

## CHAPITRE I : I. LES MALADIES ET LES ACCIDENTS CHEZ LES PLANTES

### 1. Introduction

#### 1.1. Importance de la pathologie végétale

Quelle soit cultivée ou spontanée, une plante grandit et produit aussi longtemps que le sol lui fournit suffisamment d'humidité et de nutriment, que suffisamment de lumière soit captée par ses feuilles et que la température reste dans ces limites de tolérance. Malheureusement, lorsqu'une plante est atteinte d'une maladie, sa croissance, sa fertilité et sa productivité sont affectées [5]. Les maladies des plantes diminuent la valeur sélective des plantes.

La phytopathologie est l'étude des organismes et les facteurs de l'environnement qui causent les maladies des plantes ; les mécanismes par que ces facteurs induisent les maladies et les méthodes de prévention ou de contrôle de ces maladies [2].

#### 2. Signification d'une maladie chez une plante :

##### 2.1. Définition d'une maladie de plante :

Une maladie de plante peut être **par** une succession de réponses invisibles et visibles des cellules et des tissus d'une plante, suit à l'attaque d'un microorganisme ou la modification d'un facteur environnemental qui provoque des bouleversements de forme, de fonction ou d'intégrité de la plante. Ces réponses peuvent induire une altération partielle voire la mort de la plantes ou de certains de ces parties [2].

##### 2.1.1. Maladies infectieuses causées par :

- ✚ Des champignons
- ✚ Des procaryotes
- ✚ Des virus
- ✚ Des plantes supérieures parasites.
- ✚ Par des protozoaires
- ✚ Par des nématodes

##### 2.1.2. Maladies non infectieuses (abiotiques) causées par :

- ✚ Températures trop basses ou très hautes
- ✚ Manque ou excès d'humidité
- ✚ Manque ou excès de lumière
- ✚ Manque d'oxygène
- ✚ Déficiences nutritionnelles
- ✚ Pollution atmosphérique

### 3. Conséquences des maladies des plantes

Malgré les importants moyens de lutte actuellement utilisés, les maladies de plantes entraînent toujours des pertes considérables de production qui varient selon le type de culture. L'intensité et le type de lutte utilisés. On estime que 10% de la production potentielle mondiale est perdue suite aux maladies de plantes. Les maladies des plantes peuvent affecter les produits après leurs récolte ou encoure diminuer leur qualité et donc leur valeur ajoutée. On estime que dans certains cas les pertes après récolte s'élèvent jusqu'à 40% de la production potentielle. Transports, traitements, stockages, distribution, consommateurs autant d'étapes où la maladie peut survenir.

## CHAPITRE II. LES PRINCIPES DE LA PHYTOPATHOLOGIE GENERALE

### 1. Principe propre à une maladie

#### 1.1. Le « triangle de la maladie »

Il est important de se rappeler qu'une «maladie» n'est pas exactement la même chose qu'un «agent pathogène» ! Une façon d'envisager cela, est de penser à la maladie comme une interaction avec trois pièces nécessaires:

1) Tout d'abord, il doit y avoir un hôte qui est susceptible (prédisposé) à devenir malade. Par exemple, certains champignons pathogènes des plantes principalement attaquent les jeunes racines et plants, donc nous pouvons dire que les plantes plus âgées ne sont pas susceptibles à la maladie.

2) Deuxièmement, il doit y avoir un agent pathogène, que nous appelons parfois «l'agent causal", qui est capable d'attaquer la plante.

3) Troisièmement, l'interaction entre l'agent causal et la plante doit se produire dans un environnement qui est favorable (propice). Par exemple, certains agents pathogènes des plantes dans le sol ne peut attaquer quand il ya beaucoup d'eau dans le sol, tandis que d'autres sont plus actifs dans le sol sec. De nombreux champignons que les feuilles des plantes d'attaque nécessitant une pellicule d'eau sur la surface des feuilles en vue de pénétrer dans la plante.

#### 1.3. Étapes dans le développement de la maladie : le cycle de la maladie

Dans chaque maladie infectieuse une série d'événements plus ou moins distincts se produisent et entraînent le développement et la perpétuation de la maladie et de l'agent pathogène. Cette chaîne d'événements est appelée **un cycle de la maladie**. Un cycle de la maladie correspond parfois au cycle de vie du pathogène, mais il se réfère principalement à l'apparition, le développement et la perpétuation de la maladie. Le cycle de la maladie implique des changements dans la plante et de ses symptômes ainsi que ceux de l'agent pathogène. Les événements primaires dans un cycle de la maladie sont l'inoculation, la pénétration, l'établissement de l'infection, la colonisation (l'invasion), la croissance et la reproduction de l'agent pathogène, la diffusion de l'agent pathogène, et la survie de l'agent pathogène en l'absence de l'hôte.

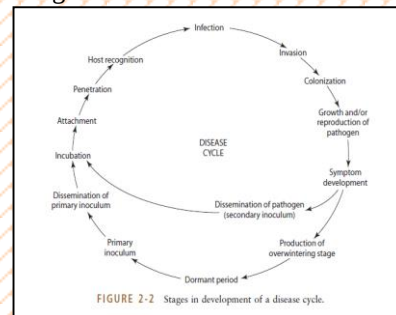


FIGURE 2-2 Stages in development of a disease cycle.

### 3. principe de diagnostic

#### 3.1. Le diagnostic en phytopathologie :

Le diagnostic en pathologie végétale, recouvre en effet deux aspects distincts :

**L'identification** : dans ce cas sur la base d'un individu ou d'une population d'individus présentant une symptomatologie précise, l'objectif sera de mettre en évidence et d'identifier l'agent pathogène responsable des symptômes observés.

**La détection** : il s'agit alors de rechercher, par l'intermédiaire d'une méthode d'une méthode éprouvée.

Les techniques mises en œuvre pour le diagnostic sont variées

- a. Observation et classification des symptômes
- b. Observation et caractérisation des agents pathogènes par examen visuel
- c. Isolement et culture des agents phytopathogènes sur milieux artificiels.

### II. Techniques d'identification de laboratoire :

## 1. Le postulat de koch

Robert Koch décrit en 1881 des méthodes d'isolement des bactéries et champignons pathogènes, en énonçant un postulat qui précise les étapes successives auxquelles il doit être satisfait pour pouvoir établir une relation causale entre une maladie et un microorganisme. Bien que ce postulat ait été formulé pour des maladies infectieuses de l'homme, il peut être transposé aux principales affections parasitaires des végétaux.

Les étapes du postulat de Koch appliquées à la phytopathologie s'énoncent comme suit :

1. L'agent doit être présent chez les plantes malades, et absent chez les plantes saines
2. L'agent doit pouvoir isolé de plantes malades et multiplié sur en culture axénique
3. Lorsque l'agent en culture pure est inoculé à une plante saine, il doit induire les symptômes caractéristiques de la maladie
4. A partir des plantes ainsi infectées expérimentalement, on doit pouvoir isoler l'agent pathogène.

La réalisation complète ou partielle du postulat de Koch fait appel à un ensemble de techniques d'observation (microscopique), nécessaire pour la détection et l'identification du parasite in situ, de techniques d'isolement de l'agent pathogène à partir des tissus de l'hôte, de méthodes de production de l'inoculum en culture pure et d'inoculation des plantes hôte en laboratoire.

## Chapitre III. Maladies et fonctions vitales de la plante

### 1. Les perturbations des fonctions vitales des plantes par les parasites.

#### 1.1. Influence de l'infection sur le métabolisme de l'hôte

Les troubles des fonctions physiologiques de l'hôte ne sont pas spécifiques de l'hôte. Ils ne sont qu'un aspect de la maladie et ils sont étroitement liés aux troubles morphologiques et cytologiques. Ainsi la même maladie peut se manifester par une corrosion ou une décoloration des chloroplastes, et par un abaissement de l'assimilation.

Comme dans le cas des troubles morpho-anatomiques, l'hôte tend à restaurer ses fonctions physiologiques. Aussi toute infection possède-t-elle, initialement, un effet stimulant. Mais généralement, elle se traduit, finalement, par un déclin, en qualité et en quantité, de la production, déclin dû à trois composantes : spoliation directe de substances nourricières par le parasite ; accélération du métabolisme basal ; interférence avec le métabolisme de l'hôte.

#### 1.2. Effet sur la respiration

L'activité respiratoire se modifie sous l'action des parasites. En générale la respiration augmente plus au moins rapidement peu après l'infection de l'hôte compatible. Si elle se maintient longtemps, il en résulte d'abord une affaiblissement, puis l'accumulation des produits secondaires pas toujours désirables. Sur l'hôte incompatible, la respiration est parfois accrue brusquement mais retombe vite. L'augmentation de la respiration est une réaction générale de réparation pas forcément dommageable mais signe d'une activité synthétique accrue. L'augmentation de la respiration peut atteindre 100% sur les plantes portant des taches sporulantes de rouille ou de mildiou.

Chez les cotylédons de chou infectés par le mildiou *Peronospora brassicae*, le maximum est atteint au moment où commence la sporulation ; il correspond environ à deux fois celui des témoins sains.

La respiration accrue est en corrélation avec la synthèse des substances qui jouent un rôle dans la résistance : phytoalexines, substances phénoliques. Cette synthèse exige du carbone et de l'énergie.

#### 1.3. Photosynthèse :

La chute de la photosynthèse caractérise d'ailleurs les infections d'oïdium et de rouille, parfois la photosynthèse augmente au début, pour retomber par la suite. Cette fonction vitale est en forte diminution dès le deuxième jour chez les feuilles de *Quercus rubor* infectées d'oïdium. Chez les nécrotrophes les tissus sont endommagés rapidement, expliquant la baisse de la photosynthèse. Cette réduction peut être due à différents facteurs : destruction des chloroplastes, stomates fermés plus longtemps, passage réduit de  $\text{CO}_2$  dans le mésophylle, la lumière n'atteint plus la surface de la feuille couverte de mycélium, la feuille déformée capte mal la source d'énergie.

#### 1.4. Altération de régime de l'eau

Dans les plantes malades, le régime de l'eau peut être perturbé soit au niveau de l'absorption ; les racines sont attaquées et ne fonctionnent plus d'une manière optimale, soit au niveau du transport.

L'occlusion de xylème est due au gel résultant de la dégradation enzymatique des parois cellulaires, soit à la production de polysaccharides extracellulaire ou de glycopeptide par les parasites eux-mêmes.

Le flétrissement peut être aussi provoqué par une modification de la perméabilité des membranes dans le mésophylle et les cellules de garde des stomates sous l'action des toxines.

L'accroissement de la transpiration est attribué à divers facteurs, cuticule percée, dérèglement des stomates, modification de la perméabilité des cellules. Il faut souligner que plusieurs processus physiologiques vitaux pour la plante sont très sensibles au stress du manque d'eau, soit la croissance des cellules, la synthèse des protéines.

#### 1.5. Modification du transport des assimilés :

Comme pour la dégradation des parois cellulaires on retrouve ici une stratégie différente, selon qu'on a affaire à des champignons biotrophes ou nécrotrophes.

Dans les infections de rouille et de mildiou, il y a une rapide conversion des sucres de l'hôte en sucre fongique, comme pour maintenir un gradient entre l'hôte et le parasite. Les concentrations de fructose, glucose et saccharose sont élevées près des pustules de rouille.

La modification dans le transport des photoassimilats est peut être due à un gradient entre le pathogène et les tissus voisins pour les courtes distances.

#### 1.5. Régulateurs de croissance

Les modifications de teneur en auxine ont été trouvées dans les tumeurs, galles, hypercroissance au nanisme. Les galles charbonneuses du Maïs présentent une haute teneur en auxine. Or l'*Ustilago zeae* produit de l'acide indole-acétique. Le *Gibberella fujikuroi* provoque l'hypertrophie des cellules du Riz, non pas en excréant une substance de croissance, mais probablement par suite d'une interférence entre des corps issus du métabolisme du Champignon avec la production ou l'inhibition de l'acide indole-acétique dans la plante.

## CHAPITRE V. LES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES

### 1. DEFINITIONS DES CHAMPIGNONS

Champignon est un terme ambigu qui désigne divers organismes biologiques sans chlorophylle et sans plastides, pas ou peu mobiles, constitués de cellules pourvues

de noyaux et qui font partie des eucaryotes. Les champignons **sont des végétaux car ils possèdent une paroi cellulaire et leur cytoplasme renferme des vacuoles turgescents**. Cependant, une partie seulement des champignons, les **Eumycètes** ou **Eumycotina** sont **pourvus en permanence d'une paroi cellulaire distincte**. Les autres pendant une partie, généralement brève de leur cycle de développement, se présentent sous l'aspect d'une **cellule nue, flagellé Zoïde** ou d'une **cellule nue amiboïde, Phycomycètes ou Phycomycotina**. Les champignons sont des **Thallophytes** car leur appareil végétatif, ou thalle, ne comporte pas d'appareil conducteur différencié ; ce n'est donc pas un **cormus**, contrairement à celui des Cormophytes.

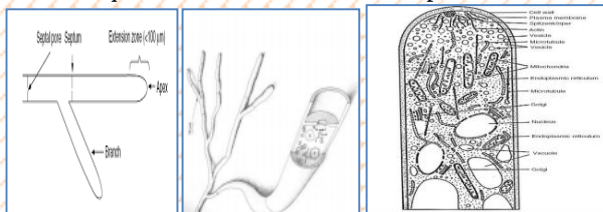
Enfin sont des thallophytes non chlorophylliens ; dépourvus de chloroplaste ; ce qui les distingue des **Algues**.

## 2. CARACTERES GENERAUX DES CHAMPIGNONS

### 2.1. L'appareil végétatif:

L'appareil végétatif des champignons est généralement constitué par un **mycélium**: l'ensemble des filaments cylindriques "ou **hyphe**" ramifiés à croissance apical, linéaire, et dont le diamètre, très variable selon les espèces, peut aller de 1-2  $\mu\text{m}$  jusqu'à 100  $\mu\text{m}$ . La ramification du mycélium semble rarement ordonnée que celle des cormophytes et de certain Algues. Mais si cette ramification paraît relativement désordonnée elle reste cependant contrôlée par la dominance apicale.

Le mycélium est dit **septé** lorsque des cloisons transversales s'y forment. En réalité, celles-ci sont toujours incomplètes, ou moins dans les parties actives de mycélium où elles restent percées d'un pore central dont la structure de détail est plus ou moins complexe. Quand le mycélium est septé, il est donc en apparence subdivisé en éléments uni ou plurinucléés. En fait, ceux-ci ne sont pas réellement des cellules parfaitement individualisées puisqu'ils communiquent entre eux au niveau des pores.



### 2.2. cytologie de thalle Organisation cellulaire des champignons)

La paroi des champignons est généralement stratifiée est formée d'au moins deux couches ; une couche externe mince et réfringente "**vagina**", constitue le long du filament et une couche interne épaisse, hyaline "**lucula**", qui seule participe à la différenciation éventuelle de cloison transversales, uniquement par sa partie interne.

Les cellules de champignons possèdent généralement les caractéristiques générales des eucaryotes. Dans le cytoplasme on observe des mitochondries, souvent assez petites, dont les crêtes sont en général moins nombreuses et moins développées que chez les cormophytes ou les animaux.

Le réticulum endoplasmique est abondant chez les champignons, surtout dans les parties jeunes de thalle. Il forme un système réticulé, lâche et irrégulier, constitué par des membranes trilaminaires de structure classique. Ce réseau est en continuité avec la paroi nucléaire, mais non avec le plasmalemma. La forme "rough" avec des ribosomes

accollés aux membranes paraît assez rare, le réticulum endoplasmique étant généralement lisse.

L'appareil de Golgi n'a été bien observé que chez certains Phycomycètes, semble difficile à caractériser chez les Eumycètes où l'on rencontre cependant fréquemment des empilements de saccules réticulaires dont la signification reste ambiguë.

Des vacuoles colorables au rouge neutre ou bleu de crésyl sont aisément mises en évidence chez les champignons. Leur taille est généralement plus faible que celle des vacuoles des cellules de plantes supérieures. Ces vacuoles sont délimitées par une membrane trilaminaire classique "tonoplaste".

Le cytoplasme des champignons contient aussi des multiples types de vésicules subglobuleuses de très faible diamètre perceptible seulement au microscope électronique certaines renferment des enzymes "peroxisomes", d'autres contiennent probablement des précurseurs de la paroi.

Le cytoplasme des champignons contient aussi des ribosomes. Ils sont rarement associés aux membranes du RE. Ils peuvent devenir très abondants, dans les spores en particulier, où ils masquent les autres organites cellulaires.

Le plasmalemma a une structure trilaminaire qui diffère un peu de celle de RE car les deux lamelles bordantes ne présentent pas la même coloration.

Les différentes classes des champignons montrent une variabilité au niveau de mode de distribution de nucléoles dans les hyphes: quelques champignons sont équipés par des nucléoles haploïdes; bien qu'il existe quelque exception diploïde.

Les zygomycètes sont caractérisés par l'absence d'une véritable **septa** par conséquent les noyaux sont éparpillés dans le mycélium.

Chaque compartiment mycélien peut renfermer un ou plusieurs noyaux; quand les noyaux sont identiques, le thalle est **homocaryotique**. Une mutation affecte un ou plusieurs noyaux, ou l'apport d'un ou plusieurs noyaux étrangers par anastomose de filaments mycélien, peut transformer un élément homocaryotique en un élément **heterocaryotique**.

## 3. LES PRINCIPAUX GROUPES DES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES

### 3. Les méthodes d'identification et de classification des champignons

#### 3. 1. Classification basée sur les critères morphologique :

##### 3. 1. 1. Critères d'identification macroscopique

L'aspect des colonies représente un critère d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre (l'absence ou pauvreté du mycélium aérien).

**Le relief des colonies** : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).

**La taille des colonies**: Elle peut-être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*).

**La couleur des colonies** est un élément très important d'identification ; les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du

mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*).

**Les structures de fructification :** la présence ou l'absence, au centre de la colonie, des structures de fructification sexuée (cléistothèces) ou asexuée (pycnides) est aussi un élément important de diagnose (Botton *et al.*, 1990).

### 3. 1. 2. Critères d'identification microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au Bleu Cotton. Généralement, un examen à l'objectif est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (Cahagnier et Richard-Mollard, 1998).

#### a. Le thalle :

Tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui, ensemble, forment le thalle filamenteux ou le mycélium ; le thalle peut être siphonné ou septé :

- **Le thalle siphonné**, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifié, de diamètre large et irrégulier (5-15 µm), non cloisonné est caractéristique des *Zygomycètes* ;

- **Le thalle septé** ou cloisonné, constitué de filaments de diamètre étroit (2-5 µm) et régulier, divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires est caractéristique des *Ascomycètes*, *Basidiomycètes* et *Deutéromycètes* (Badillet *et al.*, 1987).

#### b. Les spores

Les spores qui sont le produit de la reproduction asexuée peuvent être endogènes ou exogènes :

- **Les spores endogènes** (endospores) sont produites à l'intérieur d'un sac fermé (sporange), porté par un filament spécialisé (sporangiophore). Ces spores, que l'on observe par exemple chez les *Mucorales*, sont libérées par le déchirement de la paroi de sporange à maturité.

- **Les spores exogènes** (conidies), retrouvées chez les *Ascomycètes*, *Basidiomycètes* et *Deutéromycètes*, sont formées par bourgeonnement à partir d'une cellule spécialisée (cellule conidiogène).

L'examen des spores et de leur organisation est une étape importante de l'identification fongique (Campbell *et al.*, 1996).

### La reproduction des champignons

La reproduction des champignons est dite conforme lorsque les descendants a un patrimoine génétique exactement identique au parent, ou non conforme lorsqu'il y a recombinaison génétique.

La reproduction conforme, généralement appelée reproduction végétative ou asexuée, ne met en jeu en principe que des mitoses normales, c'est-à-dire des divisions conservatives dans un thalle monocaryote, quel que soit le mode de multiplication du thalle.

La reproduction non conforme est réalisée d'une façon générale par une recombinaison génétique à la suite d'une méiose faisant suite elle-même plus au moins rapidement à une caryogamie, c'est alors la reproduction sexuée. Mais elle peut se produire à la suite de deux autres phénomènes : l'hétérocaryose ou la parasexualité.

## 3. 2. Les principaux groupes des champignons :

### 3. 2.1. La classe des Plasmodiophoromycètes

La classe des plasmodiophoromycètes ne contient qu'une seule famille (Plasmodiophoraceae) comportant des parasites obligatoires de plantes supérieures. La reproduction sexuée des plasmodiophoromycètes résulte de

la fusion de deux gamètes flagellés, morphologiquement semblables, ou procède de la fusion des protoplastes de deux thalles adjacents. Parmi les *Plasmodiophoraceae*, trois genres parasites des plantes supérieures présentent une importance économique; les genres *Plasmodiophora*, *Polymyxa* et *Spongospora*. Outre leurs effets pathogènes directs sur les plantes parasitées. Les *Plasmodiophoraceae* peuvent être également transmettre des virus parasites des plantes (*Polymyxa betae* vecteur de virus de la rhizomanie de la betterave; *Polymyxa graminis*, vecteur de virus de la mosaïque jaune de l'orge).

### 3. 2. 2. La classe des Oomycètes

Les oomycètes sont des organismes fongiformes. Ces agents sont caractérisés par un thalle filamenteux coenocytique, constitué d'une masse plus ou moins dense de filaments ramifiés non cloisonnés. Les Oomycota se différencient des champignons vrais par la composition leur paroi.

La reproduction sexuée s'effectue par hétérogamétangie avec production d'oospores. L'appareil reproducteur asexué est constitué de conidiophores plus ou moins différenciés qui portent des sporanges. Des zoospores biflagellées produites par des sporanges résultant de la reproduction asexuée de ces champignons.

Les oomycètes contiennent la classe unique des oomycètes dans laquelle on trouve les Saprologniales et les Péronosporales. Ces derniers, sont terrestres ; beaucoup de ces espèces sont hydrophiles et produisent des zoospores mobiles en phase aqueuse.

1. Les Saprologniales sont principalement aquatiques, saprophytes ou parasites des poissons ou d'écrevisses.
2. Les Péronosporales sont terrestres; beaucoup d'espèces sont hydrophiles et possèdent la faculté de produire des Zoospores nagent en phase aqueuse. La classification des péronosporales est basée sur le degré de différenciation des conidiophores (reproduction asexuée) et sur le nombre de conidies portées à l'extrémité des conidiophores ou de leurs ramifications.

La différenciation de plus en plus poussée des conidiophores. L'ordre des Péronosporales comprend quatre familles importantes

- ✚ les *Pythiaceae*.
- ✚ *Phytophthora*ceae.
- ✚ *Péronosporaceae*.
- ✚ *Albuginaceae*.

### 3. 2. 3. La classe des zygomycètes

#### Ordre des Mucorales:

Les mucorales sont essentiellement des saprophytes qui se développent sur milieux riches en sucres et pauvres en composés azotés. On le rencontre sur les fruits et sur les excréments des herbivores. Certaines espèces du genre *Mucor* sont utilisées pour la production d'alcool

E riz. On observe le plus souvent chez les mucorales, un hétérothalisme bipolaire: le mycélium végétatif est haploïde et lorsque deux souches compatibles entrent en contact, une production hormonale induit la formation des gamétophores. L'hormone + est synthétisée uniquement en présence de la souche – et vice versa. La méiose suit immédiatement la fusion des noyaux dans la zygospore.

La reproduction asexuée des Mucorales est assurée par des conidiophores globuleux, réunis en bouquet. Les

spores peuvent être dispersées par le vent ou demeurer agglomérées au sein d'une masse mucilagineuse.

#### 4. La classe des ascomycètes

Les Ascomycètes ont typiquement des hyphes cloisonnés et peuvent produire des spores sexuées, ou sexuées et asexuées. Le stade sexué d'un Ascomycète est appelé téléomorphe, alors que le stade asexué est appelé **anamorphe**. Il peut exister plus d'un stade anamorphe chez un champignon, mais seulement un **téléomorphe**. Pour les champignons imparfaits, seuls les stades asexués sont connus.

Les Ascomycètes produisent des spores sexuées, les ascospores, dans un sac appelé asque. Puisque ces spores sont des produits de la méiose, on les observe généralement en multiples de quatre, le plus souvent en groupes de huit.

Les anamorphes sont les stades imparfaits, ou asexués, d'un champignon. Les spores asexuées se nomment conidies. Une même espèce fongique peut produire plusieurs types de conidies. Chez les champignons imparfaits, le stade anamorphe est le seul stade produit. Les champignons imparfaits sont aussi appelés Deutéromycètes. Suite à leur découverte, les téléomorphes de plusieurs champignons imparfaits ont été identifiés comme appartenant aux Ascomycètes.

Le stade anamorphe est souvent le premier stade produit suite à l'infection de la plante. Les téléomorphes ne peuvent être produits que beaucoup plus tard et sont relativement rares chez plusieurs espèces. Pour faciliter l'identification pratique et le diagnostic de tels champignons, on a créé des binômes latins pour les stades anamorphes, en plus des noms basés sur le téléomorphe. Une vue rapprochée de *Botrytis cinerea*, champignon imparfait.

Ce sont des champignons à mycélium cloisonné dont les spores se forment à la suite d'un processus sexuel dans des asques, généralement entremêlés de filaments stériles. L'ensemble des asques et des **paraphyses** constitue l'**hyménium**.

Dans certain cas, l'**hyménium** est indéfini et porte des asques libres (**protoascomycètes**). Le plus souvent l'hyménium est nettement délimité (**Eusascomycètes**) et est continu dans des organes (**ascocarpes**), ouverts (apothécies ou pézizes) entièrement clos (**cléistothèces**), ou fermés avec un ostiole de sortie (**périthèce**). Les ascomycètes sont identifiés sur base des caractéristiques des ascocarpes, des asques et des **ascospores** qu'ils contiennent.

#### La classe des basidiomycètes

Les basidiomycètes sont caractérisés par la production des spores monocariotiques haploïdes appelées basidiospores à l'extérieur des sporocystes appelés basides. Lors de la reproduction sexuée la germination des basidiospores donnent des spermaties et/ou des monocaryotiques et haploïdes (haplophases) qui s'ils sont compatibles, peuvent fusionner leurs cytoplasmes (plasmogamie) en formant des dicaryons (dicaryophase). Lors de la différenciation des basides, les deux noyaux haploïdes des dicaryons fusionnent (caryogamie). La phase diploïde est très courte, le nouveau diploïde entrant immédiatement en méiose, avec production de quatre basidiospores haploïdes par baside. Les basides sont cloisonnées ou non cloisonnées. Le cloisonnement interne des basides (transversal ou longitudinal), ainsi que leur disposition ou non en hyménium, sont des caractères taxonomiques chez les basidiomycètes.

### Chapitre II : Les Bactéries Phytopathogènes

#### 1. Introduction

Les bactéries sont des êtres vivants unicellulaires dont la taille est de l'ordre de-micron, ce sont des procaryotes qui ne possèdent pas un noyau « vrai » pourvu d'une membrane mais un unique 'chromosome nu. Les bactéries pathogènes pour les plantes sont classées en cinq genres seulement : *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* et *Xanthomonas*. Ces cinq genres sont répartis pour certains sous toutes les latitudes et causent des dégâts considérables aux cultures.

#### 2. Définition :

Les bactéries sont des organismes procaryotes sans noyau différencié, sans mitochondries, avec un génome habituellement circulaire formé d'une double hélice de DNA codant le plus souvent pour 1000 ± 4000 gènes, avec une paroi rigide formée de peptidoglycane. Les eucaryotes ont un noyau avec une membrane nucléaire, des mitochondries, des organelles intracellulaires (Golgi, réticulum endoplasmique).

#### 3. Morphologie des bactéries

Les bactéries sont vues au microscope optique, vivantes à l'État frais (lumière blanche, fond noir, contraste de phase), ou après colorations (Bleu, Gram, Ziehl-Neelsen pour les mycobactéries), et au microscope Électronique de transmission ou de balayage.

##### 3.1. Forme, taille et propriétés tinctoriales des bactéries

Les bactéries ont une taille moyenne de 0.5 - 2.0 µm de large et 2-6 µm de long, parfois beaucoup plus (une hématie mesure 8µm de diamètre). Les bactéries ont des formes très variées : coques (diplocoques, amas, chainettes) ; bacilles (droits, incurvés, spiralés). Ces formes sont dues à la structure de la paroi (peptidoglycane) et au mode de septation propre à chaque espèce bactérienne.

D'après la coloration de Gram, on distingue selon les propriétés tinctoriales les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif : les Gram + sont décolorés par l'alcool, les Gram négatif ne le sont pas. Les mycobactéries sont un groupe à part appartenant aux bactéries à Gram positif mais non colorés par la coloration de Gram du fait de leur paroi très particulière. Cette distinction par la coloration de Gram est très pratique car elle correspond à des différences notables dans la structure de la paroi et à une réalité phylogénique : les bactéries à Gram positif sont apparues d'abord au cours de l'Évolution, puis par l'apport d'une enveloppe externe les bactéries ont acquis de nouvelles propriétés tinctoriales (bactéries à Gram négatif). De plus, elle correspond à une réalité thérapeutique : les antibiotiques actifs ne sont pas les mêmes selon qu'il s'agit d'une bactérie Gram+, Gram -ou d'une mycobactérie.

Après croissance sur milieu de culture nutritif acellulaire, les bactéries donnent en quelques heures ou jours (bactéries à croissance rapide) ou en quelques semaines (bactéries à croissance lente) des colonies visibles à l'œil nu. Ces colonies sont constituées de 1-2 milliards de bactéries et proviennent d'une seule bactérie (clones). L'aspect, la pigmentation, la taille, la forme et le temps d'apparition de ces colonies sont des propriétés utilisées pour identifier les espèces bactériennes.

##### 3.2. Le génome des bactéries

Le noyau des bactéries est constitué d'un chromosome sans membrane nucléaire. Ce chromosome est

habituellement circulaire et unique. Il peut être étudié par l'établissement de cartes génétiques selon la disposition des gènes, de cartes physiques par PFGE (Pulsed-Field Electrophoresis Gel) et par séquençage du génome bactérien.

La taille du chromosome bactérien est variable, de 600 kb (*Mycoplasma genitalium*) et 8000 kb (*Streptomyces*), en moyenne 3000-4000 kb (>3000 gènes), parfois associé à des plasmides qui sont des petits chromosomes circulaires à répllication autonome (1 0-200 kb). Les plus petits génomes sont retrouvés chez les bactéries très inféodées à leurs hôtes, telles que les mycoplasmes ou les

bactéries intracellulaires strictes (*Chlamydia*, *Rickettsia*), les bactéries très adaptées à leur hôte (*Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium leprae*). Les bactéries avec un grand génome sont souvent saprophytes et ubiquistes (*Enterobacteriaceae*, *Bacillus*). Par exemple, la taille du génome d'*E. coli* est de 4,7 Mb à 5,2 Mb selon les souches.

### 3.3. Le cytoplasme des bactéries

Le cytoplasme bactérien est constitué de ribosomes et les nombreuses protéines cytoplasmiques (enzymes métaboliques, protéines chaperons et protéines de structures) sans organelles. Il peut contenir des granulations de réserve (glycogène, polyphosphates,  $\alpha$ -hydroxybutyrates). Il est délimité par une membrane cytoplasmique constituée, comme celle des eucaryotes, d'une bicouche lipidique avec des protéines transmembranaires ou exposées : des perméases pour les substrats nutritionnels, des enzymes de synthèse du peptidoglycane (Penicillin-Binding Proteins PBPs), des enzymes respiratoires deshydrogénases, cytochromes).

### 3.5. Les constituants de la paroi des bactéries

La paroi des bactéries est constituée d'un peptidoglycane uniquement retrouvé chez les bactéries et présent dans l'ensemble du monde bactérien (à quelques exceptions, telles que les mycoplasmes ou mollicutes, bactéries sans peptidoglycane).

#### Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est un polyside d'unités répétitives d'acide N-acétyl-muramique et de N-acétyl-glucosamine, sur lesquels sont branchées des chaînes courtes pentapeptidiques, donnant une structure tridimensionnelle en réseau compact. Ce polymère complexe est synthétisé par des enzymes ou PBPs (Penicillin-Binding Proteins). Ce sont des transpeptidases, des carboxypeptidases, des amidases (autolysines) qui sont la cible des pénicillines.

#### La paroi des bactéries à Gram positif

La paroi des bactéries conditionne la forme des bactéries et constitue une protection très efficace contre un environnement hostile et très changeant (osmolarité, température, radiations ionisantes, sécheresse). Chez les bactéries à Gram positif, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polysidiques (acides lipoteichoïques, acides teichoïques).

#### Bacilles à gram positif

La paroi des bactéries à Gram négatif : l'enveloppe externe. Chez les bactéries à Gram négatif, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe

définissant un espace préislamique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et de lipopolysaccharides (LPS). L'espace périplasmique est le éiventre éi des bactéries, rempli d'enzymes qui dégradent les substrats complexes pour qu'ils puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques, métaux lourds).

#### Les appendices des bactéries

##### Les pili

Les pili ou fimbriae sont des spicules ou appendices formés d'une seule protéine polymérisée (piline). Selon leur diamètre (3-8 nm) et leur constitution on distingue différents types de pili (type I à IV). Les pili de type I sont inhibés par le mannose sont des adhésines. Ce sont des adhésines qui permettent aux bactéries d'adhérer et de ségréguer, et qui sont des récepteurs de phages.

##### Les Flagelles

Ce sont des filaments de plusieurs  $\mu$ m constitués d'une seule protéine, la flagelline, permettant le mouvement des bactéries (1 à 30 flagelles par bactérie, à localisation polaire ou péritriche).

##### La capsule

La capsule est habituellement constituée de polysides, plus rarement polypeptiques, exposés en surface et protégeant les bactéries de la dessiccation et des phagocytes pour les pathogènes.

### 3. Classification des bactéries

#### 3.1. Classification phénotypique

Pour classer les bactéries, on peut utiliser des caractères morphologiques :

Leur forme et leur groupement,

La présence de flagelles,

La nature de la paroi.

toute la taxonomie bactérienne s'est basée sur une classification phénetique. Les caractères étudiés dans cette classification sont d'ordre morphologique. Cependant, cette classification ne reflète qu'un nombre limité d'informations et les critères considérés sont subjectifs et peuvent varier en fonction des conditions environnementales. Une approche phénotypique particulière est la chimiotaxonomie qui est basée sur l'analyse des constituants cellulaires tels que les peptidoglycans, les quinones, les lipides polaires et les acides mycoliques. Elle est couramment utilisée pour la définition d'espèce.

L'utilité de ce mode de classification est assez réduite car les critères ne sont pas suffisamment précis pour discerner les différentes espèces. Pour affiner la détermination des bactéries on utilise également leurs propriétés physiologiques : par exemple leur faculté à utiliser ou synthétiser certaines molécules. Cela implique de cultiver les bactéries étudiées dans des milieux artificiels, ce qui n'est pas toujours possible.

### 3.3. Les Pathovars

Les espèces de bactéries phytopathogènes sont sous-divisées en pathovar (abréviation pv). Le pathovar est l'entité montrant une spécificité parasitaire vis-à-vis d'une espèce particulière). L'espèce *Xanthomonas translucens*, par exemple, présente de très nombreux pathovars qui s'attaquent aux céréales et graminées.

*Xanthomonas translucens* pv *undulosa*

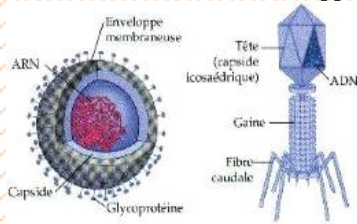
*Xanthomonas translucens* pv *cerealis*

*Xanthomonas translucens* pv *graminis*

### 2. Les phytovirus

## 2.1. Définition

Les phytovirus sont des virus qui s'attaquent aux organismes végétaux. Il s'agit de macromolécules infectieuses porteuses d'information génétique, parasites obligatoires des cellules vivantes d'une plante hôte. Ces molécules pathogènes sont multipliées par les cellules végétales contaminées en provoquant généralement des perturbations métaboliques conduisant à l'expression de symptômes qui sont dans certains cas masqués. Ces virus sont en fait des structures très simple, formés d'un acide nucléique qui peut être soit un ARN soit un ADN, simple brin ou double brin protégé par une carapace constituée de protéines de capsid. Chez quelques phytovirus, cette capsid peut contenir en outre des molécules d'une enzyme capable d'assurer la transcription de l'acide ribonucléique viral (ARN polymérase virale), tandis que dans de rares cas, elle est entourée d'une enveloppe lipidique (figure 1).



**Figure1 : Structure des virus à ARN et à ADN (Anonyme 1)**

C'est en 1953 que Lwoff a défini le concept de virus : C'est une particule virale mature et infectieuse libre dans le milieu extérieur, phase ultime de la biosynthèse des virus. Un virus a 4 caractères essentiels :

- 1- Le virus possède **un seul type d'acide nucléique** qui peut être soit de l'ADN, soit de l'ARN. Les deux molécules ne coexistent donc pas dans la particule virale, ce qui oppose les virus aux autres formes vivantes connues jusqu'à ce jour. L'acide nucléique viral porte l'intégralité de l'information génétique du virus et constitue ce que l'on appelle le génome viral.
- 2- Le virus se **reproduit uniquement à partir de son matériel génétique par réplication de son génome**. Il n'existe pas de scissiparité comme chez les bactéries et il n'y a pas de mitose comme dans les cellules eucaryotes.
- 3- Les virus sont doués d'un **parasitisme intracellulaire obligatoire**. Ils ne peuvent se reproduire qu'au sein d'une cellule hôte vivante. Du fait d'un parasitisme intracellulaire absolu le virus ne possède aucun système enzymatique ou énergétique lui permettant d'assurer sa propre auto-réplication. Il est donc amené à détourner et à utiliser pour sa propre biosynthèse l'ensemble des macromolécules de la cellule qu'il parasite (ribosome, tARN, activité enzymatique, système de régulation). Au cours de l'interaction entre la particule virale et sa cellule hôte, deux éventualités peuvent survenir :
  - a. La multiplication virale peut aboutir à la mort de la cellule : c'est ce que l'on appelle la **lyse cellulaire**.
  - b. Le virus interagit avec la cellule résultant en des lésions cellulaires non létales : c'est ce qu'on appelle la **persistance virale**.

Ceci implique que les virus sont incapables de se reproduire sur des milieux inertes de type bactériologique. Leur isolement passe forcément par l'inoculation à un

système biologique vivant que l'on dit **permissif** afin d'assurer leur réplication.

- 4- le virus présente **une structure particulière** qui l'oppose aux êtres vivants à structure cellulaire procaryote (les bactéries) ou eucaryote. L'agencement des principaux constituants de la particule permet de reconnaître aux virus un type de **symétrie caractéristique** (par exemple, symétrie hélicoïdale ou symétrie cubique).

## 2. ANATOMIE GÉNÉRALE DES PARTICULES VIRALES

Toute particule virale est constituée d'au moins **deux éléments constants et obligatoires** :

- 1- le **génome**, de nature nucléotidique et composé d'acide nucléique (ADN ou ARN)
- 2- la **capsid**, est une coque de nature protéique qui entoure le génome et est capable d'assurer sa protection et sa survie dans le milieu extérieur.

## 2. STRUCTURE DES VIRUS S

### 2-1 les acides nucléiques viraux

La totalité de l'information génétique du virus est portée par l'acide nucléique qui constitue son **génome**. Les acides nucléiques constituant les génomes viraux sont d'une grande variété. **Les principaux paramètres** à étudier dans chaque famille virale sont les suivants :

la **nature** de l'acide nucléique : ARN ou ADN

la **taille** de l'acide nucléique, longueur de la chaîne polynucléotidique en nanomètre, la masse moléculaire en million de dalton, le nombre de paires de base et la capacité approximative de codage, c'est-à-dire (nombre de chaînes polypeptidiques pouvant être codées par l'acide nucléique). la **composition en bases**, notamment le **%GC**, l'existence de séquences répétitives, d'un segment polyadénylé (polyA) en 3', de bases ou de sucres anormaux, d'extrémités palindromiques permettant la circularisation.

La **structure** qui est soit monocaténaire, bicaténaire, ou bien avec des fragments subgénomiques.

Leur **topologie**, elle peut être linéaire ou circulaire.

#### 4-1-a les génomes à ADN

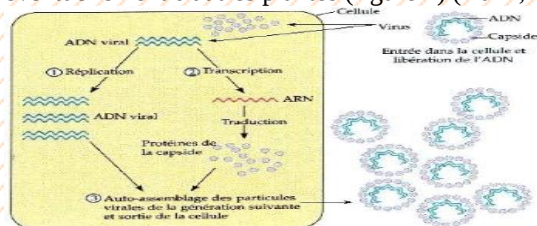
Les ADN des virus animaux, **le plus souvent bicaténaires et linéaires**, présentent pour la plupart une structure tridimensionnelle classique appelée **en double hélice** (double chaîne désoxyribonucléotidique, complémentaire et anti-parallèle).

## 2.2. Mode d'infection des phytovirus

Les phytovirus, comme tous les êtres vivants, possèdent la capacité de répliquer leur propre patrimoine génétique, mais cette réplication dépend de la nature de leur génome (Casselyn, 2002).

Généralement, le virus infectant pénètre dans la cellule par effraction. La nucléoprotéine virale appelé virus est désassemblé et libère son ARN génomique (ARNg). L'ARN polymérase virale est directement traduit à partir de l'ARNg. En fait, cette enzyme transcrit des ARN messagers (ARNm), dont celui de la protéine de capsid, et synthétise de nouveaux ARNg. Ces derniers seront ensuite encapsidés, et les virus s ainsi formés vont infecter d'autres cellules par

passage trans-cellulaire et transport à longue distance, et éventuellement d'autres plantes (figure 2) (Kahn, 1996).



**Figure2 : Cycle infectieux des phytovirus (Anonyme 1)**

### 2.3. Dissémination des phytovirus

Les virus des plantes disposent de deux principaux moyens de dissémination dans la nature, une transmission dite verticale et une transmission dite horizontale.

#### 2.3.1. La transmission verticale

La transmission verticale correspond à la transmission du virus à la descendance d'une plante infectée. Elle est très fréquente chez les plantes à multiplication végétative. Tous les organes de propagation telle que les boutures, les greffons, les bulbes et les tubercules prélevés sur une plante mère virosée seront infectés. Dans la majorité des cas, les virus ne sont pas transmis par les graines. Mais, dans des rares cas, certains virus de plantes pérennes sont transmis par le pollen disséminé soit par le vent soit par les insectes pollinisateurs. De plus, l'intensification des échanges commerciaux au niveau mondial fait que la transmission des phytovirus à la descendance constitue un risque majeur de dissémination des virus d'un pays ou d'un continent à un autre.

#### 2.3.2. La transmission horizontale

Ce mode de transmission fait le plus souvent intervenir un intermédiaire qui est le vecteur. Ce dernier prélève le virus d'une plante malade et l'inocule dans une plante saine. Il contribue efficacement à la survie et à la dissémination spatiale du virus. Certaines zoospores de champignons affectant les racines de plantes peuvent servir de transporteurs de virus, mais les principaux vecteurs sont les insectes tels que les pucerons (figure 3), les aleurodes et les cochenilles. De même, ces vecteurs peuvent correspondre aux nématodes, qui acquièrent et transportent les virus, en se nourrissant, et les retransmettent à de nouvelles plantes. De plus, la transmission horizontale peut être causée par des blessures du feuillage ou des germes occasionnées par les bris de poils, les outils contaminés et les pratiques culturales.

### 2.4. Les conséquences des attaques virales sur les plantes

L'infection des plantes par des phytovirus provoque des effets pathogènes profonds dans l'hôte. Il s'agit en fait de symptômes qui sont visuellement détecté et de dégâts concernant surtout la croissance et le développement de la plante hôte.

#### 2.4.1. Les symptômes

La multiplication des particules virales généralisée à l'ensemble de la plante provoque des perturbations métaboliques conduisant à l'expression de symptômes variés. Ces symptômes peuvent varier selon le virus, la variété ou l'espèce atteinte, l'environnement et l'état physiologique dans lequel se trouvent les plantes.

En effet, sur les feuilles, les symptômes apparaissent généralement au site d'inoculation, sous formes de foyers localisés. Chez certains couples plantes-virus, la multiplication et l'extension du virus sont limitées, avec formation de lésions nécrotiques suite à une réaction

d'hypersensibilité, tandis que dans d'autres cas, le virus envahit l'ensemble des tissus de la plante hôte en induisant des infections systémiques.

Ces phytovirus provoquent en fait des symptômes de mosaïque sur les feuilles, c'est-à-dire une alternance de zones de coloration vert foncé et vert pâle due à la répartition anormale des pigments chlorophylliens dans les feuilles. Si les taches sont diffuses, on parle de marbrures. Dans le cas d'une coloration plus intense au niveau des nervures, on parle de mosaïque de nervure et si la coloration est plus claire on parle d'un éclaircissement des nervures. De plus, les virus sont responsables de jaunissement des feuilles. Ce dernier, caractérise les virus localisés au niveau vasculaire et s'accompagne d'un épaississement et souvent un enroulement des feuilles.

En plus des symptômes de mosaïque (figure 4) et de jaunissement des feuilles (figure 5), les virus peuvent être la cause de plusieurs anomalies de croissance. En fait, le virus utilise le métabolisme de la plante pour se multiplier, ce qui entraîne un ralentissement de la croissance révélée par des feuilles plus petites et des malformations sur feuilles et sur fruits comme un rabougrissement, des boursoufflures, des cloques, des crispations, des excroissances, et un filiformisme des feuilles (Astier *et al.*, 2001).

#### 2.4.2. Les dégâts

D'une manière générale, les maladies virales réduisent la croissance et donc le potentiel global de production d'une plante. Dans le cas des fruits et des légumes, ces virus peuvent altérer leur aspect et donc la qualité commerciale de la récolte (Astier *et al.*, 2001) et peuvent même parfois conduire à la mort de la plante infectée.

Les pertes économiques induites par les virus, difficiles à évaluer précisément, sont considérables. Pour le cas de la maladie des feuilles jaunes en cuillère de la tomate (Tomato Yellow Leaf Curl Virus, TYLCV), les pertes de rendement quantitatives et qualitative dans la récolte de tomate atteignent souvent 100 % (Picó *et al.*, 1996), alors que dans le cas de la vigne, le virus du court noué (Grapevine Fan Leaf Virus, GFLV), présent dans la plupart des vignobles du monde, y compris en France où il infecte 60 % de la surface du vignoble national (Fuchs, 2008a).

Alors, afin de réduire les pertes de récoltes qu'ils occasionnent les virus phytopathogènes pour pallier l'insécurité alimentaire et pour maintenir la compétitivité de certaines filières professionnelles il faut bien étudier les virus auxquels on s'intéresse, les diagnostiquer et lutter contre eux.