.2 Travaux au laboratoire :

3.2.1 Préparation milieux de culture;

- ✓ Gélose Sabouraud
- ✓ Gélose PDA

On a utilisé deux milieux de culture (milieu de gélose sabouraud pour maladie de tige, milieu de gélose PDA pour maladie de feuille et tubercule).

3.2.1.1 Préparation du milieu de gélose sabouraud;

La gélose Sabouraud est un milieu de culture spécialement formulé pour la croissance des champignons et des levures. Elle offre un environnement propice à leur développement tout en inhibant la croissance des bactéries, ce qui en fait un outil essentiel en microbiologie pour l'isolement et l'identification des champignons et des levures. Elle a été développée par le médecin et mycologue français Raymond Sabouraud au début du 20e siècle [16].

- ✓ 1000 ml eau distillé.
- ✓ 61.4 g sabouraud solide.
- ✓ Mélange avec un Agitateur magnétique hotoplate.
- ✓ Pendant 20 min à l'autoclave, Au-delà de cette période, ils ont été mis près de bec Bunsen puis le milieu a été coulé dans des boites de Pétri après refroidissement.



Figure III.3: milieu de gélose Sabouraud. (Photo original)

3.2.1.2 Préparation du milieu de gélose PDA;

La gélose PDA (Potato Dextrose Agar) est un milieu de culture largement utilisé en microbiologie et en mycologie. Il est principalement utilisé pour la croissance et l'isolement des champignons, mais il peut également être utilisé pour d'autres micro-organismes tels que les levures et les bactéries [29].

La gélose PDA est préparée à partir d'un extrait de pommes de terre et de glucose, ce qui en fait un milieu riche en éléments nutritifs pour les micro-organismes. L'amidon présent dans l'extrait de pommes de terre fournit des glucides et d'autres nutriments nécessaires à la croissance des micro-organismes, tandis que le glucose supplémentaire stimule leur croissance [29].

- ✓ 1000 ml eau distillé.
- ✓ 200 g pomme de terre.
- ✓ 20 g Dextrose.
- ✓ 20 g Agar-agar.
- ✓ Mélange avec un Agitateur magnétique hotoplate.
- ✓ Pendant 20 min à l'autoclave, Au-delà de cette période, ils ont été mis près de bec Bunsen puis le milieu a été coulé dans des boites de Pétri après refroidissement.

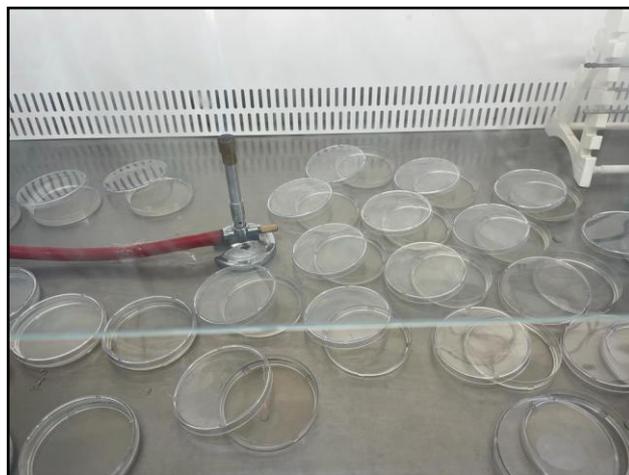


Figure III.4 : milieu de gélose PDA. (Photo original)

3.2.2 Préparation des échantillons pour l'ensemencé:

Lavé la pomme de terre et les feuilles, la tige avec l'eau distille et l'eau physiologie, coupé les zone infectée par ciseaux stérile à des petits morceaux (2≈3mm);



Figure III.5 : les zones infectées sur tubercule (L'alternariose). (Photo original)



Figure III.6 : les zones infectées sur les feuille et tiges (Le rhizoctone). (Photo original).

Séchage les échantillons et ensemencé sur les boîte pétri du milieu de culture puis mise à l'incubation à $30\pm 1C^{\circ}$ pendant 6-7jour afin d'obtenir de meilleurs résultats.



Figure III.7 : maladie de tige (Photo original)

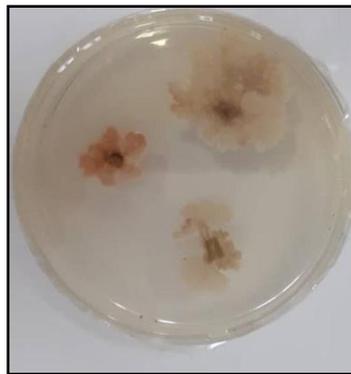


Figure III.8 : maladie de tubercule. (Photo original)



Figure III.9 : maladie de feuille. (Photo original)

3.2.3 Description des souches utilisées :

Les souches commercial; sont des biostimulants « des fertilisants qui stimulent le processus de nutrition des végétaux indépendamment des éléments nutritifs qu'ils contiennent, dans le seul but d'améliorer une ou plusieurs caractéristiques suivantes des végétaux ou de leur rhizosphère:

- ✓ l'efficacité de l'utilisation des éléments nutritifs,
- ✓ la tolérance au stress abiotique,
- ✓ les caractéristiques qualitatives,
- ✓ et la disponibilité des éléments nutritifs confinés dans le sol et la rhizosphère.

Définition de la commission européenne (issue du Règlement Européen 2019/1009 paru au JO en juin 2019 et qui sera d'application en juillet 2022).

La souche d'origine naturelle ; Le humus de vermi compost, également connu sous le nom de vermi compost, est un type de compost produit à partir de déchets organiques qui ont été dégradés par des vers de terre. Les vers de terre ingèrent les matières organiques, les digèrent et les transforment en un compost riche en nutriments [11].

L'humus de vermi compost est caractérisé par sa texture légère, friable et sombre, et il est souvent utilisé comme amendement organique dans les jardins et les cultures. Il contient une quantité élevée de matière organique décomposée, des nutriments essentiels tels que l'azote, le phosphore et le potassium, ainsi que des micro-organismes bénéfiques pour le sol. L'humus de vermi compost améliore la structure du sol, favorise la rétention d'eau et la circulation de l'air, stimule la croissance des plantes et contribue à la santé globale du sol [03].

Tableau III.1 : les produits utilisant.

Les souches d'origine commerciale	Souche d'origine
-----------------------------------	------------------

	naturelle
Tetracil: <i>B.amyloliquefaciens</i> , <i>B.licheniformis</i> , <i>B.pumilus</i> , <i>B.subtilis</i> .	Humus de vermicompost.
Vitabac: <i>Azospirillum brasilense</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> .	
Pentacil: <i>B.amyloliquefaciens</i> , <i>B.licheniformis</i> , <i>B.pumilus</i> , <i>B.simplex</i> , <i>B.subtilis</i> .	
Bactiva: <i>Trichoderma harzianum</i> , <i>B.polymyxa</i> , <i>B.megaterium</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>T.reesei</i> , <i>T.viride</i> , <i>Gliocladium virens</i> .	
ProBiostag (non déclaré)	
Biorem (non déclaré)	

3.2.4 Méthodes utilisées pour détecter l'activité antifongique:

3.2.4.1 Méthode des disques :

On infuse le papier Wattman de 5mm stérilisé dans chaque produit biologique. Puis, les disques sont déposés sur la surface gélosée d'une boîte de Pétri contenant des souches fongique nouvellement cultivées [23].



Figure III.13 : les papiers Wattman de souches fongique. (Photo original)



Figure III.14 : le repiquage de souches fongique. (Photo original)

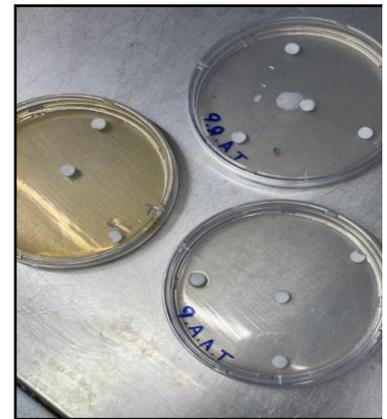


Figure III.15 : les disques placés sur la surface gélosée. (Photo original)

Méthode de division le boîte en deux :

La boîte de Pétri est divisée en deux parties égales, où le champignon est cultivé dans une moitié et le produit commercial est placé dans l'autre.

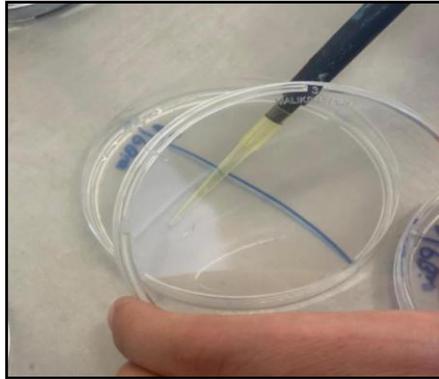


Figure III.16 : boîte de Pétri
Divisée en deux. (Photo original)

3.2.4.2 La method directe:

La méthode directe consiste à cultiver le champignon sur toute la surface de la boîte de Pétri, puis à placer directement le produit dans trois zones distinctes.

3.3 Résultats:

Aspect macroscopique:

La croissance du champignon commence à partir des échantillons cultivés, qui comprennent des parties des feuilles, des tiges et des tubercules. Par conséquent, des colonies différentes peuvent apparaître en termes de forme, de couleur et de type. Des colonies de champignons et de bactéries peuvent être présentes dans les échantillons cultivés.

Après l'incubation des échantillons, on choisit des échantillons bien développés et en bonne forme de chaque boîte pour effectuer le repiquage, l'incubation de repiquage se fait à $30 \pm 1\text{C}^\circ$ pendant 3 jours. Nous répétons le processus de repiquage plusieurs fois pour l'obtention des souches fongiques pures.

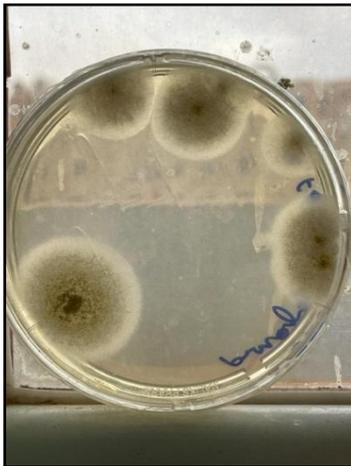


Figure III.10: maladie de tige (*Fusarium*). (Photo original)



Figure III.11: maladie de tubercule (*l'alternariose*). (Photo original)



Figure III.12: maladie de feuille (*Le rhizoctone*). (Photo original)

Aspect macroscopique:

Les caractères macroscopiques des différentes souches sont étudiés sur les milieux de culture PDA/sabouraud.

La présence de colonies fongiques identiques en termes de forme, de couleur et de type, et qui sont peu nombreuses, indique une croissance fongique pure. Cela signifie que le champignon se développe de manière isolée, sans présence d'autres contaminations fongiques ou bactériennes. La présence de ces colonies identiques facilite leur analyse et leur étude

individuelle, et elles peuvent être utilisées dans des expériences visant à comprendre les caractéristiques et le comportement physiologique du champignon de manière distincte.

Tableau III.2 : Test Antagonisme Rhizoctone

Les produits utilisés	Méthode de disque	Méthode de division la boîte en deux parties	La méthode directe.
Pentacil	Pas de résultat.	Croissance du rhizoctone dans sa partie, puis migration vers la partie contenant le Pentacil avec une diminution importante de croissance du rhizoctone.	Pas de résultat.
ProBiostag	Pas de résultat.	Croissance normale du rhizoctone sans résistance par le produit ProBiostag.	Pas de résultat.
Humus de Vermicompost	Pas de résultat.	Croissance du rhizoctone dans sa partie, puis migration vers la partie contenant l'Humus de vermi compost avec un développement limité du rhizoctone, s'arrêtant aux extrémités d'Humus de vermi compost.	Pas de résultat.
Vitabac	Croissance du rhizoctone dans les allons tours des disques de Vitabac mais le rhizoctone n'approche pas des disques contenant le Vitabac.	Développement du rhizoctone est important dans sa partie, mais pas de migration vers la partie du Vitabac.	Pas résultats
Tetracil	Le même cas avec le Vitabac -Croissance du rhizoctone dans les allons tours des disques de Tetracil, mais le rhizoctone n'approche pas des disques contenant le Tetracil.	Pas de résultat.	Pas de résultat.
Bactiva	Le même cas avec le	Le même cas avec le Vitabac	Pas de résultat.

	<p>Vitabac</p> <p>Croissance du rhizoctone</p> <p>Le rhizoctone n'approche pas des disques contenant le Bactiva.</p>	<p>Développement du rhizoctone est importante, mais pas de migration vers la partie du Bactiva</p>	
Biorem	<p>Pas de résultat.</p>	<p>Développement du rhizoctone dans sa partie, et migration vers la partie du Biorem avec une dominance partielle du rhizoctone.</p>	<p>Pas de résultat.</p>

Tableau III.3 : Test Antagonisme L'alternariose

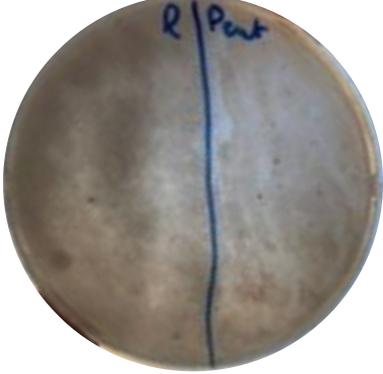
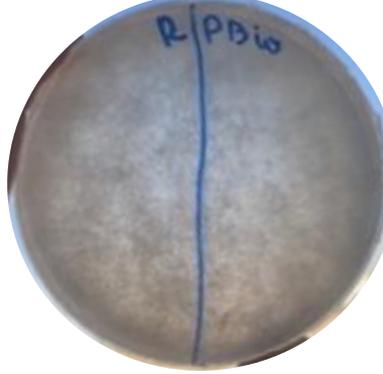
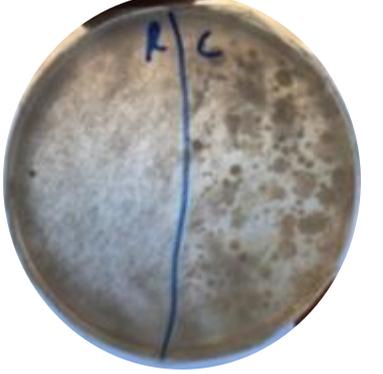
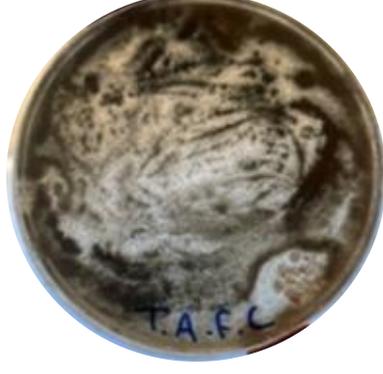
Les produits utilisés	Méthode de disque	Méthode de division le boîte en deux	La méthode directe.
Pentacil	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Développement du L'alternariose e dans sa partie, et migration vers la partie du Pentacil avec une dominance partielle du L'alternariose.
ProBiostag	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Le même cas avec le Pentacil Développement du L'alternariose migration vers la partie du ProBiostag avec une dominance partielle du L'alternariose.
Humus de vermi compost	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Le même cas avec le Pentacil Développement du L'alternariose migration vers la partie du Humus de vermi compost avec une dominance partielle du L'alternariose.
Vitabac	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Pas de résultat.
Tetracil	Le Tetracil a été développé en même temps avec la croissance de l'Alternaria, cependant, son développement est plus fort, ce qui se traduit par une interaction entre L'alternariose et Tetracil. Cette interaction entraîne l'arrêt de la croissance du L'alternariose.	Pas de résultat.	Pas de résultat.

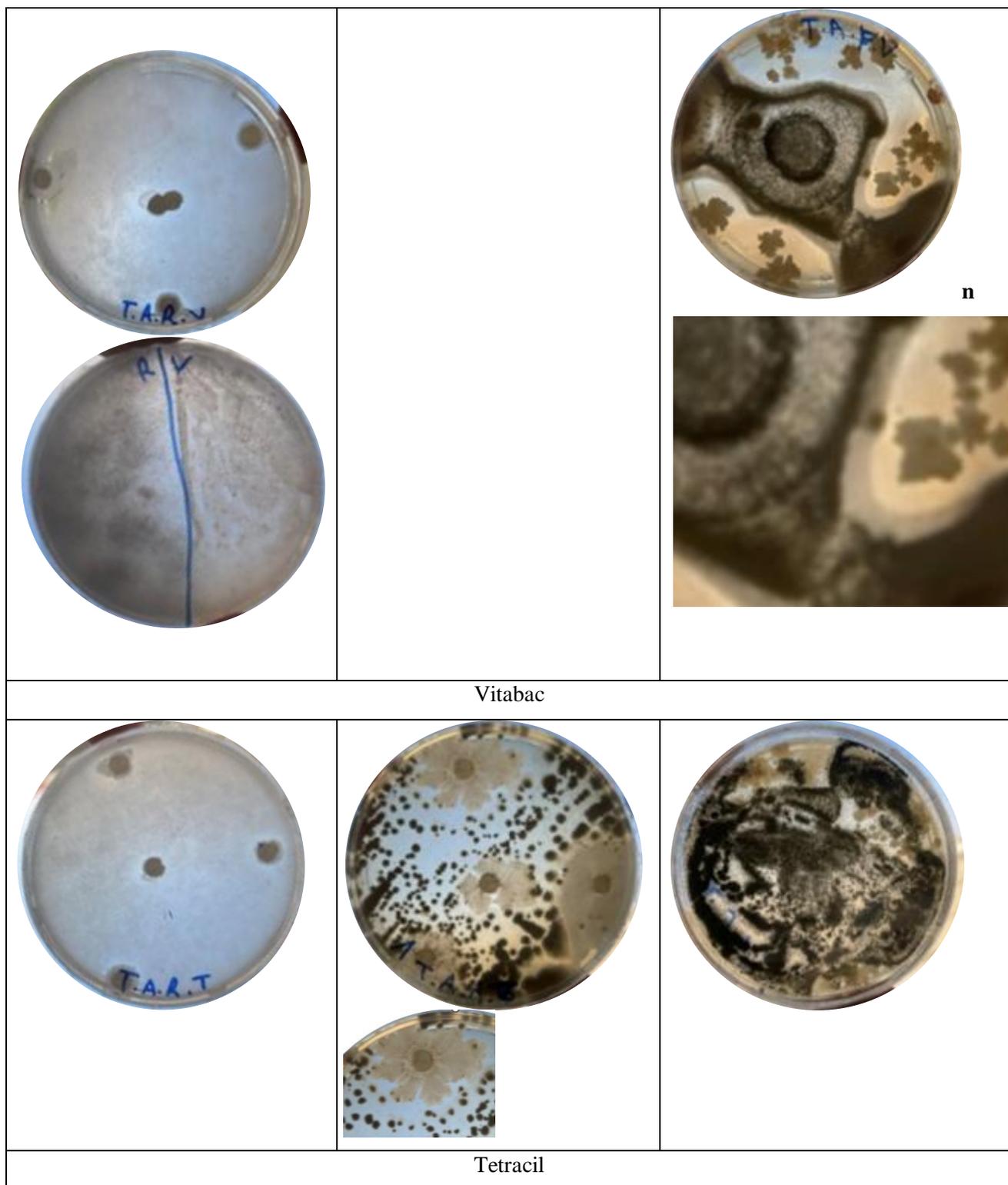
Bactiva	Bactiva développée en même temps de croissance de L'alternariose mais le développement de Bactiva est plus fort, L'alternariose n'approche pas les zone de développement de Bactiva.	Pas de résultat.	Pas de résultat.
Biorem	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Croissance normale du L'alternariose sans résistance par le produit Biorem.

Tableau III.4 : Test Antagonisme Fusarium

Les souches utilisent	Méthode de disque	Méthode de division le boite en deux	La méthode directe.
Pentacil	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Développement du Fusarium dans les allons tours Pentacil mais Fusarium n'approche pas des zones contenant le Pentacil.
ProBiostag	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Croissance normale du Fusarium sans résistance par le produit ProBiostag.
Humus de vermi compost	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Le même avec Pentacil Développement du Fusarium Fusarium n'approche pas des zones contenant l'Humus de vermi compost.
Vitabac	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Vitabac développée en même temps de croissance de Fusarium mais le développement de Vitabac est plus fort, Fusarium n'approche pas les zone de développement de Vitabac.
Tetracil	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Le même avec Pentacil Développement du Fusarium Fusarium n'approche pas des zones contenant le Tetracil.
Bactiva	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Le même avec Pentacil Développement du Fusarium. Fusarium n'approche pas des zones contenant le Bactiva.
Biorem	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Pas de résultat.

Tableau III.5 : Test Antagonisme.

Rhizoctonia	Alternaria	Fusarium
 <p>R / Pent</p>	 <p>Pentacil</p>	
Pentacil		
 <p>R / ProBio</p>	 <p>ProBiostag</p>	
ProBiostag		
 <p>R / C</p>	 <p>T.A.C</p>	 <p>T.A.F.C</p>
Humus de Vermicompost		





3.4 Discussion:

La discussion des tests d'antagonismes :

Tableau III.6: Le rhizoctone

Les produits utilisés	Méthode de disque	Méthode de division la boîte en deux parties	La méthode directe.
Pentacil	Pas de résultat.	Positive, curatif.	Pas de résultat.
ProBiostag	Pas de résultat.	Négative. le rhizoctone développe naturellement sans résistance en raison de l'incapacité de ProBiostag à produire des antibiotiques qui empêchent ou réduisent la croissance de rhizoctone.	Pas de résultat.
Humus de vermi compost	Pas de résultat.	Positive, curatif.	Pas de résultat.
Vitabac	Positive, préventif. Vitabac utilisé a une capacité préventive contre le rhizoctone, ce qui entraîne la production d'antibiotiques qui inhibent la croissance et l'approche du le rhizoctone, contrôlant ainsi sa croissance et réduisant les dommages à long terme. Vitabac se forme une barrière isolante empêchant l'approche du rhizoctone.	Positive, préventif. Vitabac utilisé a une capacité préventive contre le rhizoctone, ce qui entraîne la production d'antibiotiques qui inhibent la croissance et l'approche du rhizoctone, contrôlant ainsi sa croissance et réduisant les dommages à long terme. Vitabac se forme une barrière isolante empêchant l'approche du rhizoctone.	Pas résultats
Tetracil	Positive, préventif. Le même cas avec le Vitabac. Tetracil utilisé a une capacité préventive contre le rhizoctone. Tetracil se forme une barrière isolante empêchant l'approche du Rhizoctone.	Pas de résultat.	Pas de résultat.

Bactiva	Positive, préventif. Le même cas avec le Vitabac. Bactiva utilisé a une capacité préventive contre le rhizoctone. Bactiva se forme une barrière isolante empêchant l'approche du rhizoctone.	Positive, préventif. Le même cas avec le Vitabac. Bactiva utilisé a une capacité préventive contre le rhizoctone. Bactiva se forme une barrière isolante empêchant l'approche du rhizoctone.	Pas de résultat.
Biorem	Pas de résultat.	Positive, curatif.	Pas de résultat.

Tableau III.7 : L'alternariose

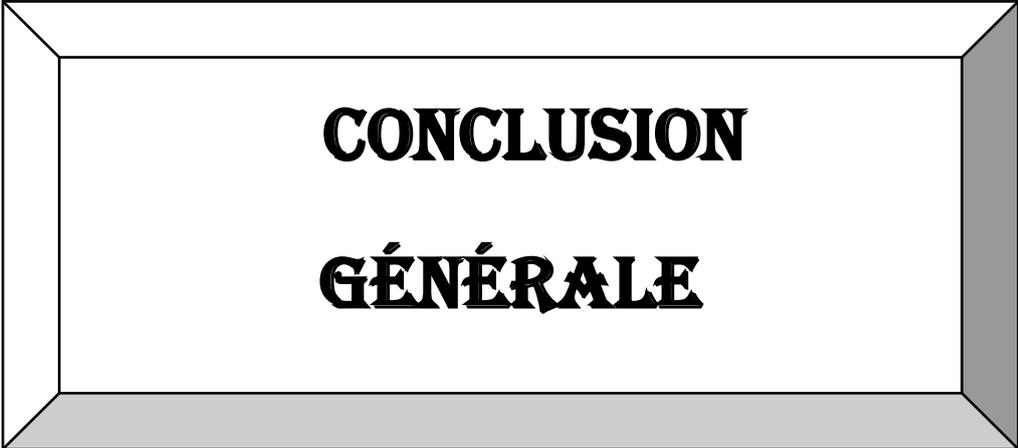
Les produits utilisés	Méthode de disque	Méthode de division le boite en deux	La méthode directe.
Pentacil	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, préventif. Pentacil utilisé a une capacité préventive contre L'alternariose, ce qui entraîne la production d'antibiotiques qui inhibent la croissance et l'approche du L'alternariose, contrôlant ainsi sa croissance et réduisant les dommages à long terme. Pentacil se forme une barrière isolante empêchant l'approche du L'alternariose.
ProBiostag	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, curatif. Il y a une croissance relative du L'alternariose car certains composants de ProBiostag ont la capacité de produire des antibiotiques pour lutter contre L'alternariose, c'est pourquoi nous constatons une croissance limitée des L'alternariose dans certaines zones et leur absence totale dans d'autres parties.
Humus de vermi compost	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, préventif. Le même cas avec Pentacil. Humus de vermi compost utilisé a une capacité préventive contre L'alternariose. Humus de vermi compost se forme une barrière isolante empêchant l'approche du L'alternariose.

Vitabac	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Pas de résultat.
Tetracil	Positive, préventif/ curatif. Tetracil utilisés ont une capacité préventive et thérapeutique contre ces L'alternariose. En conséquence, ils produisent des antibiotiques plus fort et plus efficaces qui empêchent la croissance et le développement du L'alternariose, même après la phase de croissance. Cela contribue à contrôler la croissance du L'alternariose et à réduire les dommages qu'il peut causer à long terme.	Pas de résultat.	Pas de résultat.
Bactiva	Positive, préventif. Bactiva utilisé a une capacité préventive contre L'alternariose. En conséquence, ils produisent des antibiotiques plus efficaces qui empêchent la croissance et le développement du L'alternariose. Cela permet de contrôler la croissance du L'alternariose et de réduire les dommages à long terme.	Pas de résultat.	Pas de résultat.
Biorem	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Négative. L'alternariose développe naturellement sans résistance en raison de l'incapacité du Biorem à produire des antibiotiques qui empêchent ou réduisent la croissance de L'alternariose.

Tableau III.8 : Fusarium

Les souches utilisent	Méthode de disque	Méthode de division le boîte en deux	La méthode directe.
Pentacil	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, curatif. Il y a une croissance relative du Fusarium car certains composants de Pentacil ont la capacité de produire des antibiotiques pour lutter contre ces Fusarium, c'est pourquoi nous constatons une croissance limitée des Fusarium dans certaines zones et leur absence totale dans d'autres parties
ProBiostag	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Négative. Fusarium se développe naturellement sans résistance en raison de l'incapacité de ProBiostag à produire des antibiotiques qui empêchent ou réduisent la croissance de Fusarium.
Humus de vermi compost	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, préventif. Humus de vermi compost utilisé a une capacité préventive contre Fusarium, ce qui entraîne la production d'antibiotiques qui inhibent la croissance et l'approche du Fusarium, contrôlant ainsi sa croissance et réduisant les dommages à long terme. Humus de vermi compost se forme une barrière isolante empêchant l'approche du Fusarium.

Vitabac	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, préventif. Vitabac utilisé a une capacité préventive contre Fusarium. En conséquence, ils produisent des antibiotiques plus efficaces qui empêchent la croissance et le développement du Fusarium. Cela permet de contrôler la croissance du Fusarium de réduire les dommages à long terme.
Tetracil	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, préventif. Le même cas avec Humus de vermi compost. - Tetracil utilisé a une capacité préventive contre Fusarium. -Tetracil se forme une barrière isolante empêchant l'approche du Fusarium.
Bactiva	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Positive, curatif. Le même cas avec Pentacil. une croissance limitée des Fusarium dans certaines zones et leur absence totale dans d'autres parties.
Biorem	Pas de résultat.	Pas de résultat.	Pas de résultat.



CONCLUSION

GÉNÉRALE

Conclusion générale :

Au terme de ce travail, et après plusieurs essais, il a été constaté que les meilleures conditions de croissance pour l'alternariose le rhizoctone sont une température de $30\pm 1C^{\circ}$ dans un milieu de culture PDA. Quant au champignon Fusarium, il préfère le milieu de culture Sabouraud avec la même température.

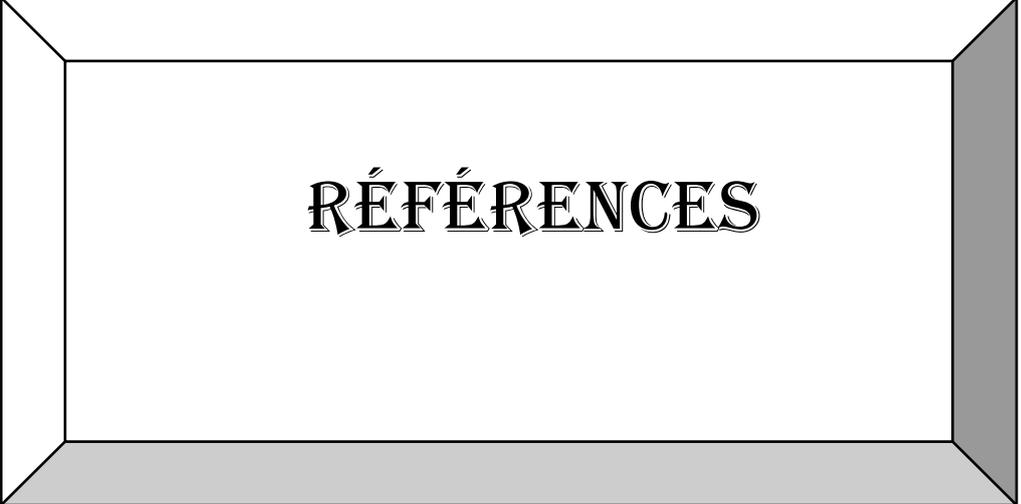
Les résultats des tests d'antagonisme, les résultats ont montré ce qui suit :

Pour Le rhizoctone, il a été constaté que Pentacil, Vitabac, Tetracil et Bactiva ont arrêté la croissance du rhizoctone, tandis que Humus de vermi compost et Biorem ont seulement réduit l'intensité de la croissance du rhizoctone.

Pour L'alternariose, Tetracil est considéré comme le plus efficace, car il a résisté considérablement au L'alternariose même après son développement. Bactiva, Humus de vermi compost et Pentacil ont arrêté sa croissance. Tandis que ProBiostag a seulement réduit l'intensité de la croissance du L'alternariose.

Pour Fusarium, Vitabac est considéré comme le plus efficace, Bactiva, Humus de vermi compost et Tetracil ont arrêté sa croissance. Tandis que Pentacil a seulement réduit l'intensité de la croissance du Fusarium.

Enfin, cette étude a contribué à trouver des solutions pour les maladies cryptogamiques de la pomme de terre, qui contribuent à limiter la propagation de L'alternariose, Le rhizoctone et Fusarium et à améliorer la production, tout en évitant l'utilisation de produits chimiques et leurs effets.



RÉFÉRENCES

Référence :

1. Adhya T., Mishra B., Annapurna K., Verma D., Kumar U. (2017). Progrès en microbiologie des sols : tendances récentes et perspectives futures. Springer, Singapour. 238 p.
2. Agrios, G. N. (2005). Pathologie des plantes. Academic Press.
3. Atiyeh, R. M., Subler, S., Edwards, C. A., & Metzger, J. D. (2000). Vermicompost de fumier de porc en tant que composant d'un substrat pour plantes horticoles : effets sur les propriétés physico-chimiques et la croissance des plantes. *Bioresource Technology*, 75(3), 175-180.
4. Bélanger, R. R., Bushnell, W. R., Dik, A. J., & Carver, T. L. (Éditeurs). (2014). Les oïdiums : un traité complet. APS Press.
5. Biondi, A., Guedes, R.N.C., Wan, F.H., & Desneux, N. (2018). Écologie, propagation mondiale et gestion de la mineuse sud-américaine de la tomate, *Tuta absoluta* : passé, présent et futur. *Annual Review of Entomology*, 63, 239-258.
6. Brasier, C. M., & Griffin, M. J. (Éditeurs). (2017). Maladies oomycètes des arbres et des arbustes : paradigmes des maladies émergentes des plantes. CABI.
7. Castlebury, L. A., & Carris, L. M. (2007). Populations d'*Alternaria* spp. causant le mildiou précoce de la pomme de terre dans le bassin de Columbia, Washington et Oregon. *Plant Disease*, 91(7), 910-916.
8. Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P.D.,... Foster, G.D. (2012). Les 10 principaux agents pathogènes fongiques en pathologie moléculaire des plantes. *Molecular Plant Pathology*, 13(4), 414-430.
9. Deising, H.B., et al. (Éditeurs). (2008). Biologie moléculaire du développement fongique. Springer.
10. Dhawan, S., et Kaur, J. (2019). Tests d'antagonisme et leur importance. In : Résistance aux antimicrobiens en agriculture : perspectives, évaluation des risques et atténuation. Springer. Pages 19-35.

11. Domínguez, J. (2004). État des lieux et nouvelles perspectives de la recherche sur le vermicompostage. Dans *Vermiculture Technology : Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management* (pp. 27-36).
12. Duffy, B. K., & Défago, G. (1999). Facteurs environnementaux modulant la biosynthèse des antibiotiques et des sidérophores par les souches de biocontrôle de *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(6), 2429-2438.
13. Durel, M., Lecomte, C., Pichard, J., & Pitrat, M. (2013). Les maladies du rhizoctone de la pomme de terre : biologie et stratégies pour une gestion intégrée. *Bulletin EPPO*, 43(3), 409-417.
14. Gosselin, B., Boulet, L. (2009). La rhizoctone. Réseau d'avertissements phytosanitaires, bulletin d'information n 4, pomme de terre, (2009), 4 pp.
15. Grzegorzczak, I., Zarzyńska-Nowak, A., & Kamola, D. (2016). Espèces d'*Alternaria* associées à la pomme de terre et à la tomate en Pologne. *Journal of Phytopathology*, 164(10), 801-814.
16. Gurr, G.M., Wratten, S.D., Landis, D.A., & You, M.S. (2017). *Génie écologique pour la gestion des ravageurs : avancées dans la manipulation de l'habitat des arthropodes*. Cambridge University Press.
17. Manuel des milieux microbiologiques" de Ronald M. Atlas : Ce livre de référence présente une large gamme de milieux de culture utilisés en microbiologie. Il fournit des protocoles détaillés pour la préparation de la gélose de Sabouraud et décrit ses applications.
18. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). Espèces de *Trichoderma* - symbiotes opportunistes et avirulents des plantes. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56.
19. Hibbing, M.E., Fuqua, C., Parsek, M.R. et al. (2010). Concurrence bactérienne : survivre (et prospérer) dans la jungle microbienne. *Nat Rev Microbiol*, 8(1), 15-25.
20. Hoddle, M.S. (2018). *Lutte biologique classique contre les espèces envahissantes : un guide pour les praticiens et les étudiants*. Cambridge University Press.
21. Hsieh, C. F., Cheng, K. C., & Wu, C. J. (2018). Activités antivirales de composés naturels contre le virus de l'herpès simplex de type 1. *Viruses*, 10(6), 326.

22. Huang, C.J., Tsay, J.F., Chang, S.Y., Yang, H.P., Wu, W.S., & Chen, C.Y. (2014). Activités antagonistes des lactobacilles contre la croissance et l'infection de *Helicobacter pylori* dans les cellules épithéliales gastriques humaines. *Journal of Food Science*, 79(5), M817-M823.
23. HWANHLEM N., BURADALENG S., WATTANACHANT S., BENJAKUL S., TANI A., MANEERAT S., 2011. Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains. *Food Control*, 22: 401-407.
24. Katan, J., Greenberger, A., & Alon, H. (1987). Chauffage solaire (solarisation) du sol pour le contrôle des parasites du sol. *Annual Review of Phytopathology*, 25(1), 271-288.
25. Khan, M. R., Doohan, F. M., & Hodges, L. (2005). Effectiveness of antagonistic fungi for control of *Fusarium* headblight of wheat caused by *Fusarium graminearum*. *Plant pathology*, 54(3), 277-286
26. Lahlali, R., Hijri, M., & Kumar, S. (2014). Interactions between soil microorganisms and plant pathogens: a promising approach for biological control of plant diseases. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 36(1), 1-11.
27. Landa B.B., Navas-Cortés J.A., Castillo P. (2019). Gestion intégrée des maladies des plantes utilisant des agents de lutte biologique, des éliciteurs et des pratiques culturales. Dans : *Integrated Disease Management of Wheat and Barley*. Burleigh Dodds Science Publishing, Cambridge, UK.
28. Leite, M. F., Panek, A. D., & Eleutherio, E. C. (2019). La concurrence comme force motrice dans les communautés microbiennes. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2274.
29. LESLIE J.F. et SUMMERELL B.A., 2006. Le manuel de laboratoire de *Fusarium*. 1ère édition. Blackwell Publishing Professional, 388p.
30. Nelson, P.E., et al. (Eds.). (1981). *Fusarium : Maladies, biologie et taxonomie*. The Pennsylvania State University Press.
31. Piotrowska, M. J., & Hałas, S. (2014). *Rhizoctonia solani* - l'agent causal de la pourriture noire et de la pourriture du collet de la pomme de terre. *Plant Protection Science*, 50(4), 163-173.

32. Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2016). Réponses immunitaires du sol. *Science*, 352(6292), 1392-1393.
33. Sharma, S. P., Sharma, O. P., & Sharma, A. K. (Eds.). (2016). *Pathologie végétale : Techniques et protocoles*. Springer.
34. Stenberg, J.A., Heil, M., Åhman, I., & Björkman, C. (2015). *Optimisation de la protection des cultures en agriculture biologique : Un manuel de méthodes*. Springer.
35. Sturrock, R. N., & Frank, S. A. (2001). Dynamique de l'infection des nématodes parasites dans les populations hôtes avec une réponse immunitaire hétérogène. *Journal of Parasitology*, 87(2), 353-359.
36. Suckling, D.M., & Kean, J.M. (2013). *Une perspective internationale sur les approches intégrées de la lutte contre les ravageurs et les mauvaises herbes dans les cultures de plein champ*. Springer Science & Business Media.
37. Vurro M., Gressel J. (Eds.). (2018). *Nouvelles biotechnologies pour l'amélioration et la gestion des agents de lutte biologique*. Springer, Cham.
38. Wharton, P., Kirk, W., Berry, D., & Snapp, S. (2007). Pourriture du collet et pourriture noire de la tige de la pomme de terre. Bulletin E2994. Michigan State University.
39. Site internet : <http://plantdepommedeterre.org>.