

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش – الجزائر
Ecole Nationale Supérieure Agronomique Kasdi Merbah, EL Harrach- Alger

Thèse

Pour l'obtention du grade de
Docteur en Sciences Agronomiques

Thème

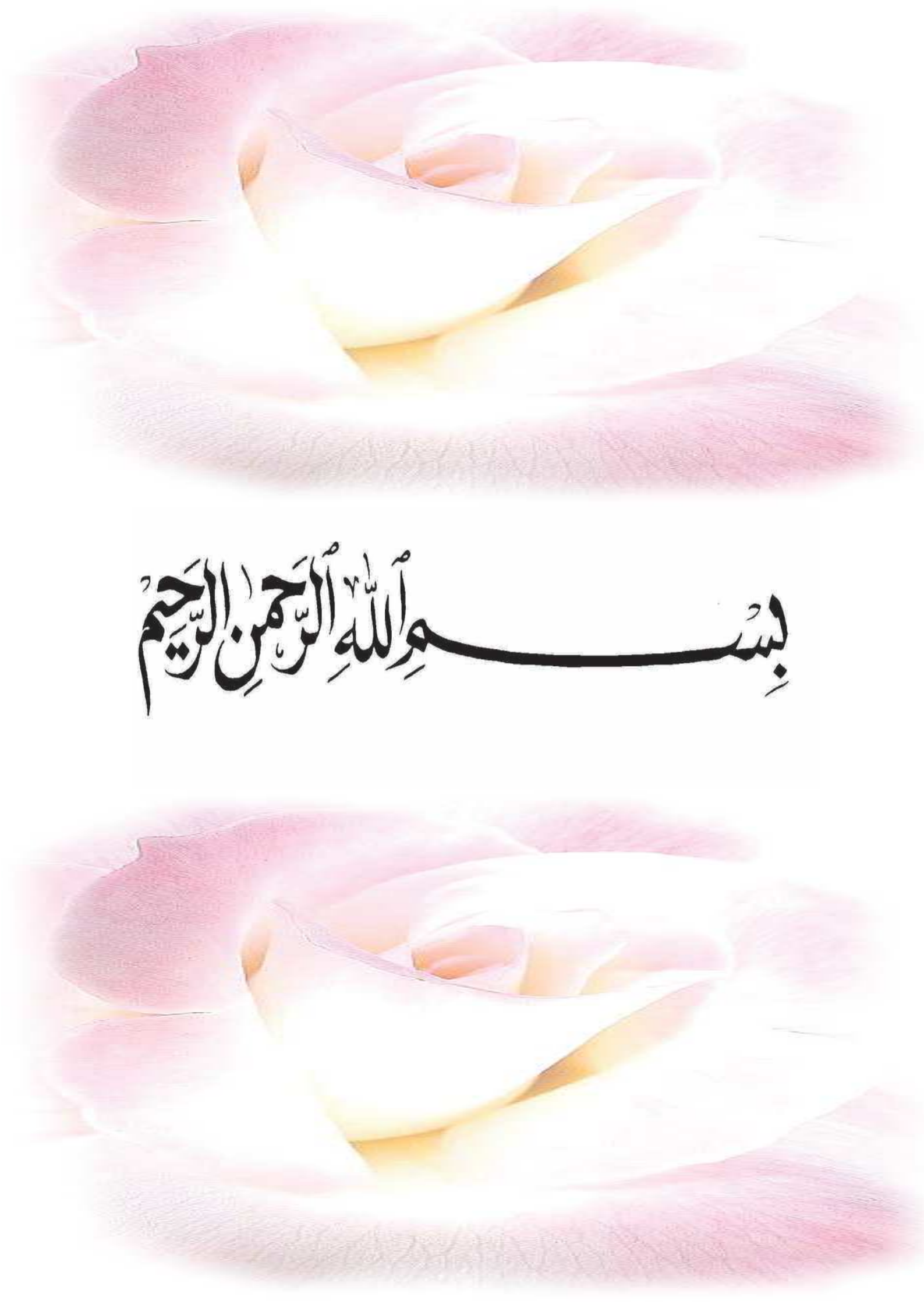
Bioécologie des nématodes dorés de la pomme de terre du genre *Globodera* dans quelques régions de l'Algérie. Essais de mise au point de luttés alternatives à la lutte chimique

Présentée par : M^{elle}. MEZERKET Amina

Devant le jury :

Président :	M ^{me} . DOUMANDJI- MITICHE B.	Professeur (ENSA)
Directeur de thèse :	M. HAMMACHE M.	Maître de conférences (ENSA)
Examineurs :	M ^{me} . MARNICHE F.	Maître de conférences (ENSV)
	M. MOKABLI A.	Professeur (UKM)

Thèse soutenue publiquement le 03 juillet 2018



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Je remercie ALLAH le très Haut, le très Grand, le Clément, l'Omniscient, l'Omnipotent, le tout puissant, le très miséricordieux d'avoir permis à ce travail d'aboutir à son terme.

Je remercie toute l'équipe de l'institut espagnol de m'avoir accueilli chaleureusement pendant trois mois et d'avoir mis à ma disposition toutes les facilités techniques d'identification moléculaire dont j'avais besoin.

Je témoigne en premier lieu mon énorme gratitude à mon promoteur Mr. HAMMACHE M., Maître de conférences (A) au département de Zoologie (ENSA), de m'avoir encadré durant mes années de thèse, pour sa confiance, sa compréhension, ses précieux conseils et pour ses réelles qualités humaines.

Je remercie vivement Madame DOUMANDJI-MITICHE B., professeur au département de Zoologie (ENSA) de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury.

Mes remerciements les plus chaleureux vont également à Madame MARNICHE F. Maître de conférence (A) à l'École Nationale de Sciences Vétérinaires (ENSV) pour l'honneur qu'elle me fait d'examiner ce travail.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur MOKABLI A., Professeur à l'université de Khmis Meliana pour l'hommage qu'il me fait en participant à ce jury.

Mes remerciements chaleureux s'adressent en particulier aux personnels du département de science du sol notamment Redouane pour l'aide qu'il m'a fournit pour les analyses physico-chimiques.

Je remercie Thoraya et Siham du groupe Saidal de m'avoir donné la chance d'effectuer mon screening chimiques. Je remercie également Rachida, Zakia et les membres de l'ITGC, et du CNCC pour m'avoir fourni la variété Désirée de la pomme de terre, et certains échantillons du sol.

Je remercie énormément Sajia, de l'université de Bab Ezzouar, de m'avoir fournit des produit chimiques pour les analyses du sol, le logiciel Excel stat, et pour l'utilisation de la centrifugeuse de son laboratoire.

Je remercie également Souad, Salima, Sajia, Narimène, Fatiha, et Soraya pour leur présence et leur soutien indéfectible.

A tous mes professeurs qui m'ont enseigné de l'école à l'université, un grand merci pour la qualité de la formation que vous m'aviez dispensée. Que dieu vous récompense et vous donne une longue vie.

Je remercie ma famille de m'avoir toujours soutenu. Leur présence a constamment été la source d'un réconfort formidable. Merci donc à mes chers parents. Merci à toi maman pour ton sacrifice, ton immense soutien, et ta grande patience avec moi pendant toutes mes années d'études. Malgré les difficultés, tu étais toujours à mes côtés. A mon père, toi qui m'a toujours dit de prioriser les études, tes conseils ont beaucoup servi à la réalisation de mon être. Merci pour ta patience, ta confiance et ton soutien. À mes sœurs et mes frères, merci pour votre aide, vos encouragements et votre présence dans ma vie. Ce travail est le vôtre. Que dieu vous récompense.

Mes remerciements s'adressent également à ceux qui ont pu se déplacer pour la soutenance, cela fait très chaud au cœur.

Enfin, je remercie tous ceux que j'ai pu oublier et j'espère qu'ils me pardonneront ce méfait. J'exprime également toute ma reconnaissance à l'égard de tous ceux qui de près ou de loin m'ont aidé d'une manière ou d'une autre dans l'élaboration de cette thèse.

Amina

Dédicace

*A l'Algérie... mon adorable pays
A ma mère, a mon père
A mes sœurs et mes frères
A mes nièces et mes neveux
A toutes ma famille
A mes ami(e)s*

Je dédie ce modeste travail

Amina

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ADN	:	Acide DésoxyriboNucleique
ADNmt	:	Acide DésoxyriboNucleique mitochondrial
ADNr	:	Acide DésoxyriboNucleique ribosomique
AIC	:	Information Akaike
ANOVA	:	Analysis of Variance
av. J-C.	:	Avant Jésus Christ
BI	:	Bayésian Inference
BLAST	:	Basic Local Aligement Search Tool
BNEDER	:	Bureau National d'étude pour le Développement Rural
bp	:	Base Pair
BPP	:	Probabilités Postérieures Bayésiennes
°C	:	Degré Celsius
C%	:	Carbone organique
CACO ₃	:	Calcaire total
CEC	:	Capacité d'échange cationique
CE H ₂ O	:	Conductivité électrique
cm ³	:	Centimètre cube
<i>Cytb</i> gène	:	<i>Cytochrome b</i> gène
DNTP	:	Désoxynucléotides Triphosphate
DSA	:	Direction des Services Agricoles
ELISA	:	Enzyme Linked ImmunoSubstrate Assay
ENSA	:	École Nationale Supérieure Agronomique
ERP	:	Exsudats Racinaires de Pomme de Terre
ETS	:	External Transcribed Spacer
FAO	:	Food and Agriculture Organisation
g	:	Gramme
Gen Bank	:	Genetic sequence database
<i>G.pallida</i>	:	<i>Globodera pallida</i>
<i>G.rostochiensis</i>	:	<i>Globodera rostochiensis</i>
H	:	Heure
ha	:	Hectare
HR%	:	Humidité du sol
H ₂ O	:	Eau distillée
H ₂ O ₂	:	Peroxyde d'hydrogène
IEF	:	Focalisation isoélectrique
INPV	:	Institut National de Protection de Végétaux
ITCMI	:	Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles
ITS	:	Internal transcribed spacer
Li	:	Littoral
L ₂	:	Larve du deuxième stade
Mgcl ₂	:	Magnesium chloride
min	:	Minute
ml	:	Millilitre
mm	:	Millimètre
MO	:	Microscope Optique
MO%	:	Matière organique totale
NA ₂ CO ₃	:	Carbonate de sodium
(N _a PO ₃) ₆	:	Hexamétaphosphate de sodium
NKPT	:	Nématodes à Kyste de la Pomme de Terre

Nt%	:	Azote total
OEPP	:	Organisation Européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes
PCR	:	Polymerase chaine reaction
Pf	:	Population finale
pH.	:	Potentiel hydrogène
Pi	:	population initiale
P ₂ O ₅	:	Phosphore total
qx	:	Quintaux
RAPD	:	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	:	Restriction Fragment Lenght Polymorphisme
s	:	Seconde
SA	:	Saharian Atlas
SAT	:	Superficie Agricole Totale
SAU	:	superficie agricole utile
TA	:	Tellian Atlas
Taq polymerase	:	Thermophilus aquaticus polymerase
TBE	:	Tris-Borate-EDTA
UV	:	Ultra violet
µm	:	Micromètre
%	:	Pour cent

LISTE DES ANNEXES

Annexe 01	: Répartition de <i>Globodera spp.</i> dans le monde.....	177
Annexe 02	: Quelques cultivars de pomme de terre résistants au <i>Globodera rostochiensis</i> ou/et <i>Globodera pallida</i>	179
Annexe 03	: Tableau des nématocides homologués en Algérie.....	180
Annexe 04	: Réactifs et préparations des tests phyto-chimiques préliminaires.....	182
Annexe 05	: Analyse de la variance de l'effet des différents traitements testés sur la mortalité des larves L ₂ de <i>Globodera pallida</i>	183
Annexe 06	: Analyse de la variance de l'effet des différents traitements testés sur l'éclosion des œufs de <i>Globodera pallida</i> après 6 semaines d'incubation.....	186
Annexe 07	: Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le développement de <i>Globodera pallida</i> sur pomme de terre.....	189

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	: Différence entre les deux espèces <i>Globodera rostochensis</i> et <i>Globodera pallida</i>	18
Tableau 2	: Coordonnées géographiques des sites étudiées.....	49
Tableau 3	: Classes granulométriques des différents constituants minéraux de la terre fine.....	61
Tableau 4	: Taux d'infestation des <i>Globodera spp.</i> dans les régions infestées.....	64
Tableau 5	: Infestation des parcelles de pomme de terre par <i>Globodera</i>	65
Tableau 6	: Analyse de la variance du nombre de kystes pleins et vides des <i>Globodera spp.</i> /500g de sol entre les différentes régions infestées.....	66
Tableau 7	: Classement des groupes homogènes des moyennes de l'ensemble de kystes vide et pleins entre les différentes régions infestées (Test de Newman-Keuls).....	67
Tableau 8	: Densité des kystes pleins et degré d'infestation des <i>Globodera spp.</i> dans les régions infestées.....	69
Tableau 9	: Analyse de la variance de la densité des kystes pleins des <i>Globodera</i> /100 cm ³ de sol dans les différentes régions infestées.....	70
Tableau 10	: Classement des groupes homogènes des moyennes de la densité des kystes pleins entre les différentes régions infestées (Test de Newman-Keuls).....	70
Tableau 11	: Analyse de la variance des degrés d'infestations de sol par <i>Globodera spp.</i> entre les différentes régions infestées.....	72
Tableau 12	: Classement des groupes homogènes des moyennes des degrés d'infestations entre les différentes régions prospectées (Test de Newman-Keuls).....	72
Tableau 13	: Liste des amorces utilisées pour les différentes amplifications.....	85
Tableau 14	: Codes et origines des <i>Globodera</i> utilisés dans notre étude.....	91
Tableau 15	: Effet des extraits aqueux des plantes et de la solution bactérienne testés sur la mortalité des larves (L2) de <i>Globodera pallida</i>	122
Tableau 16	: Résultats des DL50 pour la mortalité des larves de <i>Globodera pallida</i> après 72 heures d'exposition.....	123
Tableau 17	: Résultats des TL50 pour la mortalité des larves de <i>Globodera pallida</i> pour 167 mg/ml pour les deux plantes, et 100 µl/ml de la suspension bactérienne	126
Tableau 18	: Effet des extraits aqueux des plantes et de la suspension bactérienne testés sur l'éclosion de <i>Globodera pallida</i>	131
Tableau 19	: Métabolites secondaires existant au niveau de plantes testées.....	134
Tableau 20	: Effet de différents traitements testés sur le nombre de kystes de <i>Globodera pallida</i> dans le sol.....	137
Tableau 21	: Analyse de la variance des kystes de <i>Globodera pallida</i> par 250 g de sol entre les différents traitements testés.....	138
Tableau 22	: Classement des groupes homogènes des moyennes des kystes de <i>Globodera pallida</i> par 250 g de sol des différents traitements par rapport au Témoin (Test de Newman-Keuls).....	138
Tableau 23	: Effet de différents traitements testés sur le nombre de femelles de <i>Globodera pallida</i> sur les racines de la pomme de terre.....	140
Tableau 24	: Analyse de la variance des femelles de <i>Globodera pallida</i> sur les racines entre les différents traitements testés.....	142
Tableau 25	: Classement des groupes homogènes des moyennes des femelles de <i>Globodera pallida</i> par racine de pomme de terre des différents traitements par rapport au Témoin (Test de Newman-Keuls).....	142
Tableau 26	: Effet de différents traitements testés sur le poids frais du système racinaire de la pomme de terre.....	144

Tableau 27 :	Analyse de la variance de poids frais du système racinaire par plant de pomme de terre entre les différents traitements testés.....	145
Tableau 28 :	Classement des groupes homogènes des moyennes de poids frais du système racinaire par plant de pomme de terre des différents traitements par rapport au Témoin (Test de Newman-Keuls).....	145

TABLE DES FIGURES

Figure 01	: Dispersion mondiale des nématodes à kyste de la pomme de terre provenant de leurs centres d'origine dans les Andes.....	10
Figure 02	: Morphologie des nématodes à kystes de la pomme de terre (NKPT) <i>Globodera rostochiensis</i> et <i>Globodera pallida</i>	12
Figure 03	: Cycle de vie des nématodes à kystes <i>Globodera spp.</i>	15
Figure 04	: Différentes mensurations prises lors de l'identification morphologique des <i>Globodera spp.</i>	19
Figure 05	: Régions étudiées au niveau de la wilaya d'Alger.....	34
Figure 06	: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Boumerdès.....	35
Figure 07	: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Bouira.....	36
Figure 08	: Région étudiée au niveau de la wilaya de Blida.....	38
Figure 09	: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Tipaza.....	40
Figure 10	: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Ain Defla.....	41
Figure 11	: Région étudiée au niveau de la wilaya de Chlef.....	42
Figure 12	: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Tlemcen.....	43
Figure 13	: Région étudiée au niveau de la wilaya de Skikda.....	44
Figure 14	: Région étudiée au niveau de la wilaya de Béchar.....	45
Figure 15	: Régions étudiées au niveau de la wilaya d'El Oued.....	46
Figure 16	: Plages causées par les <i>Globodera</i> au champ (Original).....	50
Figure 17	: Symptômes aériens causés par les <i>Globodera</i> sur un plant de la pomme de terre (Original).....	50
Figure 18	: Méthode d'échantillonnage en Zigzag appliquée au niveau des parcelles prospectées.....	51
Figure 19	: Parcelle de la pomme de terre en fin de culture (Original).....	52
Figure 20	: Parcelle de la pomme de terre à la fin de la récolte (Original).....	52
Figure 21	: Parcelle de la pomme de terre après la récolte (Original).....	52
Figure 22	: Sachets en plastiques étiquetées contenant du sol (Original).....	52
Figure 23	: Séchage du sol à l'air libre (Original).....	52
Figure 24	: Pesée du sol sécher (Original).....	53
Figure 25	: Sous échantillons contenant 500 g de sol (Original).....	53
Figure 26	: Composition de l'appareil de Fenwick (Original).....	54
Figure 27	: Extraction des <i>Globodera</i> à partir du sol (Original).....	55
Figure 28	: Refus du tamis (Original).....	55
Figure 29	: Récupération du refus sur un papier filtre (Original).....	55
Figure 30	: Papier filtre contenant la matière organique et les kystes (Original).....	55
Figure 31	: Séchage du refus à l'air libre (Original).....	55
Figure 32	: Récupération des kystes de <i>Globodera spp.</i> sous une loupe binoculaire (Original).....	56
Figure 33	: Aspect d'un kyste plein de <i>Globodera spp.</i> (Original).....	56
Figure 34	: Aspect d'un kyste vide de <i>Globodera spp.</i> (G : 6.3x 6x 10) (Original).....	56
Figure 35	: Boîtes de pétrie contenant les kystes vides et pleins de <i>Globodera spp.</i> (Original).....	57

Figure 36	: Boîtes de pétries de différentes parcelles à kystes vides et pleins (Original).....	57
Figure 37	: Kyste écrasé libérant des larves L2 et des œufs de <i>Globodera spp.</i> vu sous M.O (G : 6.3x 8x 10) (Original).....	58
Figure 38	: Larves L2 et les œufs de <i>Globodera spp.</i> vus sous M.O (G : 6.3x 12x 10) (Original).....	58
Figure 39	: Homogénéisateur des tissus (Original).....	58
Figure 40	: Lame à comptage de Peter (Original).....	58
Figure 41	: Dénombrement des œufs et des larves sous loupe binoculaire (Original).....	59
Figure 42	: Pipette de Robinson (Original).....	62
Figure 43	: Attaque à froid (Original).....	62
Figure 44	: Attaque à chaud	62
Figure 45	: Diagramme de classification détaillé de la texture (Original)	63
Figure 46	: Nombre moyen des kystes de <i>Globodera spp.</i> en fonction des régions étudiées.....	68
Figure 47	: pourcentages des kystes (vides et pleins) de <i>Globodera spp.</i> en fonction des régions étudiées.....	68
Figure 48	: Moyenne des densités des kystes pleins en fonction des régions étudiées.....	71
Figure 49	: Moyennes des degrés d'infestations des <i>Globodera spp.</i> en fonction des régions étudiées.....	73
Figure 50	: Structure de l'unité répétitive (cistron) d'ADN ribosomique montrant la position des régions amplifiées.....	80
Figure 51	: Position du gène <i>cytochrome b</i> et les amorces utilisées dans le génome mitochondrial.....	80
Figure 52	: Produit d'amplification de l'ADNr de <i>Globodera pallida</i> et de <i>Globodera rostochiensis</i> (Original).....	87
Figure 53	: Carte de l'Algérie montrant la distribution des <i>Globodera rostochiensis</i> et des <i>Globodera pallida</i> dans les différents sites étudiés (Original).....	88
Figure 54	: Produit d'amplification du gène de l'ITS ADNr de <i>Globodera pallida</i> et de <i>Globodera rostochiensis</i> (Original).....	89
Figure 55	: Produit d'amplification du <i>cyt b</i> gène de l'ADNmt de <i>Globodera pallida</i> (Original).....	90
Figure 56	: Arbre consensuel bayésienne à 50% de la majorité de l'ITS ADNr décrivant les relations évolutive entre différentes populations géographiques de PCN. Alignement sous le modèle GTR+I+G. Des probabilités postérieures supérieures à 70% sont données pour les clades appropriés. Les séquences nouvellement obtenues dans cette étude sont en gras (Original).....	93
Figure 57	: Arbre consensuel bayésienne à 50% de la majorité du gène <i>cytb</i> ADNmt décrivant les relations évolutive entre différentes populations géographiques de <i>Globodera pallida</i> . Alignement sous le modèle TIM1+I+G. Des probabilités postérieures supérieures à 70% sont données pour les clades appropriés. Les séquences nouvellement obtenues dans cette étude sont en gras (Original).....	94
Figure 58	: kystes de <i>Globodera pallida</i> mise à éclore (Original).....	100
Figure 59	: Suspension bactérienne (Original).....	100
Figure 60	: Plantes utilisées dans notre étude (Original).....	101
Figure 61	: <i>Taxus baccata</i> L. (Original).....	102
Figure 62	: <i>Juniperus phoenicea</i> L. (Original).....	103
Figure 63	: préparation des exsudats racinaire de la pomme de terre (Original).....	104

Figure 64	: Extraction de la solution biologique à travers un tissu de tulle (Original).....	105
Figure 65	: Extraction de la solution biologique à travers le papier Watmann (Original).....	105
Figure 66	: Test des différents extraits foliaires sur la mortalité des larves L ₂ de <i>Globodera pallida</i> (Original).....	106
Figure 67	: Test des différentes dilutions du produit nématicide sur la mortalité des larves L ₂ de <i>Globodera pallida</i> (Original).....	106
Figure 68	: Eclosoir contenant 5 kystes (Original).....	107
Figure 69	: Test de différents extraits foliaires sur l'éclosion des œufs de <i>Globodera pallida</i> (Original).....	108
Figure 70	: Test de différentes dilutions du produit biocide sur l'éclosion des œufs de <i>Globodera pallida</i> (Original).....	108
Figure 71	: Transfert et immersion des kystes dans les exsudats racinaires de pomme de terre (Original).....	108
Figure 72	: Pomme de terre Variété Désirée (Original).....	109
Figure 73	: Préparation des sacs à kystes de <i>Globodera pallida</i> (Original).....	110
Figure 74	: Dilutions de la suspension bactérienne (Original).....	111
Figure 75	: Dilutions des extraits foliaires (Original).....	111
Figure 76	: Traitement avant plantation (Original).....	111
Figure 77	: Couverture des pots avec un film en plastique (Original).....	111
Figure 78	: Inoculation et traitement après plantation (Original).....	112
Figure 79	: Dispositif expérimental de l'essai (Original).....	114
Figure 80	: Dispositif expérimental de l'essai.....	115
Figure 81	: Droite de régression des probits à différentes doses utilisées dans l'extrait aqueux de <i>Taxus baccata</i> sur les larves (L ₂) de <i>Globodera pallida</i>	124
Figure 82	: Droite de régression des probits à différentes doses utilisées dans l'extrait aqueux de <i>Juniperus phoenicea</i> sur les larves (L ₂) de <i>Globodera pallida</i>	124
Figure 83	: Droite de régression des probits à différentes doses utilisées dans la suspension de <i>Bacillus sp.</i> sur les larves (L ₂) de <i>Globodera pallida</i>	125
Figure 84	: Efficacité de l'extrait aqueux de <i>Taxus baccata</i> par rapport aux temps utilisés sur les larves L ₂ de <i>Globodera pallida</i>	127
Figure 85	: Efficacité de l'extrait aqueux de <i>Juniperus phoenicea</i> par rapport aux temps utilisés sur les larves L ₂ de <i>Globodera pallida</i>	127
Figure 86	: Efficacité de la suspension bactérienne de <i>Bacillus sp.</i> par rapport aux temps utilisés sur les larves L ₂ de <i>Globodera pallida</i>	128
Figure 87	: Pourcentage de larves éclos de <i>Globodera pallida</i> dans l'extrait aqueux de <i>Taxus baccata</i>	132
Figure 88	: Pourcentage de larves éclos de <i>Globodera pallida</i> dans l'extrait aqueux de <i>Juniperus phoenicea</i>	132
Figure 89	: Pourcentage de larves éclos de <i>Globodera pallida</i> dans la suspension bactérienne à <i>Bacillus sp.</i>	133
Figure 90	: Formation de kystes dans le sol traité par <i>Taxus baccata</i> (Original).....	136
Figure 91	: Début de la formation de femelles au niveau de racine de la pomme de terre du Témoin (original).....	141
Figure 92	: Formation des femelles sur racine de pomme de terre (Original).....	141
Figure 93	: Mort de la femelle et formation d'un kyste (Original).....	141

Figure 94	: Traitement avant plantation (Original).....	146
Figure 95	: Traitement après plantation (Original).....	146
Figure 96	: Traitement combiné (Original).....	146

TABLE DES MATIÈRES

Introduction générale	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique.....	6
1. Généralités sur les nématodes appartenant au genre <i>Globodera</i>	7
2. Description des nématodes à kystes <i>Globodera rostochiensis</i> et <i>G. pallida</i>	11
3. Cycle des <i>Globodera sp.</i>	13
4. Symptomatologie, dégât et seuil de nuisibilité	16
5. Techniques d'identification des nématodes dorés	18
6. La lutte contre <i>Globodera spp.</i>	22
7. La lutte intégrée	31
Chapitre II : Présentation des sites d'expérimentation	32
Objectif.....	33
1. Les caractéristiques des régions d'étude.....	33
1.1. La wilaya d'Alger.....	33
1.2. La wilaya de Boumerdès	35
1.3. La wilaya de Bouira	36
1.4. La wilaya de Blida.....	37
1.5. La wilaya de Tipaza	39
1.6. La wilaya de Ain Defla	41
1.7. La wilaya de Chlef	42
1.8. La wilaya de Tlemcen	43
1.9. La wilaya de Skikda	44
1.10. La wilaya de Béchar	45
1.11. La wilaya d'El Oued.....	46
Chapitre III : Prévalence et infestation des nématodes à kystes de la pomme de terre du genre <i>Globodera</i> dans quelques wilayas de l'Algérie	47
Objectifs de l'étude.....	48
1. Matériels et Méthodes	48
1.1. Choix des sites.....	48
1.2. Analyse nématologique	50
1.3. Échantillonnage du sol	50
1.4. Extraction des nématodes et comptage	53

1.5. Effet des caractéristiques physiques de certains sols étudiés sur les nématodes de la pomme de terre <i>Globodera sp.</i>	59
2. Résultats et discussion.....	64
2.1. Résultats.....	64
2.2. Discussion et conclusion.....	74
Chapitre IV : Caractérisation moléculaire des populations de nématodes à kystes de la pomme de terre en provenance de différentes régions de l'Algérie.....	78
Objectifs.....	79
1. Matériels et méthodes.....	79
1.1. Matériel biologique.....	79
1.2. Choix des marqueurs moléculaires.....	79
1.3. Extraction d'ADN.....	81
1.4. Réactions PCR (Polymerase Chain Reaction).....	81
1.5. Electrophorèse, purification des produits PCR et séquençage.....	85
1.6. Séquençage et analyse des séquences.....	85
1.7. Identification, diversité moléculaire et analyse phylogénétique.....	86
2. Résultats et discussion.....	87
2.1. Résultats.....	87
2.2. Discussion et conclusion.....	95
Chapitre V : Evaluation de l'efficacité de <i>Bacillus sp.</i> et des extraits aqueux de certaines plantes contre <i>Globodera pallida</i> (Stone, 1973) Behrens, 1975 (<i>Nematoda: Heteroderidae</i>).	98
Objectif.....	99
1. Matériels et méthodes.....	99
1.1. Matériel biologique.....	99
1.2. Matériel végétal.....	101
1.3. Effet de différents extraits aqueux et de <i>Bacillus sp.</i> sur la mortalité des larves L2 de <i>Globodera pallida</i>	105
1.4. Effet des différents extraits aqueux et de <i>Bacillus sp.</i> sur l'éclosion de larves de <i>Globodera pallida</i>	107
1.5. Effet des extraits foliaires de <i>Taxus baccata</i> , de <i>Juniperus phoeniceae</i> et de <i>Bacillus sp.</i> sur le développement de <i>Globodera pallida</i> sur pomme de terre.....	109

1.6. Tests phyto-chimiques préliminaires (ou Screening phytochimique).....	116
2. Résultats et discussion.....	119
2.1. Résultats	119
2.2. Discussion	147
Conclusion générale	154
Références bibliographiques	159
Annexes	176

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Originaire des Andes dans le sud du Pérou et le nord de la Bolivie depuis 5000 ans av. J-C., la pomme de terre (*Solanum tuberosum* ssp. *Tuberosum* L.) était inconnue par la population européenne, asiatique et africaine jusqu'au 16^{ème} siècle (Hawkes, 1994).

En 1533, l'espagnol Francisco Pizarro vient de conquérir le Pérou des Incas, il était le premier européen qui a découvert les *papas*. C'est ainsi que ce curieux tubercule arrive dans le sud de l'Espagne et fait alors ses premiers pas en Europe (Hawkes, 1994; Bourget, 2003).

Cette papa devient vite *patata* en Espagne, *potato* chez les britanniques et *potatis* pour les suédois. En Italie elle se fait appeler *taratouffli*, elle est la *caratoufle* en France et *kartoffel* en Allemagne. Elle a été nommée pour la première fois comme *Solanum tuberosum esculentum* par le botaniste suisse Gaspard Bauhin (Bourget, 2003). Depuis, elle s'est rapidement diffusée dans le monde dans plus de 100 pays sous pratiquement toutes les altitudes et latitudes habitées (DeFauw et al., 2012).

De nos jours, cette solanacée constitue l'une des cultures légumières les plus importantes dans le monde. Elle est classée en quatrième position après le blé, le maïs, et le riz avec une production totale d'environ 368 millions de tonnes (Hawkes, 1994; FAOSTAT, 2014; Low, 2015).

La pomme de terre est un aliment de base pour toute la population mondiale, elle présente un rapport calories - protéines très important. En plus de l'amidon et du sucre, la pomme de terre renferme des fibres, des vitamines et des sels minéraux (Storey, 2007).

De même, elle est connue par ses utilisations diverses dans l'alimentation animale et industrielle, et par son importance dans la réduction de la famine et la pauvreté dans le monde (McGregor, 2007). Ceci a incité l'Organisation des Nations Unies (ONU) de déclarer l'année 2008 comme l'année Internationale de la pomme de terre afin de promouvoir le développement de systèmes durables fondés sur une spéculation en tant qu'aliment du futur et de renforcer la sensibilisation de l'importance de ce produit en tant qu'aliment des pays en développement (FAO, 2009).

En 2013, la chine devient le premier producteur mondial de la pomme de terre suivi de l'Inde, de la Russie, de l'Ukraine, des États unis, et au 14^{ème} rang figure l'Algérie qui est considérée comme le premier producteur de cette solanacée en Afrique (FAOSTAT, 2014).

Introduction générale

Introduite en Algérie pour la première fois par les Maures andalous au 16^{ème} siècle, la culture de pomme de terre *Solanum tuberosum* L. occupe une place importante dans l'économie du pays. Elle est cultivée sur environ 156 176 ha pour une production de 4 673 516 tonnes, soit un rendement annuel de 29 920 kg/ha en moyenne (Meziane, 1991; Ministère de l'Agriculture et du développement rural, 2014). De 1970 à 2009, la consommation algérienne de la pomme de terre a augmenté largement, passant de 20 à 75 kg par habitant et par an (Chehat, 2008).

Il existe 3 zones principales de production de pomme de terre en Algérie : le littoral et le sub littoral, l'Atlas Tellien et les hautes Plaines et la région du Sud. Ces régions produisent 61%, 17% et 8,2% de la production nationale de pommes de terre respectivement (Institut Technique des cultures Maraichères et Industrielles, 2010 et 2013).

Toutefois, cette culture est exposée à plusieurs maladies : fongiques entre autre le mildiou (*Phytophthora infestans*) et l'alternaria (*Altenaria solani*), virales (le virus de l'enroulement de la pomme de terre PLRV et le virus de la mosaïque jaune de la pomme de terre PYMV), et bactérienne (la pourriture brune de la pomme de terre causée par *Ralstonia solanacearum* et la jambe noire provoquée par *Erwinia carotovora*) (Swiezynski, 1994; Umaerus et Umaerus, 1994; Valkonen, 2007; Van der Wolf et De Boer, 2007; Olanya et al., 2012, Valkonen et al., 2015).

A celles-ci s'ajoutent les maladies dues aux ravageurs. C'est le cas de la teigne de la pomme de terre (*Phthorimaea operculella*), les larves fil de fer du genre *Agriotes*, les vers blancs (*Rhizotrogus spp.*) et les nématodes, notamment les nématodes à kystes appelés nématodes dorés de la pomme de terre (NKPT) *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975 et *G. rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 (Raman et al., 1994; Holliday, 1998; Weber, 2013).

Ces derniers sont définis comme des organismes nuisibles de quarantaine en raison de l'ampleur des dégâts occasionnés sur les cultures de pomme de terre, essentiellement dans les zones tempérées (Winslow et Willis, 1972; Mugnière, 1984). Les dommages provoqués par ce parasite sont difficilement chiffrables notamment par les interactions fréquentes avec d'autres agents pathogènes (Philips, 1994). A l'échelle mondiale, ils sont responsable de plus de 12% de pertes agricoles (Bates et al., 2002).

Les nématodes dorés de la pomme de terre (NKPT) ont d'abord été introduits en Algérie avec des tubercules de pommes de terre britanniques infestées vers 1953. Ils ont été signalé dans de nombreuses régions d'Algérie (Frezal, 1954, Scotto La Massesse, 1961). Depuis cette période, ces nématodes se sont propagés rapidement pour devenir un facteur limitant majeur dans

Introduction générale

plusieurs localités importantes de production de la pomme de terre, dont Aïn Defla, Chlef, Mascara, Sétif et Tipaza (Institut National de Protection des Végétaux, 2009).

Récemment, une étude menée par Tirchi et *al.*, (2016) dans la région d'Ain Defla (Ouest de l'Algérie) a révélé une large distribution des nématodes à kystes des céréales *Hetreodera avenae* et *H. hordecalis* et des nématodes dorés de la pomme de terre *Globodera rostochiensis* et *G. pallida*. Ces mêmes auteurs indiquent la présence des *G. pallida* ou *G. rostochiensis* séparément ou avec des populations mixtes.

Il est très difficile de contrôler ces ravageurs, compte tenu de leur extrême résistance aux conditions climatiques défavorables (froid et sécheresse), de leur grande variabilité physiologique, du fait qu'ils sont telluriques.

De même, la gestion des nématodes est habituellement basée sur le contrôle chimique pour désinfecter le sol. Ces nématicides posent de sérieux problèmes pour l'environnement et la santé humaine (Cayrol et *al.*, 1992). De plus, ils ne sont pas économiquement justifiés dans certains cas (Janssen et *al.*, 1998; Ijani et *al.*, 2000).

Néanmoins, face aux contraintes posées par les produits phytosanitaires organiques de synthèse, les recherches se sont orientées vers de nouvelles voies alternatives qui consistent à exploiter les toxines nématicides secrétées par certains microorganismes, et certaines plantes possédant des avantages écologiques (Cayrol et *al.*, 1992). De même, l'utilisation des variétés résistantes présente une méthode de lutte très prometteuse pour le contrôle de ce nématode (Philips, 1994).

En effet, l'identification rapide et précise des espèces est essentielle pour choisir une stratégie de lutte appropriée contre ces nématodes. Cependant, l'identification par des caractères morphologiques prend beaucoup de temps, et devient plus difficile en raison du nombre croissant de groupes d'espèces (Rivoal et *al.*, 2003, Donn et *al.*, 2008).

Pour ces raisons, plusieurs techniques moléculaires ont été développées pour l'identification rapide et exacte des nématodes dorés de la pomme de terre. C'est le cas de la réaction en chaîne polymérase (polymerase chaine reaction PCR). La plupart d'entre elles est basée sur l'ADN ribosomique (ADNr), comme la région ITS (Vrain et *al.*, 1992; Wendt et *al.*, 1993; Zijlstra et *al.*, 1995) et l'ADN mitochondrial (ADNmt) comme le gène *cytochrome b* (*cytb*). Les séquences ITS-ADNr peuvent être utilisées pour identifier plusieurs populations de nématodes et pour clarifier les relations phylogénétiques entre les différentes populations (Subbotin et *al.*, 2001).

Introduction générale

Actuellement, peu de données sont disponibles pour permettre de lever le voile sur la prévalence, et la répartition des nématodes dorés dans toutes les régions à vocation pomme de terre en Algérie, en particulier ; dans la région sud du pays. Pour cette raison, nous avons choisi de développer quatre grands axes de recherche :

- 1) Mener une vaste enquête sur les *Globodera* dans différentes régions de production de pomme de terre en Algérie (Nord, Est, Ouest et Sud) et de déterminer la prévalence, la répartition et le degré d'infestation dans chaque parcelle.
- 2) Etablir une cartographie de la répartition de ces nématodes dans toutes les zones étudiées.
- 3) Evaluer la variabilité moléculaire parmi les populations du nématode doré de la pomme de terre introduites en Algérie en utilisant l'ITS, le *cytb* et le séquençage pour les associations géographiques.
- 4) Tester l'effet bionématicide de la bactérie *Bacillus sp.*, et des extraits aqueux de *Taxus baccata* (*Taxaceae*), et de *Juniperus phoenicea* (*Cupressaceae*) contre *Globodera pallida* *in vitro*, et *in vivo*.

Ce manuscrit est organisé en cinq chapitres portant les fruits de mes travaux. Le premier chapitre représente une synthèse bibliographique sur les nématodes à kystes de la pomme de terre *Globodera pallida* et *Globodera rostochiensis*. Le second aborde une présentation des régions étudiées en Algérie. Les trois chapitres suivants rapportent les résultats obtenus pour les quatre axes cités précédemment. Enfin, ce travail est finalisé par une conclusion générale avec les perspectives adoptées pour un meilleur contrôle de ces parasites.

CHAPITRE I

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les nématodes appartenant au genre *Globodera*

Les nématodes du genre *Globodera*, appelés communément nématode à kystes de la pomme de terre, sont les ravageurs les plus redoutables sur les solanacées. Ce genre comporte deux principales espèces très proches qui sont particulièrement inféodées à la culture de la pomme de terre: *Globodera rostochiensis* (Woll.) (le nématode doré) et *Globodera pallida* Stone (le nématode blanc) (Franco et al., 1998).

A cause de son potentiel de reproduction et sa capacité de survivre dans des conditions climatiques défavorables, le nématode à kyste de la pomme de terre cause de lourdes pertes économiques à plusieurs cultures dans le monde (Turner et Evans, 1998 ; Bélaire, 2005). C'est pourquoi il est considéré comme parasite de quarantaine dans plusieurs pays (OEPP, 2016).

1.1. Position systématique

La classification des *Globodera* que nous avons adopté est celle préconisée par Agrios (2005). Les deux espèces de *Globodera pallida* (stone) et de *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) appartiennent à :

Embrevement : *Némathelminthes*

Phylum: *Nematoda*

Classe : *Secernentae*

Ordre : *Tylenchida*

Sous ordre : *Tylenchina*

Super famille : *Tylenchoidea*

Famille : *Heteroderidae*

Sous famille: *Hetroderinae*

Genre: *Globodera*

Especie: *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975.

Globodera pallida (Stone, 1973) Behrens, 1975.

Actuellement, le genre *Globodera* compte une douzaine espèces parmi lesquelles on peut citer : *Globodera tabacum* sur culture de tabac (*Nicotiana tabacum*), *Globodera achilleae* sur culture de l'achillée millefeuille (*Achillea millefolium*) et *Globodera Mexicana* sur culture de tomate (Fleming et Powers, 1998a; Mugniéry et Philips, 2007).

1.2. Plantes hôtes

Ces endoparasites sédentaires des racines possèdent une gamme d'hôte très réduite. Ils affectent principalement la pomme de terre, mais aussi la tomate, l'aubergine, et autres solanacées (Agrios, 2005).

Selon Bélaire (2005), ils existent environ 90 espèces du genre *Solanum* qui sont reconnues comme étant des hôtes de ces ravageurs.

Les *Globodera* peuvent se multiplier également sur des solanacées adventices, telles la douce-amère *Solanum dulcamara* L., la morelle noire *Solanum nigrum* L., la jusquiame noire *Hysagamus niger* L. et le Datura *Datura stramonium* L. (Whithead et al., 1977).

1.3. Origine et historique de *Globodera* spp.

Selon Evans et al., (1975), la distribution des deux espèces de nématodes à kystes de la pomme de terre en Amérique du Sud n'était pas uniforme. En effet, ces auteurs rapportent que *Globodera rostochiensis* a prédominé le Sud de la latitude 15.6°S aux Andes péruviennes et boliviennes, tandis que *Globodera pallida* s'est trouvée uniquement au Nord de cette ligne (Figure 1). L'introduction originale des deux espèces en Europe était vraisemblablement avant 1850 avec le transport des tubercules de pomme de terre destinés à l'amélioration de la résistance au mildiou (Franco et al., 1998 ; Turner et Evans, 1998).

Les *Globodera* étaient repérés pour la première fois en Allemagne à Rostock en 1880, en Angleterre en 1917, en Irlande et en suède en 1922 (Evans et Trudgill, 1992).

Ces nématodes ont été propagés par la suite avec la diffusion de la culture de la pomme de terre dans d'autres régions du monde. La différenciation entre le nématode à kyste de la pomme de terre, et celui de la betterave a été distinguée pour la première fois par Wollenweber (1923) qui a donné le nom de rostock (en référence à une ville en Allemagne) au kyste de la pomme de terre : *Heterodera rostochiensis*. Depuis, les nématodes à kystes ont été longtemps considérés comme une seule espèce : *Heterodera rostochiensis* (Fleming et Powers, 1998a).

En 1972, Stone décrit une deuxième espèce *Heterodera pallida* dans le sous genre *Globodera*. Les distinctions morphologiques et biologiques qui existent entre *Heterodera* et *Globodera* ont incité Behrens (1975) à élever le sous-genre *Globodera* au rang générique (Turner et Evans, 1998).

En Algérie, le genre *Globodera* a été découvert pour la première fois en 1953 à maison carrée suite à l'introduction de semences de pomme de terre d'origine britannique à la fin de la deuxième guerre mondiale (Frezal, 1954). Scotto La Massesse (1961) affirme que 33 communes dans le littoral algérois étaient infestées par ce nématode à cause des pratiques culturales.

Cette contamination a pris un large spectre dans plusieurs wilayas du pays dont les plus importantes sont Mascara, Sétif, Aïn Defla, Tipaza, et Chlef (Institut National de Protection des Végétaux, 2009).

1.4. Répartition de *Globodera spp.*

En 1994, ces nématodes ont été signalé dans tous les continents, avec *Globodera rostochiensis* dans 65 pays, alors que *Globodera pallida* a été reporté uniquement dans 41 (Figure 1, Annexe 1). Cependant, les nématodes à kystes de la pomme de terre sont encore rares dans d'autres pays comme l'Amérique du Nord, l'Australie, l'Inde, l'ex-URSS, et probablement la Chine. D'autres ont apparemment réussi à éradiquer ses faibles infestations (OEPP, 1994).

De plus, ils ont été enregistrés sur le continent africain uniquement en Libye, l'Algérie, le Maroc, la Tunisie, l'Égypte, la Sierra Leone, le Mozambique et l'Afrique du Sud (Kleynhans, 1998).

Actuellement, la distribution des nématodes à kystes de la pomme de terre *Globodera spp.* est liée à celle de la culture de pomme de terre. Elle s'étend à partir des zones tempérées jusqu'au niveau de la mer et sous les tropiques à des altitudes plus élevées (Heageman et al., 2012).

Cependant, les facteurs responsables sur la répartition géographique de ces deux espèces dans le monde sont dus éventuellement à leur origine, aux exigences thermiques, à l'altitude, et à l'interaction de l'un d'entre eux avec la plante hôte. De même, l'activité de l'être humain peut aussi influencer cette distribution (Franco et al., 1998).

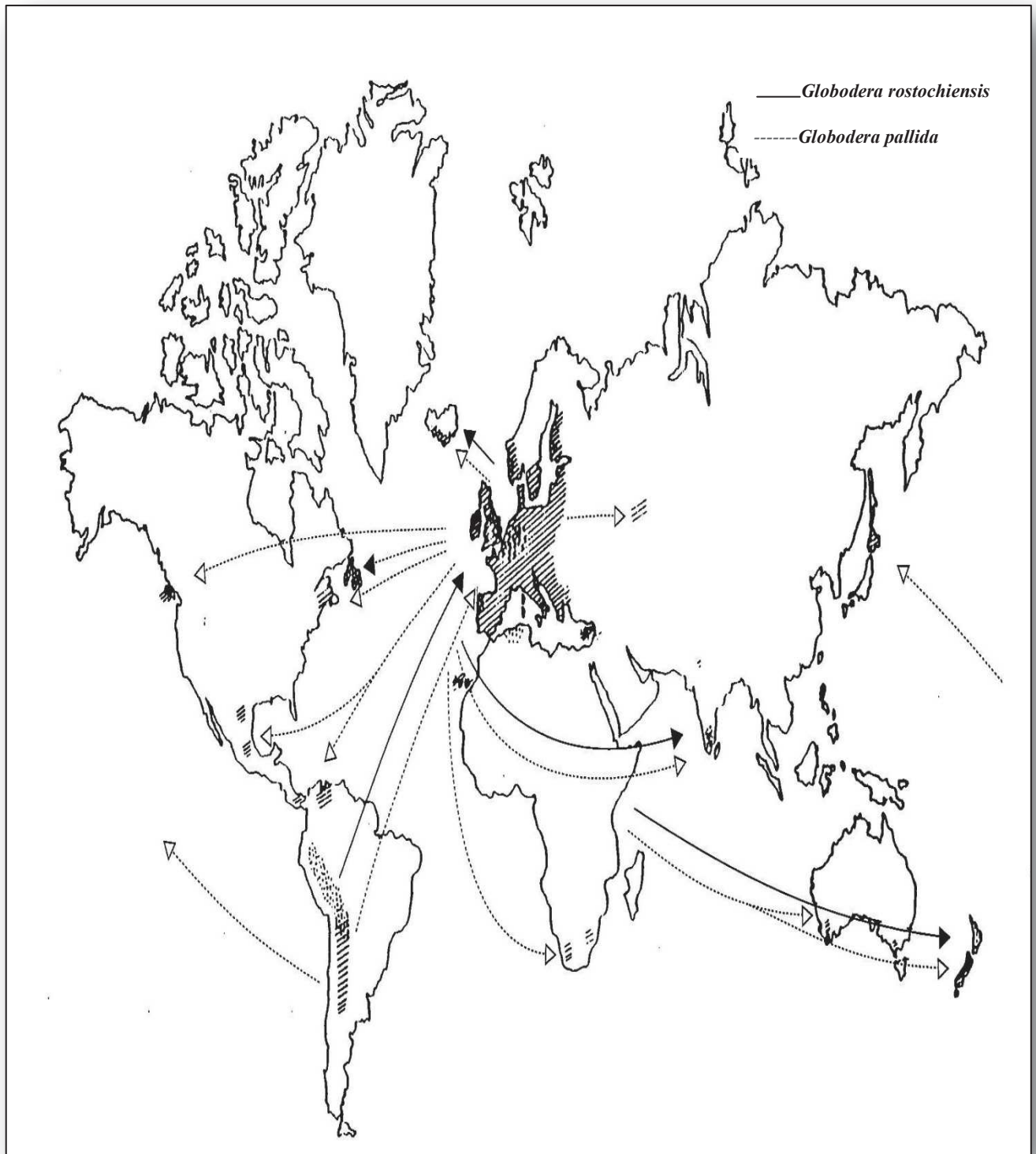


Figure 1 : Distribution mondiale des nématodes à kystes de la pomme de terre provenant de leurs centres d'origine dans les Andes (basé sur Jones et Kempton, 1982).

2. Description des nématodes à kystes *Globodera rostochiensis* et *Globodera pallida*

Les nématodes à kystes de la pomme de terre *Globodera rostochiensis* et *Globodera pallida* sont des vers microscopiques étroitement liée morphologiquement et morphométriquement (Figure 2). Ce sont des endoparasites sédentaires des racines, caractérisés par un dimorphisme sexuel très prononcé présentant une forme cylindrique, annelée et effilée aux deux extrémités (Schneider et Mugniéry, 1971; Golden et Ellington, 1972; Mugniéry, 1984; Perry et Aumann, 1998; OEPP, 2013).

Les juvéniles mobiles de deuxième stade sont vermiformes et la longueur du corps varie de 445 à 510 μm . La partie antérieure est constituée d'un stylet dur qui pique les cellules de la racine et absorbe la nourriture. Il est relativement large de 19 à 25 μm de longueur situé dans la partie buccale plus fortement sclérifiée (Stone, 1972; Grenier, 2010). Ce stylet est suivi d'un canal œsophagien aboutissant à un bulbe musculéux puissant permettant sa projection vers l'avant (Perry et Wharton, 1985). Le corps de ce genre se termine par une queue de 37 à 55 μm de longueur où la partie hyaline présente une longueur de 21 à 31 μm (OEPP, 2013).

La forme générale des mâles est filiforme ; ils ont 1 mm de longueur environ, caractérisés par une queue courte et émoussée dans laquelle se trouvent les organes copulateurs (Eisenback, 1998). Les femelles immatures de *Globodera rostochiensis* sont jaunes ou dorés, celles de *Globodera pallida* sont blanches ou crème. A maturité, les femelles des deux espèces se gonflent et deviennent des kystes bruns arrondis d'un diamètre de 450 μm . Ils sont dépourvu du col terminal, et présentent un petit col saillant (Stone, 1972; Brodie et *al.*, 1993; Fleming et Powers, 1998b; OEPP, 2013). Ces kystes sont résistants et contiennent jusqu'à 1000 œufs, renfermant chacun une petite larve repliée sur elle-même qui peut rester en dormance (latence) pendant plusieurs années (schneider et Mugniery, 1971).

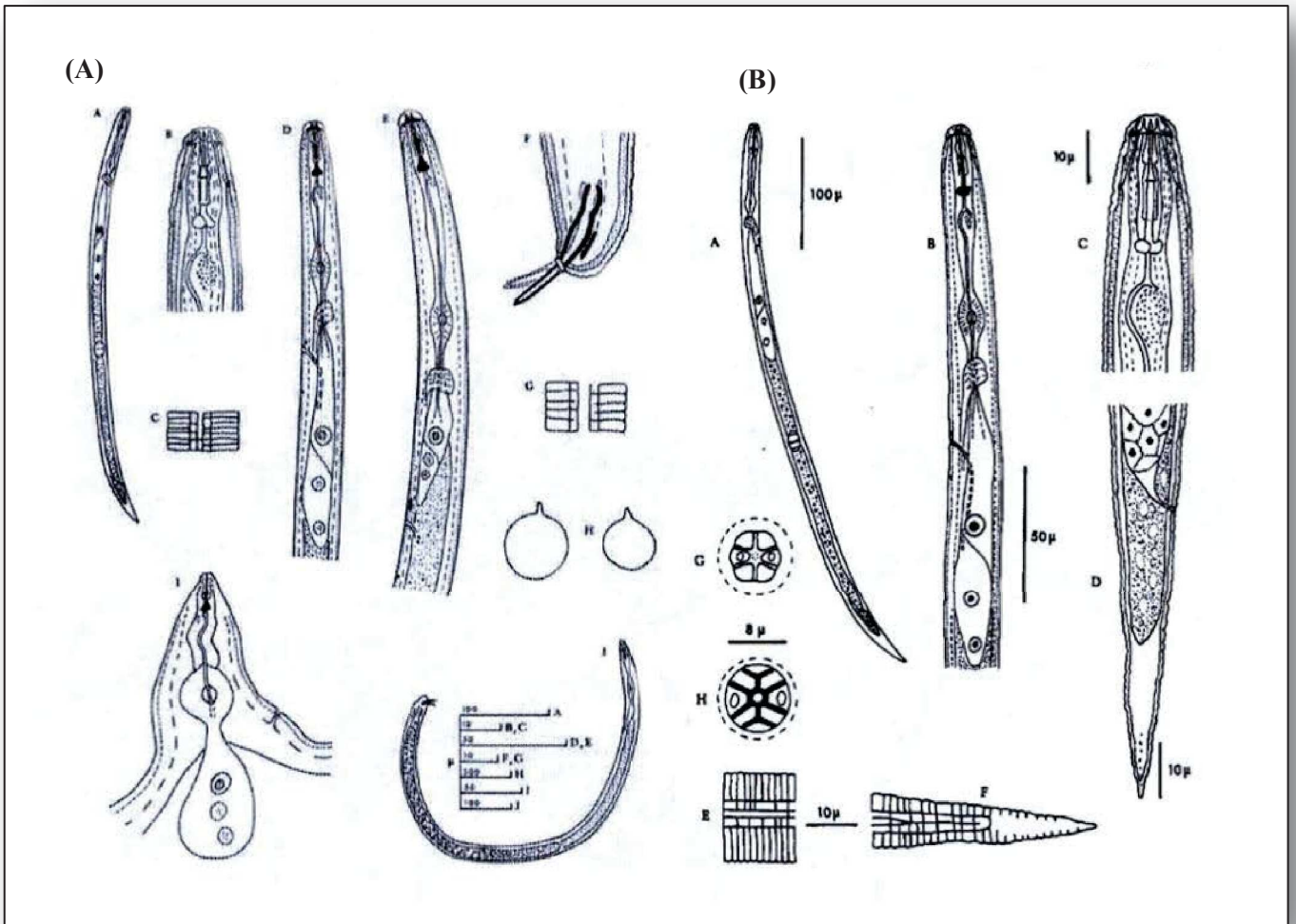


Figure 2 : Morphologie des nématodes à kystes de la pomme de terre (NKPT):
Globodera rostochiensis et *Globodera pallida* (Stone, 1973 citée par OEPP, 2013).

(A) *Globodera rostochiensis*. A. Juvénile entière. B. Région de la tête de la juvénile de 2ème stade. C. Partie latérale de 2ème stade de la juvénile, moitié du corps. D. Région pharyngée de 2ème stade juvénile. E. Région pharyngée du mâle. F. Queue du mâle. G. Région latérale du mâle, moitié du corps. H. Kyste entier. I. Tête et cou de la femelle. J. mâle entier.

(B) *Globodera pallida*. A. Juvénile entière. B. Partie antérieure du corps. C. tête. D. Queue. E. Région latérale, moitié du corps. F. Région latérale de la queue. G. Tête et face au niveau labial. H. Tête et face au niveau basal.

3. Cycle des *Globodera spp.*

Le cycle de développement des *Globodera spp.* (Figure 3) s'effectue dans le système racinaire de la plante hôte. Il est pratiquement identique pour les deux espèces. La phase active du cycle de vie des nématodes à kystes de la pomme de terre commence lorsque l'éclosion des œufs stimulée par les exsudats racinaires des plantes-hôtes (*Solanum tuberosum*, *Lycopersicon esculentum*, *Solanum dulcamara*) libère des larves de deuxième stade L₂ qui constituent le stade infestant du parasite (Turner et Evans, 1998). Elles quittent les kystes par les ouvertures naturelles et se déplacent rapidement dans le sol humide (Evans, 1983; Perry, 1997). Lorsqu'elles rencontrent une racine, elles percent son écorce grâce à leurs stylets acérés et mobiles qu'elles possèdent dans la bouche et y pénètrent (Turner et Evans, 1998). L'attraction des juvéniles vers les racines est due probablement aux amphides. Ces derniers sont des organes sensoriels se trouvant dans la tête de ces nématodes, et peuvent détecter les éléments chimiques existant dans les exsudats racinaires de la plante hôte (Perry, 1998).

Chaque nématode se nourrit au niveau d'un groupe de cellules du péricycle, cortex ou endoderme, et les transforme en un syncytium (qui peut inclure jusqu'à 200 cellules), ou en une cellule de transfert qui forme un syncytial. Le nématode demeure à cet endroit jusqu'à la fin de son développement qui peut durer plus de 3 mois (Turner et Evans, 1998). Il doit passer par deux stades juvéniles encore L₃ et L₄ pour devenir un mâle ou une femelle (Smit et Vamerali, 1998; Dyakov et Zinovyeva 2007a, Haegeman et al., 2012).

Les *Globodera spp.* montrent une diapause obligatoire lors de leur première phase de développement. C'est un arrêt de développement qui permet aux L₂ de surmonter des conditions environnementales défavorables à l'éclosion (Mugniery et Balandras 1984; Perry, 1998; Palomares-Rius et al., 2015).

Le dernier stade de développement est le stade adulte qui correspond au gonflement des femelles, qui peuvent traverser la surface des racines, mais elles y restent attachées par le cou et la tête. Elles sont ensuite fécondées par les mâles, vermiformes et actifs (Turner et Rowe, 2006; Chauvin et al., 2008).

Après l'accouplement, les mâles meurent et les femelles demeurent sur les racines pendant que les œufs se développent à l'intérieur de celles-ci (Evans, 1983; Fleming et Powers, 1998a). Quand les femelles sont totalement développées, elles meurent. Leur cuticule se transforme en une enveloppe protectrice pour former le kyste qui présente le mode passif de propagation de ces nématodes. Il y a environ 1000 œufs en moyenne par kyste (Blanchard, 2006). A ce moment, les kystes se détachent de la surface de la racine et se retrouvent dans le sol où les œufs éclosent immédiatement pour attaquer la culture. Ils peuvent rester dormants pour jouer le rôle de source d'inoculum pour les cultures futures. Ils peuvent garder leur pouvoir infectieux pendant de

nombreuses années en l'absence de plante hôte (Evans et Stone, 1977; Brodie et *al.*, 1993; Marks et Brodie, 1998). En zones tempérées, ces kystes peuvent rester viables pendant 15 à 20 ans (Stone, 1972).

Le développement des *Globodera* est influencé par de nombreux facteurs externes, dont les plus importants sont: la température, l'humidité, la texture et les propriétés chimiques du sol (McSorley, 1998; Ebrahimi et *al.*, 2014). En fonction des conditions climatiques, ce parasite peut avoir une ou deux générations par an (Turner et Evans, 1998).

Ainsi, l'optimum des températures qui favorise l'éclosion des larves se situe entre 15 et 20° C (schneider et Mugniéry, 1971). *Globodera pallida* semble être mieux adapté aux climats froids avec des températures allant de 10 à 21°C, tandis que *Globodera rostochiensis* préfère des températures variant entre 15 et 25°C (Van Riel et Mulder, 1998).

D'après Franco et *al.*(1998), le pourcentage d'éclosion des juvéniles après huit semaines montre que les populations de *Globodera rostochiensis* éclosent mieux à une température qui dépasse les 20°C. Tandis que la température optimale pour une bonne éclosion des populations de *Globodera pallida* est de 10°C.

De même, l'éclosion des œufs est inhibée par la sécheresse et l'humidité du sol. L'aération du sol est directement liée à la quantité d'eau qu'il contient et la taille des pores (Schneider et Mugniéry, 1971). En effet, dans un sol saturé d'eau, la baisse de concentration en oxygène peut induire une forme de quiescence des larves (De Guiran, 1971). Ces dernières sont actives dans un sol ayant un taux d'humidité de 40% à 60% avec un pH. voisin de la neutralité de 6 (Reddy, 1983; Yepsen, 1984; McSorley, 1998).

La sévérité des attaques des *Globodera* varie avec le type de sol. Généralement, ce genre s'adapte à plusieurs textures, et les dégâts sont plus accentués en sol léger et poreux, particulièrement les sols sableux (schneider et Mugniéry, 1971; Trudgill et *al.*, 1998).

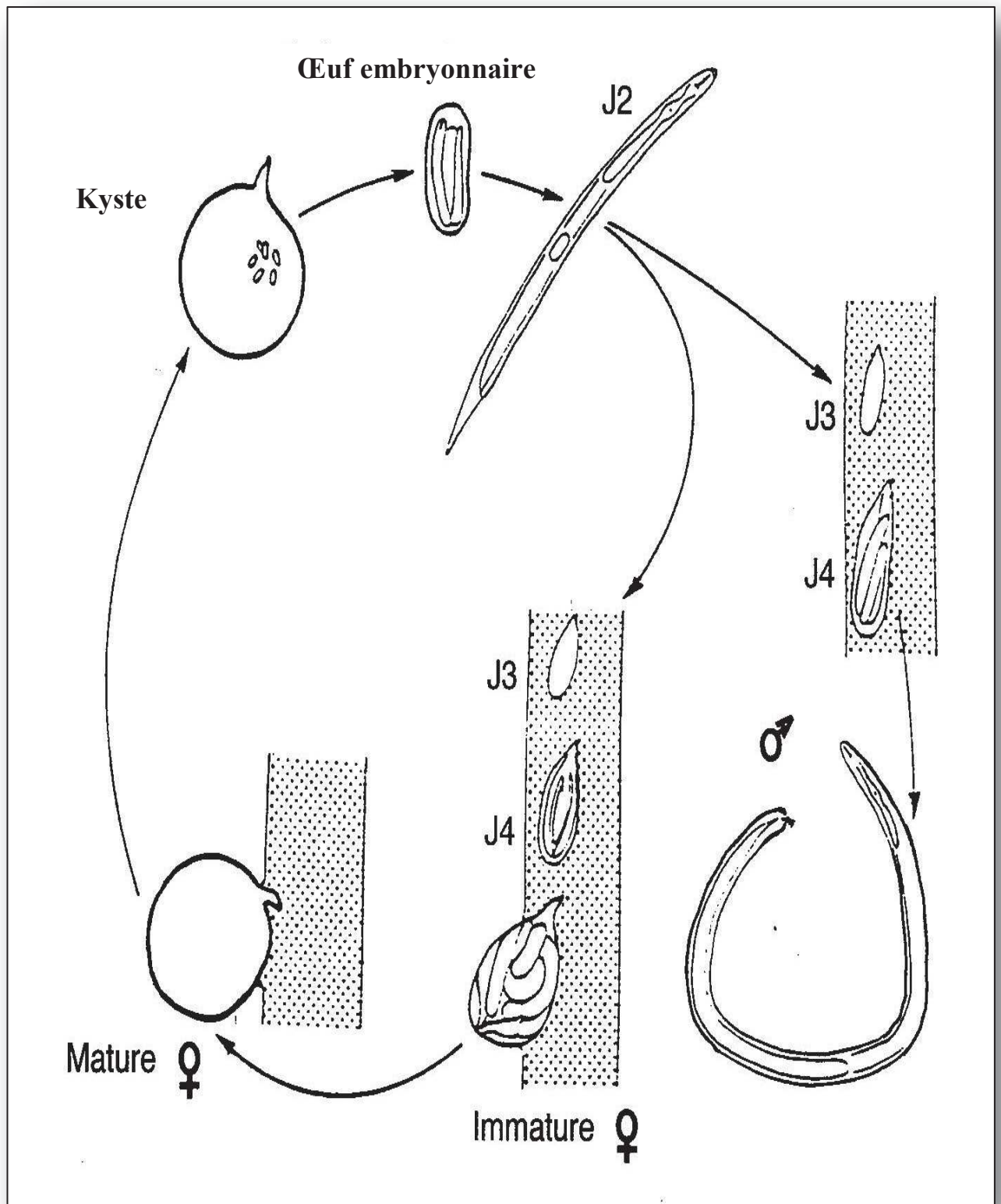


Figure 3 : Cycle de vie des nématodes à kystes *Globodera spp.* (Evans et Stone, 1977).

4. Symptomatologie, dégât et seuil de nuisibilité

Il est peu probable de faire un diagnostic exacte d'une maladie vermiculaire au seul examen de l'aspect externe du végétal. Dans tous les cas, il faut confirmer par une analyse nématologique qui s'avère indispensable.

Les symptômes aériens et souterrains de la plante peuvent être ainsi décrits :

4.1. Symptômes sur la partie aérienne

Les symptômes ne sont pas spécifiques sur la partie aérienne de la plante et se traduisent par :

*Une décoloration générale des plantes et une faible croissance en une ou plusieurs zones du champ appelées « des plages ».

*Une diminution de la vigueur du végétal et une déficience généralisée due à l'action du pathogène.

*Un flétrissement et un jaunissement des feuilles.

*Une floraison réduite (Brodie, 1998b; Agrios, 2005; Dyakov et Zinovyeva, 2007a).

4.2. Symptôme sur la partie souterraine

Les racines infestées sont trop courtes. On peut voir à l'œil nu un certain nombre de femelles fixées sur leur longueurs. Ce nématode cause aussi une dégradation du système racinaire qui se traduit par une déficience minérale de la plante (Hockland, 2002 ; Agrios, 2005). La taille du tubercule peut être réduite et la qualité du produit endommagé (Schneider et Mugniery, 1971 ; Fatemy et Evans, 1986 ; Chauvin *et al.*, 2008).

Cependant, l'importance des dégâts causés par les nématodes dépend d'un grand nombre de facteurs, comme leurs nombres, la virulence de l'espèce, la résistance ou la tolérance de la plante-hôte, les facteurs climatiques et le type de sol (Coyne *et al.*, 2010).

Les nématodes à kystes *Globodera spp.* appartiennent au groupe des endoparasites sédentaires les plus dangereux. Ils présentent une menace importante sur les cultures, notamment la culture de la pomme de terre. Les dommages dus à ces nématodes sont plus graves surtout dans le cas des *Globodera pallida* à cause du manque des cultivars résistants à cette espèce (Whitehead et Turner, 1998).

Etablir la relation entre la population des nématodes avant la culture et le rendement est un objectif primordial. Il faut souligner l'intérêt qu'il ya de prévoir les risques dus aux nématodes mais aussi le caractère souvent insidieux des attaques aux champs. Selon Scotto La Massesse (1986), l'incidence de la maladie dépend des densités initiales des populations (p_i), elle varie en fonction des conditions climatiques et édaphiques.

En revanche, l'évaluation des pertes causées par les nématodes est difficile à établir de manière précise. Leur effet dépend de la pathogénie, des conditions du sol, du milieu, ainsi que l'espèce, voir même la variété du végétal (Phillips et Trudgill, 1998).

Ainsi, la connaissance des seuils de nuisibilité résulte des tests menés dans les conditions de plein champ, ou encore en pot. Il est estimé à 10 larves de deuxième stade L₂ par gramme de sol (Mugnière, 1982). Les dommages sont prévenus chez un cultivar intolérant lorsque la densité des *Globodera* est de 2 œufs/g de sol (Whitehead et Turner, 1998).

Le seuil de nuisibilité de *Globodera rostochiensis* est estimé à 1-3 œufs /g de sol en Norvège (Moxnes et Hausken, 2007).

La gravité des dégâts est fortement liée aux nombres d'œufs du nématode par unité du sol. On estime une perte de rendement qui varie entre 20% à 70% avec une densité initiale de la population de 8 et 64 œufs/g de sol (Evans, 1982 ; Greco et al., 1988).

En Amérique du Sud (le Pérou et la Bolivie), les pertes de rendement des pommes de terre dues aux *Globodera spp.* sont estimées de 13.2% à 58%. En Chili une inoculation des cultures de pomme de terres par des œufs de *Globodera rostochiensis* à des densités initiales de 12, 32 et 128 œufs/g de sol provoque des réductions de rendements de 20%, 50% et 70% respectivement (Franco et al., 1998).

En Russie, la perte de rendement causée par *Globodera rostochiensis* (R01) varie entre 30 et 80% selon la sensibilité des cultivars et la densité des nématodes dans le sol (Matveeva et al., 2010).

Enfin, les dégâts peuvent être plus importants du fait que ces nématodes créent des portes d'entrée pour d'autres agents pathogènes en synergie, c'est le cas des champignons comme *Verticillium dahliae* et *Rhizoctonia solani* qui constituent parfois des facteurs limitants d'une culture donnée (Whitehead, 1983; Whitehead, 1998; Kiani et al., 2013). De même la présence de *Globodera spp.* joue un rôle important dans la propagation de certaines bactéries comme *Ralstonia solanacearum* (Winslow et Willis, 1972; Evans et al., 1993; Khan, 1993; Turner et Rowe, 2006).

5. Techniques d'identification des nématodes dorés

La distinction entre *Globodera rostochiensis* et *Globodera pallida* et leur séparation des autres espèces de *Globodera* est un élément clé pour la plupart des schémas de gestion de ces parasites. Parmi les méthodes d'identification de ces nématodes, on peut citer :

5.1. Identification morphologique

Elle se base sur l'observation de la couleur des femelles au cours de son passage du blanc au jaune chez *Globodera rostochiensis* ou blanc continu chez *Globodera pallida* (Fleming et Powers, 1998a). Les caractéristiques morphologiques et morphométriques des juvéniles de deuxième stade et des kystes (Figure 4) jouent un rôle important dans l'identification de l'espèce (Franco et al., 1998 ; Skantar et al., 2007 et 2011). D'après Fleming et powers (1998b), la zone périnéale révèle la différence entre les deux espèces. Les principaux caractères sont : le nombre et la forme des stries sur l'axe anus-vulve, la distance entre l'anus et la vulve, le diamètre de la fenêtre vulvaire, le rapport de Granek (distance vulve anus /diamètre de la fenêtre vulvaire). Les caractères principaux pris en considération pour l'identification des juvéniles de deuxième stade sont la longueur du stylet et la forme des boutons basaux du stylet (Baldwin, 1988; Franco et al., 1998).

Il s'est avéré que cette méthode de diagnostic prend beaucoup de temps et elle est coûteuse (Fleming et Powers, 1998b).

Tableau 1 : Différence entre les deux espèces *Globodera rostochensis* et *Globodera pallida* (Fleming et Powers, 1998b).

Caractères d'identifications	<i>Globodera rostochiensis</i>	<i>Globodera pallida</i>
Forme des boutons basaux du stylet des J2	Surface antérieure ronde	Surface antérieure plate a concave
Longueur du stylet des J2	21-23 (22)	21-26 (>23)
Nombre des stries entre l'anus et la bordure de fenêtre	12-31(>14)	8-20 (<14)
Diamètre de la fenêtre vulvaire	8-20 (<19)	18-21 (>19)
Distance entre l'anus t la bordure de fenêtre	37-77 (>55)	22-67 (<50)
Le rapport de Granek (distance vulve anus /diamètre de la fenêtre vulvaire).	1.3-9.5 (> 3)	1.2-3.5 (<3)

Les mesures sont en µm. entre parenthèses représente la valeur moyenne.

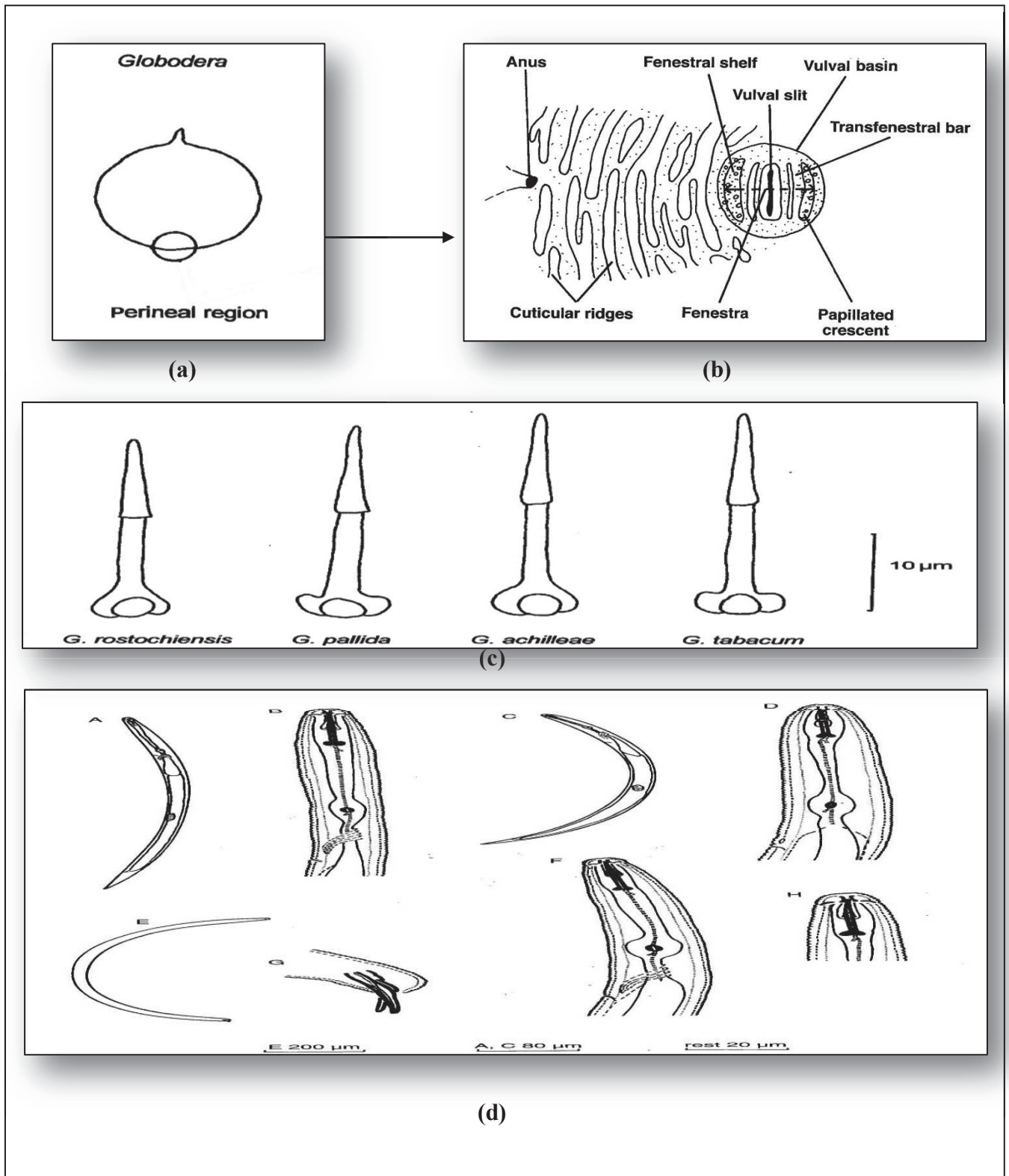


Figure 4 : Différentes mensurations prises lors de l'identification morphologique des *Globodera* spp.. (a) : localisation de la région périnéale au niveau de kyste de *Globodera* spp., (b) : région périnéale, (c) : forme du stylet des juvéniles de quatre espèces de *Globodera* (Fleming et Powers, 1998b). (d) : *Globodera pallida* et *Globodera rostochiensis*. *Globodera pallida* ; A/ larve du deuxième stade; B/ terminaison antérieure des juvéniles L₂; H/ terminaison antérieure du mâle. *Globodera rostochiensis* ; C/ larve du deuxième stade, D/ terminaison antérieure des juvéniles L₂, E/ mâle, F/ terminaison antérieure du mâle, G/ terminaison de la queue du mâle (Whitehead, 1998).

5.2. Identification biochimiques

Les méthodes d'analyses biochimiques ont permis de révéler l'activité des enzymes hydrolytiques et protéolytiques, ainsi que les exsudats des nématodes depuis plus de 30 ans. La technique la plus connue repose sur l'utilisation de l'électrophorèse des protéines et la focalisation isoélectrique (IEF). Elle est rapide et ne demande pas trop d'échantillons. Les protéines sont séparées par un gradient de pH. (Fleming et Powers, 1998b; Dyakov et Zinovyeva, 2007b).

De même, l'identification des *Globodera spp.* est fondée sur la caractérisation des lipides et l'hydrate de carbone (Subbotin et al., 1999).

Bien que cette méthode ait été utilisée largement et avec succès pour les diagnostics des nématodes à kystes de la pomme de terre, certains problèmes ont été rencontrés. Ceux-ci incluent l'incapacité de cette technique de résoudre les bandes de diagnostics de très faible viabilité de kystes de *Globodera*. De plus, les contaminations fongiques et bactériennes conduisent à une détection de protéines qui n'appartiennent pas à ces nématodes (Fleming et Powers, 1998b).

5.3. Identification immunologiques

Les distinctions des protéines des espèces peuvent être décelées par des méthodes immunologiques à partir de la technique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSubstrate Assay). Elle se fait également par la méthode de production de protéines monoclonales et polyclonales qui reconnaissent de multiples déterminants antigéniques dans les nématodes. Ceux-ci, peuvent être utilisées pour détecter l'homologie sérologique (Fleming et Powers, 1998b; Schots et al., 1992).

Les tentatives initiales de développement de cette dernière pour les diagnostics des nématodes visaient à injecter des nématodes ou des extraits de nématodes à des lapins, (Hussey, 1979). Cependant, le niveau de discrimination des espèces de nématodes et les pathotypes peuvent continuer à être médiocre (Fleming et Powers, 1998b).

5.4. Identification moléculaire

Ces méthodes conduisent aux variations génétiques existant au niveau de l'ADN (Fleming et Powers, 1998b). On distingue :

5.4.1. La PCR (Polymérase Chain Réaction ou Réaction de Polymérisation en Chaîne)

C'est une technique qui permet d'amplifier de manière exceptionnelle une région bien précise de l'ADN. L'extraction de l'ADN de l'organisme est une phase primordiale qui précède la PCR, l'ADN extrait doit être amplifié par la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) (Donn et al., 2008; Huybens, 2009; Tanaka et al., 2012). Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes: La dénaturation qui consiste à séparer les deux brins de l'ADN pour l'obtention de l'ADN matrice simple brin. En plus, le tube de réaction contient une polymérase à ADN (complexe enzymatique permettant la répllication de l'ADN), des désoxyribonucléotides (unité

de composition de l'ADN, DNTP, A-T-C-G) et du tampon. Ensuite l'hybridation et l'élongation dont des amorces (petit morceau d'ADN dont la séquence est complémentaire à l'extrémité 3' du fragment à amplifier) sont ajoutées (Glick et Pasternak, 1998; Nautiyal and Dion, 2008). La réaction de polymérisation en chaîne est réalisée dans un appareil (thermocycleur) qui permet des variations rapides de températures à des durées programmées (Bakker et *al.*, 1993; Fleming et power, 1998b). D'autres méthodes à PCR sont spécifiques pour ces espèces. Elles sont basées sur l'ADNr comme la PCR multiplex développée par Bulman et Marshall (1997), ou développée par les fragments de RAPD (Fullaondo et *al.*, 1999). De même, la PCR en temps réel (Real time PCR) est utilisée pour l'identification et la quantification de ces espèces (Reid et *al.*, 2015).

5.4.1.1. La PCR-ITS-ADNr (Internal transcribed spacer ou la région de l'espaceur transcrit interne de l'ADN ribosomique)

C'est une portion d'ADN située entre les gènes de la petite et de la grande sous unité de l'ARN ribosomique. C'est une région non codante, et hautement polymorphe. L'ADN ribosomique est formé d'une répétition de domaines NTS, ETS, ARN 18S, ITS1, ARN 5.8, ITS2 et ARN 28S, plus l'ARN 5S (Fleming et *al.*, 1993; Powers et *al.*, 1997; Szalanski et *al.*, 1997; Fleming et Powers, 1998; Skantar et *al.*, 2007). Les séquences de l'ITS ADN_r peuvent faciliter l'identification rapide de la plupart des espèces de nématodes à kystes. Elles sont utilisées également en relations phylogéniques (Subbotin et *al.*, 2000, 2001; Powers, 2004; Imren et *al.*, 2015). Cependant, la région ITS est moins conservée que les gènes ribosomiaux que les flanquent, ce qui permet la construction d'amorce PCR., et la détection de polymorphisme (Vrain et *al.*, 1992; Wendt et *al.*, 1993; Zijlstra et *al.*, 1995; Thiéry et Mugniéry, 1996; Veji et *al.*, 2002; Madani et *al.*, 2004).

5.4.1.2. La PCR *cytb* gene mtDNA (le gène *Cytochrome b* de l'ADN mitochondrial)

L'ADN mitochondrial est une petite partie d'ADN située dans les mitochondries, la plus grande partie d'ADN se trouve au niveau du noyau cellulaire. Il est fortement conservé, ce qui rend utile l'étude des relations phylogéniques des organismes. Le gène mitochondrial *Cytb* est un excellent marqueur pour l'étude des variations intra spécifiques. Il permet la détermination de l'origine de nouvelles populations de *Globodera pallida* (Picard et *al.*, 2007; Plantard et *al.*, 2008; Madani et *al.*, 2010).

5.4.1.3. La PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisme ou Polymorphisme de longueur des fragments de restriction)

Le marqueur RFLP ou polymorphisme de longueur des fragments de restriction repose sur la digestion enzymatique des ADN par des endonucléases de restrictions en des séquences courtes spécifiques. Les fragments obtenus sont ensuite séparés selon leur taille par électrophorèse (Orui, 1996 et 1998; Orui et Mezukubo, 1999; Takemoto et *al.*, 2005). Dans le

cas des nématodes à kystes de la pomme de terre, l'amplification par PCR des régions ITS1 et ITS2 de l'ADN ribosomique est combinée avec cette technique (PCR-RFLP) pour une meilleure identification des espèces (Thiéry et Mugniéry, 1996; Bulman et Marshall, 1997; Subbotin et al., 2000; Uehara, 2005).

En outre, la PCR-RFLP a certaines limites ; quelques enzymes sont rares et donc excessives, parfois la digestion des produits de PCR n'est que partielle, ou de petites différences entre les produits de digestion rendent l'analyse difficile (Toumi et al., 2013).

5.4.1.4. Electrophorèse d'acides nucléiques

Les fragments d'ADN peuvent être analysés et séparés suivant leur taille sur un gel d'agarose ou d'acrylamide. Le mélange contenant l'ADN coupé par des enzymes de restriction est déposé à l'extrémité d'un gel qui est ensuite soumis à un champ électrique. Le gel est alors observé sous une lampe à ultraviolet et la taille des fragments est déterminée par comparaison à un marqueur de taille. Il suffit ensuite de développer un film photographique ordinaire pour voir apparaître des signaux (bandes) noirs correspondant aux molécules radioactives (Tagu, 1999; Boujard et al., 2015).

5.4.1.5. Le Séquençage

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer la succession des nucléotides d'un fragment d'ADN donné. Cette technique a été utilisée par plusieurs auteurs pour l'étude de la variabilité génétique inter et intra spécifique chez les nématodes, ainsi que les relations phylogénétiques entre les différentes espèces y compris les nématodes à galles *Meloidogyne sp.*, les nématodes à kystes des céréales *Heterodera avenae* et de la pomme de terre *Globodera spp.* (Thiéry et Magniery, 1996; Griffiths et al., 2006; Madani et al., 2010; Subbotin et al., 2011; Naz et al., 2012; Baklawa et al., 2015).

6. La lutte contre *Globodera spp.*

Une fois que le nématode doré infeste le champ, il est pratiquement impossible de l'éradiquer parceque les capacités de survie de ses œufs enkystés dans le sol sont supérieures à vingt ans (Agrios, 2005). De ce fait, il est assez rare que l'emploi d'une seule méthode de lutte ait l'effet durable satisfaisant. C'est pourquoi il semble plus judicieux de combiner plusieurs méthodes culturale, biologique et chimique afin de réduire les dégâts occasionnés par ce parasite (Franco et al., 1998).

Les objectifs de la lutte contre les nématodes à kystes de la pomme de terre est de prévenir à court terme, les pertes significatives de production des tubercules et leurs qualités. A long terme, le but est de prévenir l'infestation élevée des sols à culture successives de pomme de terre (Whitehead et Turner, 1998).

6.1. Les mesures prophylactiques

La prophylaxie comprend l'ensemble des précautions à prendre pour éliminer toute source de contamination des zones indemnes et de limiter la multiplication du nématode (Turner and Evans, 1998).

Les nématodes à kystes de la pomme de terre sont inscrits parmi les parasites de quarantaines. La prévention commence par l'application des textes réglementaires et par le contrôle des végétaux aux frontières pour éviter l'introduction des plants ou de semences contaminées (Brodie, 1998a). De même, utiliser des plants sains et des semences certifiées, planter dans des parcelles indemnes, nettoyer le matériel de travail du sol, les chaussures et les roues des tracteurs avant et après l'utilisation (Hockland, 2010).

En Algérie, les mesures ont été introduites en 1961 afin de régulariser l'importation et le transport des plants et les produits végétaux qui sont capables de porter des nématodes à kystes de la pomme de terre. Les sols utilisés par les pépinières qui cultivent des légumes, ont été d'abord examinés par les services de la protection des végétaux (Spears, 1968 in Kleynhans, 1998).

6.2. La lutte curative

6.2.1. Les méthodes culturales

La conséquence des pratiques agricoles est la principale cause des dégâts dus aux nématodes. Parmi ces méthodes nous citons :

-La rotation des cultures : Elle a pour but d'introduire dans le système cultural des espèces non hôte. Elle permet la réduction de la population de nématodes chaque année d'environ 30% (Ritter, 1971 ; Whitehead, 1998). Le pourcentage de diminution des œufs chaque année varie entre 20% et 49% (Whitehead et Turner, 1998). De même, la réduction des œufs vivants à l'intérieur des kystes des *Globodera* devient significative après 6 ans de rotation en l'absence de la plante hôte (Hockland, 2010). Ces résultats sont soutenus par les travaux de Phillips et Trudgill (1998) et Whitehead et Turner (1998) qui confirment une stabilisation d'une densité initiale de 100 œufs/g de sol à 8 œufs/g de sol après 4 ans de rotations.

-Les cultures pièges : Elle se base sur l'utilisation d'une plantation de pomme de terre pour stimuler l'éclosion des nématodes et l'invasion des racines de pomme de terre. Les larves ne peuvent pas se nourrir sur les racines et les plantes sont détruites avant que les femelles ne soient fécondées (Trudgill et al., 1998). Mis à part la pomme de terre, la plante piège la plus utilisée est la morelle de Balbis *Solanum sisymbriifolium* (Scholt, 2000; Chauvin et al., 2008). Une étude récente a montré une réduction significative de 99% de la reproduction des *Globodera pallida* sur culture de pomme de terre après l'application de la morelle de Balbis *Solanum sisymbriifolium* (Dandurand et Knudsen, 2016). En France, une population de *Globodera pallida*

a été réduite de 80% par an grâce à la culture des plantes pièges, en particulier la pomme de terre cultivée (Mugniery et Balandras, 1984).

-Jachère et labour : La jachère empêche le développement des nématodes sans entrainer leur disparition complète du sol (Everts et *al.*, 2006). Les labours profonds permettent la diminution des populations de nématode par dessiccation pendant les périodes sèches (Harranger, 1971).

La lutte contre les nématodes en laissant des champs en jachère ou labourés est en relation avec la rotation des cultures. La dessiccation, la chaleur et l'absence de plantes-hôtes réduisent les populations de nématodes (Cayrol et *al.*, 1992).

En Bolivie, une densité de population de nématode à kystes de la pomme de terre a été réduite à 0.25 œufs/g du sol 10 ans après la dernière culture de pomme de terre, et aucun kyste n'a été détecté dans le sol après 15 ans. De même, une étude menée en Pérou a confirmé l'absence totale des kystes dans le sol 5 ans après la mise des sols en jachère (Franco et *al.*, 1998).

Selon Mugniéry et Philips (2007), la récolte de la culture de pomme de terre avant la maturité de la femelle peut entrainer une énorme diminution de la population des *Globodera*.

6.2.2. Les Méthodes physiques

Divers procédés physiques sont employés pour lutter contre les *Globodera spp*, parmi les plus utilisés, nous citons la solarisation du sol, appelée également chauffage solaire, recouvrement plastique, paillage plastique, pasteurisation des sols ou encore désinfection solaire (Jones, 1979 ; Siddiqui, 2005).

La plasticulture est une méthode écologique de désinfection des sols des agents pathogènes qui attaquent les plantes. Elle est appliquée dans plus de 50 pays principalement dans les régions chaudes et humides (Gill et *al.*, 2017). C'est une technique hydrothermique qui consiste à recouvrir le sol avec un film plastique transparent pendant les périodes d'intenses radiations solaires pour une durée de 4 à 8 semaines afin d'éliminer les agents pathogènes (Katan, 1987). L'efficacité de cette technique dépend de la nature, l'épaisseur et la couleur du film (Katan, 2000). Le mode d'action de cette technique est d'ordre physique, chimique et biologique (Stapleton, 2000; Siddiqui, 2005; Wang et *al.*, 2006; Kaskavalci, 2007).

Une diminution de plus de 95% des effectifs de *Meloidogyne incognita* sur plants d'olivier (*Olea europea*) en pépinière ont été rapportés par Castillo et *al.*, (2003). Ces mêmes auteurs affirment que le sol préalablement infesté par les œufs et les masses d'œufs du nématode est mis en solarisation à des températures allant de 31.7 °C à 47.4 °C pendant 3 semaines.

Selon Siddiqui (2005), la solarisation du sol aboutit à une réduction de 83% à 100% pour la population de *Heterodera sp.*, et de 95% pour *Globodera rostochiensis* sur fève (*Vicia fabae*).

Ces méthodes ne sont efficaces que lorsqu'elles sont utilisées en espaces restreints tels que les serres et les pépinières. De même, les coûts du plastique et de son installation font de la solarisation du sol une technique assez coûteuse (Cayrol et al., 1992).

6.2.3. La lutte génétique

Elle se caractérise par l'utilisation de cultivars sélectionnés résistants aux nématodes (Annexe 2). A l'heure actuelle, l'utilisation des variétés résistantes constitue une arme extrêmement importante contre ces nématodes que ce soit en terme d'efficacité économique ou du respect de l'environnement (Burrows et Jones, 1993; Hooper et Evans, 1993 ; Dale et De Scurrah, 1998). Les plantes définies comme résistantes sont celles dont l'expression des gènes réduit ou prévient le développement du nématode (Trudgill et al., 1998).

Plusieurs espèces de pomme de terre cultivée *Solanum tuberosum* ont été reconnues comme sources de résistance aux nématodes à kystes. Sur cette optique, il existe 135 cultivars résistants aux *Globodera rostochiensis*, et 22 aux *Globodera pallida*. Chacun de ces cultivars peut réduire l'infestation de sol en une saison à 80% et en trois ou quatre saisons à 99% (Whitehead, 1998; Whitehead et Turner, 1998).

Chez la plupart des espèces apparentées à *S.tuberosum*, différents gènes ont été développés, c'est le cas de gène H1 qui a montré une résistance spécifique à *Globodera rostochiensis* possédant cinq pathotypes Ro1 à Ro5 dont deux groupes de virulence Ro1-4 et Ro2-3-5 (Philips, 1994). Ce gène agit lorsque les juvéniles induisent le syncytium, une forte réaction nécrotique se produit. En conséquence, la larve de deuxième stade ne peut pas se développer, soit elle meurt ou elle devient un mâle (Mugniéry et Philips, 2007).

Cependant, pour *Globodera pallida* qui possède 5 pathotypes Ro1 à Ro5 dont deux groupes de virulence Ro1-4 et Ro2-3-5 est dominé par plusieurs gènes et la résistance est partielle. Vu le manque important des variétés résistantes essentielles pour son contrôle, il est nécessaire de développer d'autres facteurs génétiques impliqués dans la résistance à *Globodera pallida* (Fleming et Powers, 1998a).

Enfin, l'utilisation de ces variétés se heurte souvent à l'apparition des populations virulentes de nématodes qui arrivent à contourner la résistance qui peut limiter l'efficacité de ce moyen (Castagnone –Serenio, 2002).

6.2.4. Méthodes chimiques

Les moyens employés consistent à désinfecter les sols contaminés à l'aide de nématocides fumigants dont leur vapeur toxique sature l'atmosphère en remplissant les pores du sol et tuent les nématodes par asphyxie. L'emploi de ces fumigants est difficile. Ils nécessitent un appareillage assez complexe et sont utilisés avant la mise en place des cultures (Whitehead et Turner, 1998).

De plus, les sols sont traités par des nématocides systémiques qui sont représentés par les carbamates (Aldicarbe, Carbofuran) et les organophosphorés (Ethoprophos, Phenaniphos, Cadusaphos). Ce sont des traitements réalisés pour protéger les cultures en place. Ils agissent par ingestion et empêchent la pénétration des nématodes dans les plantes hôtes en inhibant la sécrétion de l'acétylcholinestérase. Ils ne nécessitent pas de matériels spécialisés et sont faciles à l'emploi (Eissa, 1971; Whitehead, 1998).

En Angleterre, la multiplication des *Globodera rostochiensis* dans 76 sols est réduite à 80% à une dose de 5.6 Kg d'oxamyl/ha, alors que la multiplication des *Globodera pallida* est réduite seulement à 42% (Whitehead et Turner, 1998).

En France, l'application de l'Ethoprophos avec deux années de cultures pièges conduit à une réduction moyenne de 98,5% de *Globodera pallida* (Mugniery et Balandras, 1984).

Les nématocides homologués en Algérie sont représentés en Annexe (3).

En effet, les produits fumigants polluent les nappes phréatiques et laissent des résidus dangereux pour les consommateurs. C'est ainsi que certains pays d'Europe (Suisse, Hollande, Allemagne) ont déjà interdit l'emploi de ces gaz nématocides (Djian-Caporalino, 1991).

Les nématocides systémiques à leurs tours empoisonnent la sève des plantes en laissant dans celles-ci des résidus extrêmement toxiques.

En conséquence, l'utilisation de ces produits phytosanitaires est remise en question du fait des problèmes qu'ils peuvent présenter au niveau sanitaire ou environnemental (Winslow et Willis, 1972). De ce fait, il est nécessaire de développer d'autres méthodes de lutte.

6.2.5. La lutte biologique

La lutte biologique contre les nématodes phytophages se manifeste par l'utilisation des microorganismes se trouvant en faible quantité dans les sols naturels. Cette approche vient pour éviter les conséquences dramatiques de l'utilisation abusive des produits phytosanitaires sur l'environnement et l'être humain. L'incorporation en quantités suffisantes de ces agents dans le sol favorise leur action spécifique contre les populations de nématodes. Les plus connus et les plus utilisés sont les champignons nématophages et les bactéries (Djian-Caporalino et Panchaud-Mattei, 2002).

***Les champignons nématophages**

Ils peuvent être prédateurs ou endoparasites. Parmi ces derniers les plus utilisés contre le genre *Globodera* sont:

Paecilomyces lilacinus: ce champignon hyphomycète détruit les œufs en pénétrant directement dans l'œuf du nématode après formation d'un appressoria. Cette infection est assurée par la production des leucotoxines, des chitinases et des protéases. Il est très efficace contre les genres *Globodera* et *Heterodera* (Kiewnick et Sikora, 2006a; Kiewnick et Sikora, 2006b; Chunlong et al., 2014).

Ce champignon (souche 251) a été commercialisé par la société BIO-AC Technologie et n'est adapté qu'aux conditions tropicales : températures élevées et pH acides (Richardson et Grewal; 1993; Djian-Caporalino et Panchaud-Mattei, 2002). Actuellement, il est utilisé comme un nématicide biologique sous le nom commercial de Melecon WG (water dispersible granule formulation) (Kiewnick et sikora, 2006b).

Pochonia chlamydosporia (= *Verticillium chlamydosporium*): Il présente une aptitude parasitaire limitée aux stades de l'embryogénèse. Il a une propriété importante qui réside dans l'aptitude de former de nombreux chlamydospores qui sont libérés dans les sols. Lorsqu'il se trouve en conditions favorables, il produit des protéinases ayant une activité nématicide contre les œufs et les femelles des nématodes à galles et à kystes (Kerry, 1988; O'flaherty et al., 2003; Mayer et al., 2004 ; Van Damme et al. 2005; Manzanilla et al., 2011).

Arthobotrytis irregularis et *Arthrobotrys dactyloides*: ces champignons prédateurs et Hyphomycètes piègent les juvéniles avant leur pénétration dans les racines suite à un processus de reconnaissance spécifique entre le champignon et le nématode. Ils se caractérisent par leur capacités à produire des organes de captures tels que les anneaux constricteurs, les boutons

adhésifs, les réseaux ou encore les spires. Ils doivent être appliqués avant le semis pour leur donner le temps nécessaire de coloniser le sol avant l'éclosion des larves (Cayrol et Frankowski, 1979; Mugniéry et Philips, 2007; Kumar et al., 2014).

Le peu de succès qu'a connu la lutte biologique est due essentiellement à la difficulté d'application de ces champignons, leur prix, et la diversité des résultats. Il réside également dans leur sensibilité commerciale, la méconnaissance de l'écologie de ces organismes et la réceptivité du sol qui reste très variable. De ce fait, peu d'applications sont disponibles. Celles qui existent ne sont utilisées qu'à des situations exceptionnelles (Verderjo –Lucas et al., 2003; Mugniéry et Philips; 2007).

***Les bactéries**

Plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique. Ces bactéries appartiennent essentiellement à trois grandes familles qui sont les *Bacillaceae*, les *Enterobacteriaceae*, et les *Pseudomonaceae* (Starnes et al., 1993).

Pasteuria penetrans est l'espèce qui a fait l'objet d'études de plus en plus poussées contre certains nématodes comme les *Meloidogyne*. Sa culture en milieu artificiel n'est pas encore possible à l'échelle industrielle. Son application pratique est limitée à des petites zones telles que les serres (Djian-Caporalino et Panchaud-Mattei, 2002; Davis et Williamson, 2006; Mugniéry et Philips; 2007).

D'autres rhizobactéries comme *Pseudomonas spp.* notamment *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens* peuvent diminuer les dommages causés par les *Meloidogyne* sur culture de tomate, et les *Globodera rostochiensis* sur culture de pomme de terre (Cronin et al., 1997; Siddiqui et Shaukat, 2004; Trifonova et al., 2014).

Reitz et al.,(2000) rapportent que la rhizobactérie *Rhizobium etli* souche G12 induit une résistance systémique aux racines de la pomme de terre infestée par les *Globodera pallida*. Cependant, la grande spécificité d'action de ces bactéries et leur efficacité dans des conditions climato-édaphiques bien définies présentent un obstacle pour son utilisation pratique. De même leurs applications pratiques à grande échelle ne sont pas encore envisageables.

De nos jours, l'agent biologique le plus prometteur est probablement la bactérie ou l'actinomycète *Bacillus spp.* avec ses différentes espèces : *Bacillus thuringiensis*, *B.cereus*, *B.sphaericus*, *B. anthracis*, *B.subtilis*, *B.pasterii*, *B.pumilus* (Crickmore et al., 1998; Kerry, 2000; Klopper et al., 2004; Mugniéry et Philips; 2007).

Bacillus sp. est un endoparasite obligatoire dont les spores disséminées dans le sol se fixent sur la cuticule des nématodes comme les *Globodera*, les *Pratylenchus* et aussi les *Meloidogyne* (Richardson et Grewal, 1993; Mugniéry et Philips; 2007).

Selon Siddiqui et al. (2000), les bactéries diminuent l'infection des nématodes soit en agissant comme concurrents pour l'espace ou l'habitat dans ou sur les racines, soit par la mort directe des nématodes par les métabolites nématotoxiques. La caractéristique la plus importante de cette bactérie se trouve dans sa capacité de produire des endospores dans des conditions défavorables (Kloepper et al., 2004).

Selon Bravo et al.(2011), *Bacillus thuringiensis* (BT) est une bactérie à gram⁺ qui produit des protéines insecticides (Cry et Cyt toxines) durant sa phase de sporulation pour tuer ses hôtes larvaires de certains insectes (Lépidoptères, Diptères et Coléoptères). De plus, cette bactérie s'est avérée très active contre les nématodes grâce à ses protéines cristallines (Wei et al., 2003).

Giannakou et al. (2004) affirme que l'application d'un bio-nématicide à base de la souche *Bacillus firmus* à une dose de 70 g /m² supprime significativement le nombre des juvéniles de *Meloidogyne spp.* à la fin de la saison de culture.

Enfin, cette bactérie ouvre de grands horizons sur l'utilisation d'une alternative naturelle pour une gestion efficace de ces nématodes.

*** Substances naturelles ou extraits végétaux et huiles essentielles**

Malgré la recherche de l'effet nématocide des engrais verts et des bio-fumigants contre les nématodes à kystes de la pomme de terre en soit à ses débuts, cela ne l'empêche pas de contribuer à un programme global de contrôle durable (Hockland, 2010).

D'après Kadioglu et Yanar (2004), les plantes sont capables de synthétiser plusieurs milliers de substances chimiques pour se protéger contre les maladies et les organismes nuisibles. Ces produits peuvent être exploités pour l'élaboration de biopesticides qui seront bénéfiques non seulement pour l'environnement, mais également pour la santé humaine.

Jusqu'à présent, plus de 200 espèces de plantes, appartenant à 80 familles différentes sont étudiées pour leurs propriétés nématocides (Cayrol et al., 1992). Elles sont utilisées comme engrais verts dans les assolements, ou sous forme de broyats, d'amendements incorporés au sol, ou bien comme huile essentielle. Ces végétaux peuvent agir de différentes manières, soit par effet nématostatique tels que : le sésame *Sesamum indicum* (*Pedaliaceae*) et le gombo *Abelmoschus esculentus* (*Malvaceae*) qui exsudent des amino-acides provoquant ainsi la

paralyse des larves de *Meloidogyne* (Djian- Caporalino et Panchaud-Mattei, 2002). Ou bien comme inhibiteur de l'éclosion des œufs comme l'éragrostide : *Eragrostis curvula* (*Poaceae*) qui a un effet ovicide sur les *Meloidogyne*, ou en empoisonnant les nématodes et provoquant la mort, c'est le cas du coriandre *Coriandrum sativum* (*Apiaceae*) (Djian-Caporalino et al., 2005).

De nombreux travaux ont montré l'efficacité des extraits de plusieurs plantes appartenant à plusieurs familles botaniques vis-à-vis des nématodes phytophages et particulièrement des *Meloidogyne* comme les *Asteraceae* (*Tagetes spp.*, *Artemisia spp.*), les *Zygophyllaceae* (*Peganum harmala*), les *Fabaceae* (*Crotalaria spp.*), les *Meliaceae* (*Melia azedarach*, *Azadirachta indica*), les *Lamiaceae* (*Origanum spp.*, *Ocimum basilicum*) (Wang et al., 2003; El Allagui et al., 2006; Sellami et Mezerket, 2006).

En plus de ces extraits, des études plus poussées ont permis l'identification des composés volatiles appelés huiles essentielles qui possèdent des activités pesticides vis-à-vis de nombreux bio-agresseurs. A cet effet, les travaux de Oka et al. (2000) signalent l'efficacité des huiles du Thym et de l'Origan qui inhibent l'éclosion de larves L₂ de deuxième stade de *Meloidogyne javanica* à une concentration de 1000 µl/L.

En effet, les plantes peuvent être toxiques et très riches en huiles essentielles. Cette dernière contient une dizaine de composés parmi lesquels les alcaloïdes, les diterpènes, les acides gras, les glycosinolates, les isothiocyanates, les phénols les sesquiterpènes et les thienyls (Gommers, 1981; Chitwood, 2002; Sellami et al., 2010a). Ces composés sont très connus pour leur activité nématocide.

En plus de l'effet nématocide, certaines huiles et extraits testés possèdent une activité insecticide (Khalfi et al., 2008), fongicide (Dwivedi et al., 2015), bactéricide (El haras et al., 2013), herbicide (Singh et al., 2005) et antioxydante (Khalighi-Sigaroodiet al., 2012).

Des études récentes citent l'activité nématocide des algues qui agissent d'une manière similaire que les plantes nématocides. Ainsi, la combinaison de trois algues bleues ou cyanophycées (*Anabena oryzae*, *Nostoc calciola*, *Spirulina spp.*) utilisées comme amendement organique possèdent un effet nématocide sur les *Meloidogyne incognita* (Stoll, 2002).

De même, des travaux de recherches ont permis l'isolement et la caractérisation de certains principes actifs, c'est le cas de la serpentine extraite de la pervanche de Madagascar efficace contre les *Meloidogyne*. Les glucosinates et leurs dérivés de la famille des Brassicacées interviennent également dans la réduction des nématodes (Djian-Caporalino et al., 2001; Lord et al., 2011).

6.2.6. La lutte intégrée

Selon Whitehead et Turner (1998), l'utilisation fréquente d'un nématicide non fumigant peut conduire à une dégradation plus rapide des *Globodera* dans le sol. Ces nématicides conduisent également à une sélection des *Globodera pallida* qui sont moins contrôlées que les *Globodera rostochiensis*. En effet, le contrôle intégré est facile à atteindre pour les *Globodera rostochiensis* que pour les *Globodera pallida*. Ces dernières déclinent plus lentement sous cultures non hôtes. De même, il ya peu de cultivars qui résistent d'une manière partielle à cette espèce. S'ajoute à cela, les nématicides granulaires qui ont montré une faible efficacité pour contrôler la multiplication des *Globodera pallida*.

De ce fait, la combinaison de différentes stratégies de lutte est généralement employée pour un contrôle durable des populations des nématodes et pour les maintenir à un niveau assez bas pour que les dégâts occasionnés soient économiquement tolérables (Whitehead, 1998). A cet égard, certaines recherches témoignent l'efficacité de l'association de quelques cultivars résistants et des nématicides fumigants et non fumigants à réduire les populations des deux espèces de *Globodera*, ce qui rendait leur contrôle intégré plus réussi (Phillips et Trudgill, 1998).

Néanmoins, des études récentes indiquent que l'amendement des sols déjà mis en jachère, par un champignon *Plectosphaerella cucumerina* entraîne une diminution de 64% de la population de *Globodera pallida* sur culture de pomme de terre (Dandurand et Knudsen, 2016).

De plus, Umamaheswari et al.,(2012) affirment que la combinaison de l'amendement organique de tourteau de neem avec le champignon *Trichodera virida* provoque une faible multiplication des *Globodera* dans le sol. De même, cette application enregistre une croissance significative de la pomme de terre, et une élévation considérable des rendements (18.44 t/ha).

Toutefois, le développement récent de nouvelles technologies comme les différentes techniques d'identification et d'évaluation des nématodes, les variétés résistantes et les agents biologiques antagonistes sont attendues pour améliorer la précision des diagnostics et surmonter les risques des problèmes potentiels. Ils ont donné ainsi une stratégie de contrôle plus efficace des nématodes (Agrios, 2005).

C'est dans ce contexte que nous nous sommes focalisés dans notre étude sur l'échantillonnage et l'identification de différentes populations des nématodes à kystes de la pomme de terre *Globodera spp.* en provenance de différentes régions de l'Algérie.

CHAPITRE II

PRÉSENTATION DES SITES D'ÉXPERIMENTATION

Deuxième Partie : Partie expérimentale

Chapitre II : Présentation des sites d'expérimentation

Objectif

L'objectif de notre travail consiste à étudier la distribution, la prévalence, le degré d'infestation et la densité des *Globodera spp.* dans la wilaya d'Alger, de Ain Defla, de Blida, de Bouira, de Boumerdès, de Chlef, de Skikda, de Tipaza, de Tlemcen, de Béchar et d'El Oued (Oued Souf). Il est suivi d'une identification moléculaire des espèces inféodées à la culture de la pomme de terre. Les caractéristiques de chaque région sont énoncées dans les paragraphes suivants.

1. Les caractéristiques des régions d'étude

1.1. La wilaya d'Alger

Elle est limitée géographiquement au nord par la Mer méditerranéenne, la wilaya de Blida au sud, la wilaya de Boumerdès à l'est, et enfin par la wilaya de Tipaza à l'ouest. Notre étude a été menée dans les régions de **Zeralda**, **Staoueli**, **H'rawa** et **Rouiba** (Figure 5). La capitale de l'Algérie se caractérise par un climat méditerranéen où les étés sont chauds et secs et les hivers sont doux et pluvieux et parfois enneigés. Les températures hivernales varient entre 12.3° et 24.8° avec une moyenne de 33°C en juillet. La wilaya d'Alger reçoit des quantités annuelles de précipitations variant en moyenne entre 600 et 800 mm, le mois de Décembre est le mois le plus arrosé, alors que le mois le plus sec est celui d'Août (Office National de Météorologie, 2017). Le total des terres (surfaces des terres agricoles utilisées SAU) dans la wilaya d'Alger est de 37 209 hectares pour une superficie totale de la wilaya de 80 922 hectares. Les principales productions végétales sont les agrumes, les fruits, les oliviers, les céréales, le maraichage, la tomate industrielle et la pomme de terre. Cette dernière s'étend sur une superficie de 1 944 ha, la production est de 733 325 qx avec un rendement de 377.2 qx/ha (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

II. Présentation des sites d'expérimentation

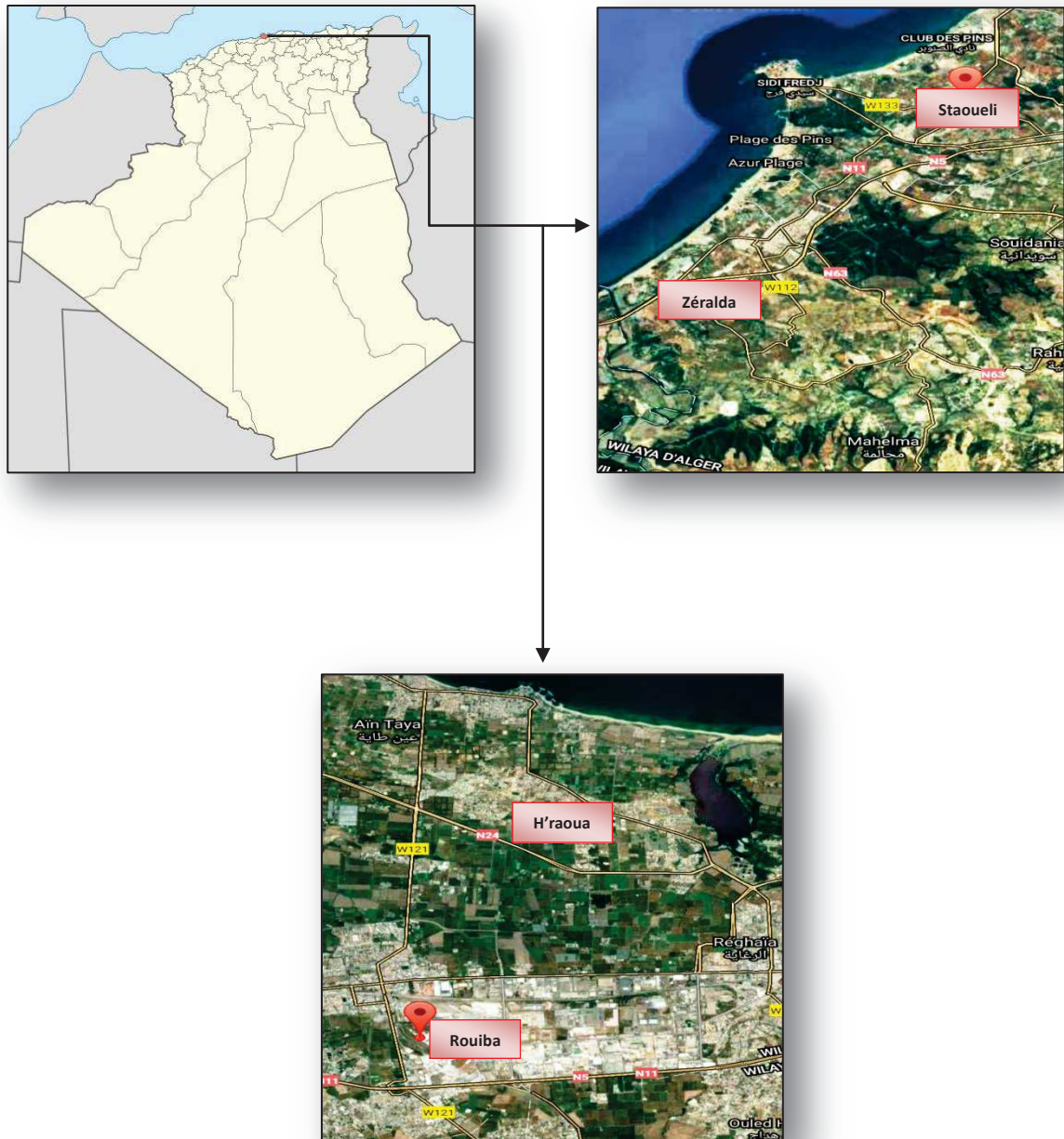


Figure 5 : Régions étudiées au niveau de la wilaya d'Alger

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.2. La wilaya de Boumerdès

C'est une wilaya côtière du centre du pays avec 100 km de profile littoral. Elle est située dans le nord du pays à 45 km à l'est de la capitale Alger et à 52 km à l'ouest de Tizi-Ouzou. Elle est limitée géographiquement au nord par la Méditerranée, la wilaya de Bouira au sud, la wilaya de Tizi Ouzou à l'est, et enfin par les wilayas d'Alger et de Blida à l'ouest (Figure 6). Notre étude a été menée dans les régions de **Cap Janet**, **Mandoura**, et **Legata**. Cette wilaya est caractérisée par un climat méditerranéen à hivers froids et humides, et étés chauds et secs. La Wilaya est considérée parmi les régions les plus arrosées au niveau national. La pluviométrie est irrégulière et varie entre 500 et 1300 mm/an, alors que les amplitudes thermiques annuelles sont en générale faibles caractérisées par une période chaude qui s'étale de Juin à Septembre. Les températures moyennes sont de 18°C dont Juillet est le mois le plus chaud avec 32,7°C, tandis que le mois de Janvier est le plus froid avec 6,6°C (Office National de Météorologie, 2014). La wilaya dispose d'une forte potentialité agricole qui s'étend sur une superficie totale de 99 592 ha soit 68% de la superficie totale de la wilaya qui est occupée par les Céréales, les fourrages, l'arboriculture et le maraichage, en particulier ; la pomme de terre. Cette dernière s'étale sur une superficie de 3 812 ha avec une production de 1 157 115 qx pour un rendement de 303.5 qx/ha (Agence Nationale de développement de l'Investissement, 2013 ; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

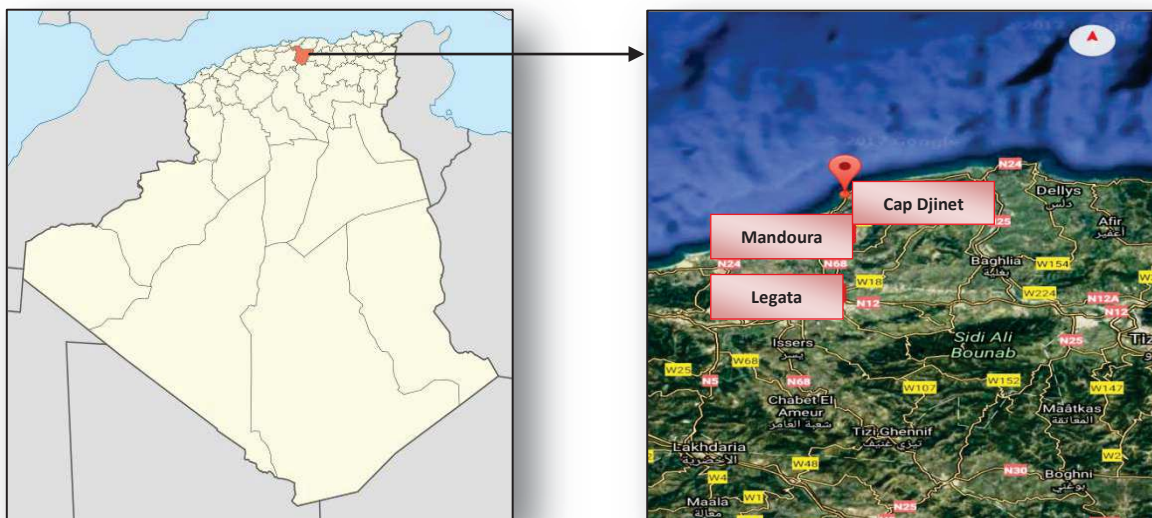


Figure 6 : Régions étudiées au niveau de la wilaya de Boumerdès

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.3. La wilaya de Bouira

Cette région est limitée au nord et au nord-est par les wilayas de Tizi-Ouzou, Bejaia et la chaîne montagneuse du Djurdjura, au sud-est par la chaîne montagneuse des Bibans et la wilaya de Bordj Bou Arreridj, au sud-ouest par les montagnes de Dirah et la wilaya de M'Sila, et enfin à l'ouest par les wilayas de Médéa et de Blida (Figure 7). Notre étude a été menée dans la région de **Ain Bessam**. La wilaya de Bouira est caractérisée par un climat continental, froid et pluvieux en hiver, chaud et sec en été. Les précipitations sont faibles et irrégulières de l'ordre de 450 à 500 mm/an. Le mois de Décembre est le mois le plus pluvieux avec une pluviométrie moyenne de 148 mm, tandis que le mois de Juillet s'avère le plus sec avec une pluviométrie de 2 mm. La température annuelle moyenne de cette Wilaya est de 18°C, la minimale est de 5.3°C enregistrée au cours du mois de Décembre, alors que la température maximale (35.7°C) est celle du mois d'Août (Office Nationale de Météorologie, 2015). La wilaya de Bouira est connue par sa vocation principalement agricole ; la superficie Agricole Utile (SAU) est estimée à 190 060 ha (42.67% de la superficie de la wilaya) qui est à prédominance céréalière, oléicole et maraichères spécialement au périmètre de M'cheddallah et les aribs (Ain Bessem). La superficie occupée par la pomme de terre est évaluée à 5 522 ha, avec une production de 1 760 499 qx pour un rendement de 318.8 qx/ha (Agence National de Développement de l'Investissement, 2013; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

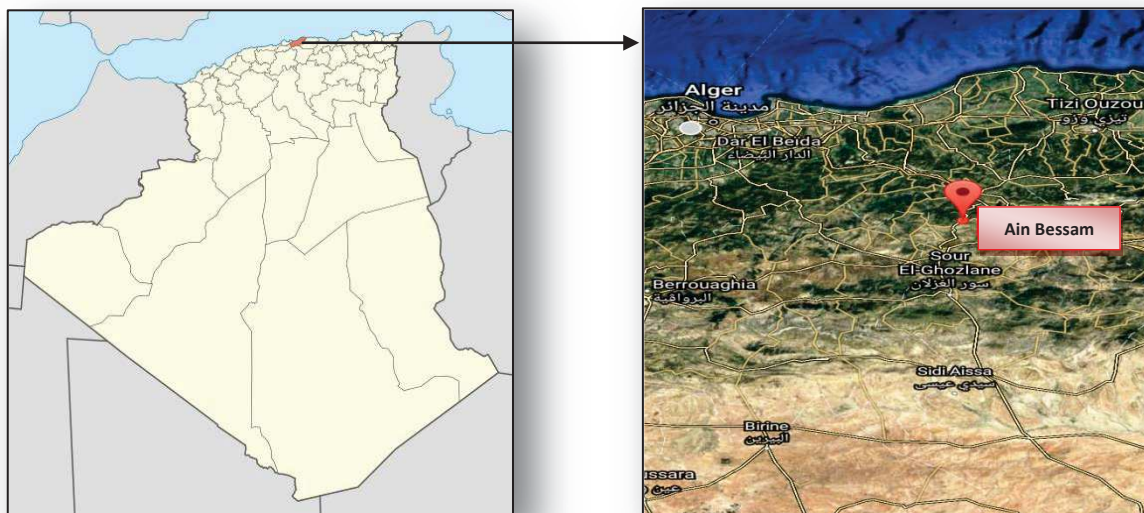


Figure 7: Région étudiée au niveau de la wilaya de Bouira

<http://www.maps.google.dz>

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.4. La wilaya de Blida

Elle se trouve au nord du pays dans le Tell central au contact de l'Atlas Blidéen et de la Mitidja. Elle est délimitée au nord par les wilayas d'Alger et de Tipaza, à l'est par les wilayas de Boumerdès et de Bouira et au sud par les wilayas de Médéa et de Ain Defla. Notre étude a été menée dans les régions de **Mouzaia, El Affroun, Meftah1, Meftah2, et Mefteh3** (Figure 8). La ville des roses est dotée d'un climat méditerranéen propice à l'agriculture. La pluviométrie est généralement plus importante dans les montagnes que dans la plaine. Les précipitations sont trop fortes en mois de Décembre, Janvier, et Février. Quant aux températures annuelles moyennes, elles varient entre 15°C et 21° C. Le mois le plus chaud est celui d'Août (29°C), alors que le mois le plus froid est celui de Janvier (9°C) (Office National de Météorologie, 2014). Cette wilaya est reconnue par sa vocation purement agricole avec une Superficie Agricole Totale (SAT) qui s'élève à 67 700 ha, et une superficie agricole utile (SAU) qui atteint 56 474 ha, ce qui représente 83.42% de la SAT. Elle se compose principalement de la plaine de la Mitidja où on y trouve des agrumes, des arbres fruitiers, des cultures fourragères, de la céréaliculture, des cultures maraichères, de la viticulture, des cultures industrielles et de l'apiculture. Notons que la zone de l'Atlas Blidéen et le piémont sont caractérisées pas des conditions favorables au développement agricole. La culture de la pomme de terre s'étend sur une superficie de 836 ha, la production est de 492 800 qx et le rendement est de 589,5 qx/ha (Agence Nationale de Développement de l'Investissement, 2013 ; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

II. Présentation des sites d'expérimentation



Figure 8: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Blida

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.5. La wilaya de Tipaza

Elle est située au Nord du Tell central à 68 km de l'Ouest de la capitale Alger. Elle est limitée géographiquement par la mer Méditerranée au nord, la wilaya d'Alger à l'est, la wilaya de Blida au sud-est, la wilaya d'Ain Defla au sud et la wilaya de Chlef à l'ouest (Figure 9). La présence de la mer, des reliefs du Chenoua et du Dahra donnent un paysage particulier d'intérêt agricole et touristique en même temps. Notre étude a été menée dans les régions de **Hajout**, **Bourkika**, **Bousmail**, et **Douaouda**. Les précipitations moyennes enregistrées font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle de 600 mm, la température varie entre 33°C pour les mois chauds de l'été (juillet et Aout) à 5.7°C pour les mois les plus froids de l'hiver (Janvier et Février) (Agence Nationale de développement de l'Investissement, 2013 ; Office National de Météorologie, 2014). La surface agricole utile (SAU) est de 64 772 ha sur un potentiel de 72 929 ha. On distingue trois grandes zones agro-climatiques : le Sahel dont la vocation est maraichère, la Mitidja qui constitue le berceau d'une agriculture intensive, et la zone montagneuse qui est constituée par les monts de Dahra, le Zaccar et celui de Chenoua favorables à l'arboriculture rustique, ainsi qu'à l'élevage. Le maraichage présente 14 623 ha soit 22.6% de la surface agricole utile. La culture de la pomme de terre s'étend sur une superficie de 3 971 ha, la production est de 1 035 470 qx et le rendement est de 260.8 qx/ha (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

II. Présentation des sites d'expérimentation



Figure 9: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Tipaza
(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.6. La wilaya de Ain Defla

Elle est située au nord de l'Algérie à 145 Km au sud-ouest de la capitale du pays. Elle est limitée par les wilayas de Tipaza au nord, de Chlef à l'ouest, de Médéa et Blida au nord-est et de Tissemsilt au sud (Figure 10). Notre étude a été menée dans les communes de **M'khatria**, **Beni Neghlène**, et **Khemis Miliana**. Le territoire de la wilaya est modelé selon sa configuration géographique avec les Monts du Dahra-Zaccar, les Monts de l'Ouarsenis et la plaine de Cheliff. Cette région se caractérise par un climat méditerranéen semi-aride avec un caractère de continentalité marqué par des écarts de températures entre les mois de Janvier et Août. Un hiver froid et des gelées fréquentes allant du mois de Novembre au mois de Mai ; période durant laquelle elle reçoit une pluviométrie de l'ordre de 500 à 600 mm/an. La texture de ses sols varient entre les sols limono-argileux, argilo-limoneux et sablo-limoneux (Agence national de l'Investissement, 2013; Direction des Services Agricoles, 2014). Elle recouvre une superficie agricole totale (SAT) de 235 611 ha soit 51.8% de la superficie totale de la wilaya et une superficie agricole utile (SAU) de 181 676 ha soit 77.1% de la SAT où les cultures maraichères présentent une zone importante de production de la pomme de terre (Agence national de Développement de l'Investissement, 2013). Cette dernière s'étend sur une superficie de 24 525 ha, une production de 7 290 260 qx pour un rendement de 297.3 qx/ha (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

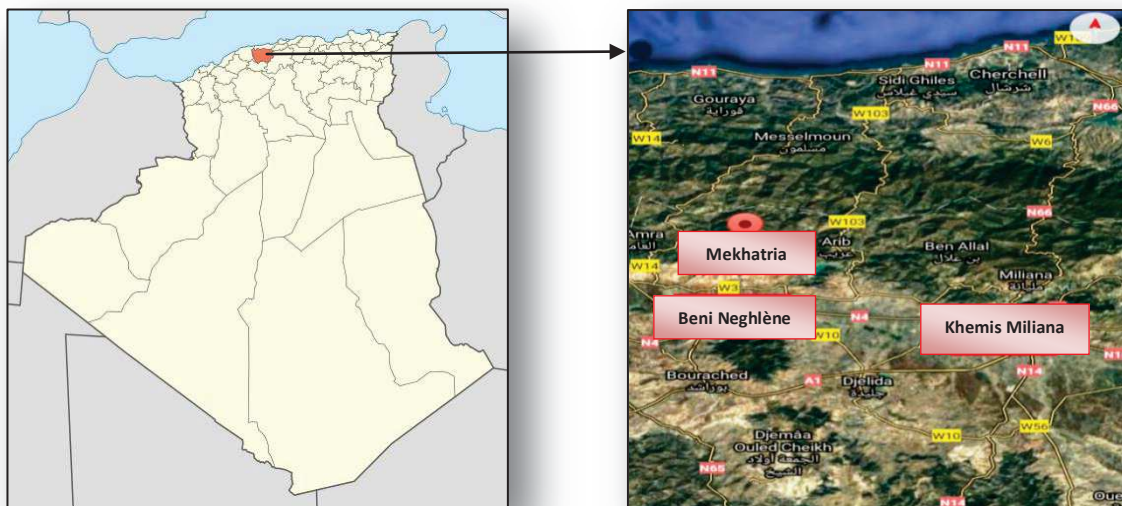


Figure 10: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Ain Defla

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.7. La wilaya de Chlef

Elle est située dans le Tell occidental à 200 km à l'ouest d'Alger à mi-distance entre Alger et Oran. Elle est limitée géographiquement au nord par la Mer méditerranée, la wilaya de Tissemsilt au sud, les wilayas de Ain Defla et de Tipaza à l'est et enfin par les wilayas de Mostaganem et de Relizane à l'ouest (Figure 11). La wilaya de Chlef est formée par quatre ensembles géographiques, une côte Méditerranéenne s'étendant sur 120 km, la chaîne de Dahra au nord, les monts de l'Ouarsenis au sud et la vallée du Chélif entre les deux ensembles montagneux. Notre étude a été menée dans les régions de **Oued Fodda** et de **Oum Drou**. Cette région est caractérisée par un climat méditerranéen sub-humide dans la partie du nord et un climat continental au sud, froid en hiver et chaud en été. C'est l'une des régions les plus chaudes d'Algérie. La pluviosité est marquée par une grande variabilité, le cumul annuel est de 404.85 mm. La température moyenne annuelle de cette wilaya est de l'ordre de 20.5°C. Le mois le plus chaud est celui de Juillet avec une moyenne de 44.8°C. Tandis que le mois le plus froid correspond à celui de Janvier avec une moyenne de 1 °C, ce qui entraîne une durée de période sèche de six mois et dix jours. De plus, le type du sol de cette région est argilo-limoneux (Agence de Bassin Hydrographique Cheliff-zahrez, 2003 ; Office National de Météorologie, 2017). La surface agricole utile (SAU) est de l'ordre de 203.230 ha soit 77% de la superficie de terre agricole totale (SAT) cultivée en céréales, légumes secs, agrumes, et aux cultures maraichères. La culture de la pomme de terre s'étend sur une superficie de 4 601 ha, la production est de 1 827 260 qx et le rendement est de 397.1 qx/ha. Elle contient un massif forestier formé particulièrement par le chêne liège et le chêne vert (Direction des Services Agricoles, 2008; Agence National de Développement de l'Investissement, 2008 et 2013; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

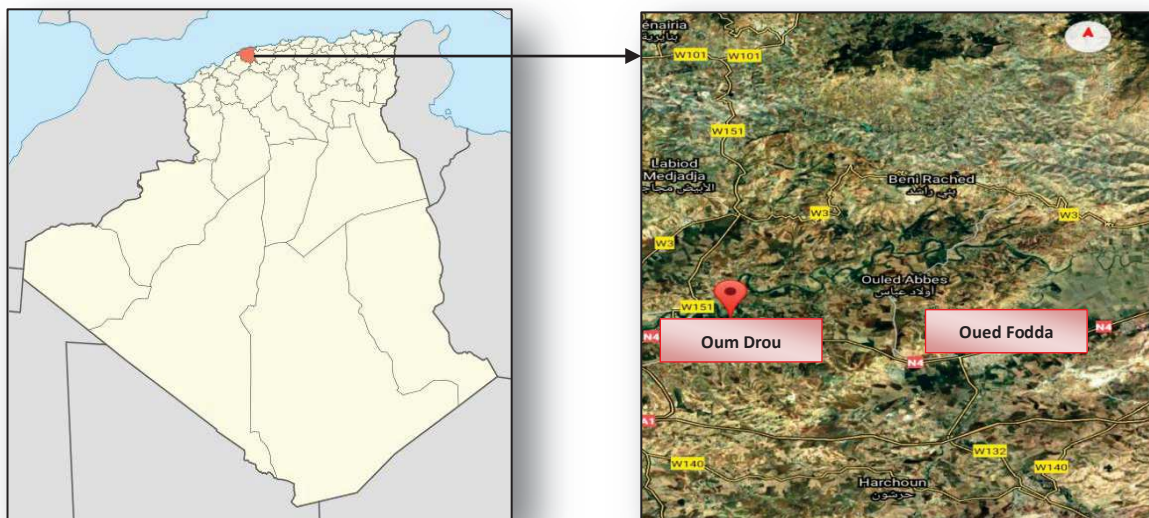


Figure 11: Régions étudiées au niveau de la wilaya de Chlef

<http://www.maps.google.dz>

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.8. La wilaya de Tlemcen

La wilaya de Tlemcen est située sur le littoral nord-ouest du pays et occupe l'Oranie occidentale. Elle est limitée par la Mer Méditerranée au nord, la wilaya de Ain T'émouchent à l'est, la wilaya de Sidi Bel Abbes à l'est-sud- Est, la wilaya de Saida au sud, et le Maroc à l'ouest (Figure 12). Notre étude a été menée dans la commune de **Sabra**. Son climat méditerranéen repose sur l'opposition entre un hiver océanique où la wilaya est ouverte aux dépressions maritimes et un état désertique qui provoque la remontée d'une chaleur persistante durant toute la saison. Cette région reçoit une pluviométrie de l'ordre de 251.20 mm /an. La température moyenne annuelle est de 18.5°C. La période sèche est de 7 mois (d'Avril à Octobre). Le mois le plus chaud est celui de Juillet avec une moyenne de l'ordre de 42.9°C. Cependant le mois le plus froid correspond à celui de Janvier avec une moyenne de 0°C (Office Nationale de Météorologie, 2017). Tlemcen est une wilaya agricole par excellence ; elle s'étend sur une superficie agricole totale (SAT) de 537 274 ha dont la surface agricole utile (SAU) est de 350 285 ha soit 65.20% de la superficie agricole totale consacrée à la production céréalière, le maraichage, la production viticole, les agrumes, les fourrages et la production de la pomme de terre. Cette dernière s'étend sur une superficie de 6 196 ha, la production est de 1 775 100 qx, alors que le rendement est de 286,5 qx/ha (Agence National de Développement de l'Investissement, 2013; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014 ; Direction des Services Agricoles, 2016).

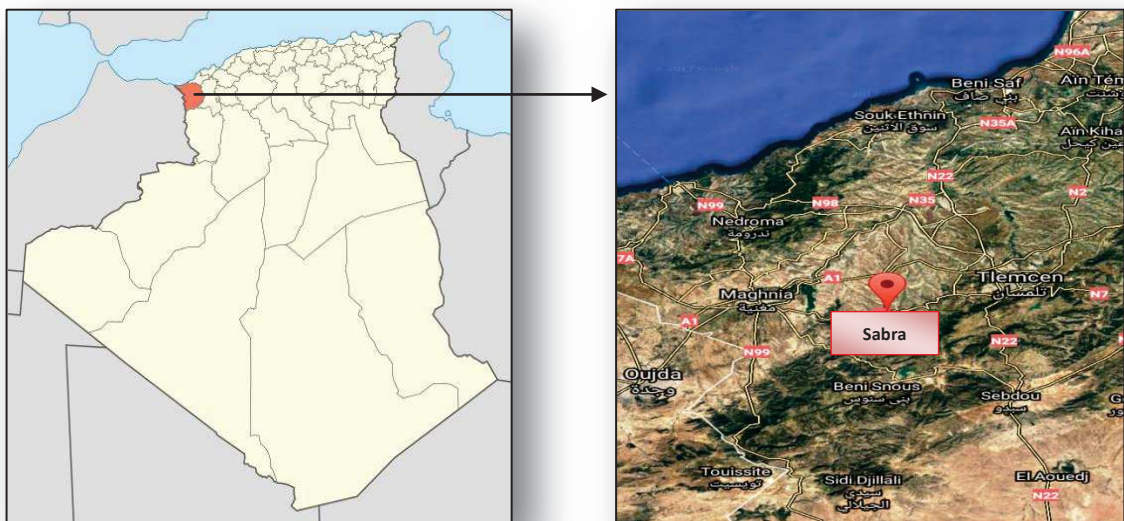


Figure 12: Région étudiée au niveau de la wilaya de Tlemcen

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.9. La wilaya de Skikda

Elle est située au nord-est du pays, dans le nord Constantinois sur sa façade maritime. Elle est limitée par la mer Méditerranée au nord, les wilayas de Constantine, de Mila et de Guelma au sud, la wilaya de Jijel à l'ouest, et la wilaya d'Annaba à l'est. Notre étude a été menée dans la commune d'**El Harrouche** (Figure13). Cette wilaya représente la zone la plus humide de l'Algérie, après le Djebel Babor. Elle appartient aux domaines bioclimatiques humides et subhumides, le climat est à variante douce et tempérée au niveau du littoral et froid à l'intérieur. Les précipitations enregistrées font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle comprise entre 1000 et 1500 mm/an, la température moyenne annuelle est de 20.4°C. Le mois le plus chaud est celui de Juillet, avec une moyenne de l'ordre de 29 °C. Cependant le mois le plus froid correspond à celui de Janvier avec une moyenne de 11.1°C (Agence nationale de Développement de l'Investissement, 2013; Office Nationale de Météorologie, 2017). La superficie agricole totale (SAT) s'élève à 193 179 ha dont 131 879 de superficie agricole utile (SAU) consacrée aux cultures herbacées, à l'arboriculture, au vignoble et aux cultures maraichères (Agence Nationale de Développement de l'investissement, 2014). La culture de la pomme de terre dans la wilaya de Skikda s'étend sur une superficie de 5 085 ha, et une production de 1 176 798 qx avec un rendement de 231,4 qx/ha (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014).

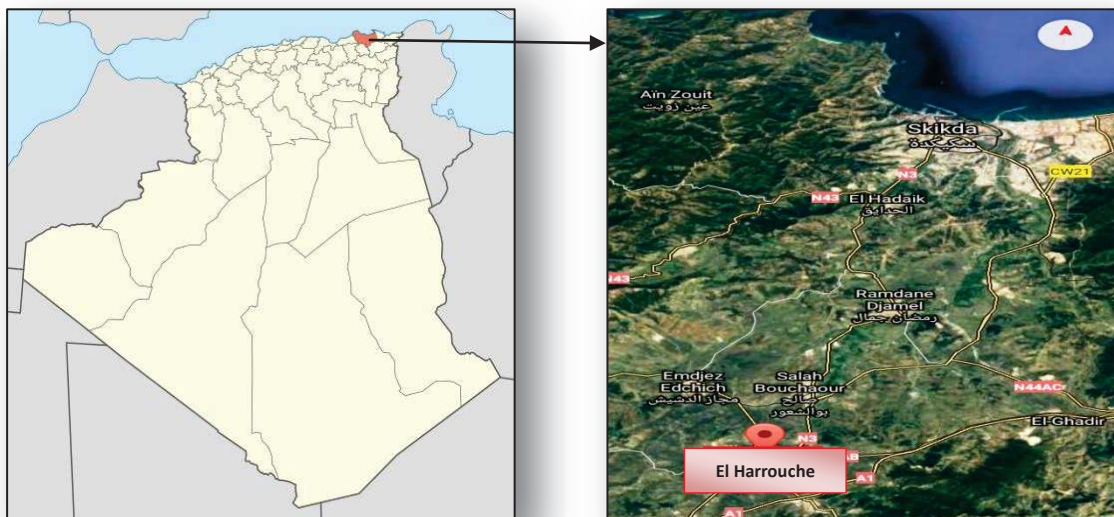


Figure 13: Région étudiée au niveau de la wilaya de Skikda

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.10. La wilaya de Béchar

Elle est considérée comme la plus grande wilaya du Sud –ouest algérien, située dans l'ouest du Sahara Algérien. Elle correspond à une partie de l'ancien département de la Saoura. La wilaya de Béchar est limitée au nord par la wilaya de Naâma, l'est par la wilaya d'El Bayadh, au sud par les wilayas d'Adrar et de Tindouf, à l'ouest par le Maroc (Figure 14). Notre étude a été menée dans la commune **d'El Abadella**. La wilaya de Béchar est caractérisée par un climat de type désertique continental. Les précipitations moyennes annuelles enregistrées sont de 107.95 mm, alors que les températures moyennes annuelles sont de 22.5°C. Le mois de Juillet est le plus chaud avec 44.2°C, et le mois de Janvier s'avère le plus froid avec 0.6°C (Office National de Météorologie, 2017). Cette région dispose d'une superficie agricole totale estimée à environ 1.383.420 ha et une superficie agricole utile (SAU) estimée à 30 000 ha. Elle présente toutes les caractéristiques d'une agriculture saharienne. Elle est destinée à la production des céréales, des oliviers, des cultures maraichères particulièrement la culture de la pomme de terre avec une superficie qui varie de 149 ha et une production qui dépasse les 33 487 qx pour un rendement de 224.7 qx/ha (Agence National de Développement de l'Investissement, 2013; Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2014 ; Observatoire des Filières Agricoles et Agroalimentaires, 2014).

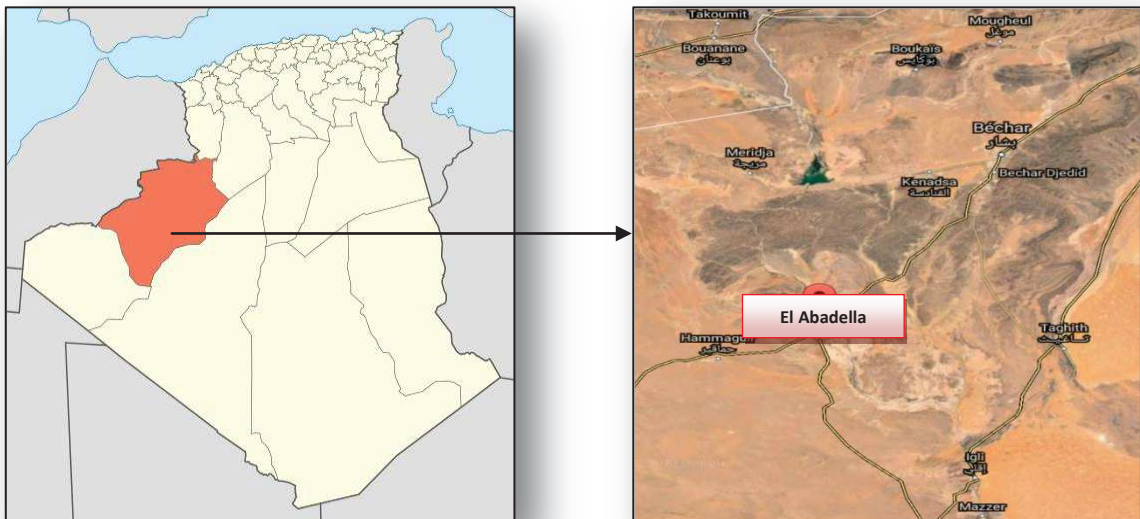


Figure 14 : Région étudiée au niveau de la wilaya de Béchar

(<http://www.maps.google.dz>)

II. Présentation des sites d'expérimentation

1.11. La wilaya d'El Oued

Elle est située au sud-est de l'Algérie et au nord-est du Sahara Algérien. Elle est délimitée au nord par les wilayas de Tebessa et de Khenchela, au nord et au nord-ouest par la wilaya de Biskra, au sud et au sud-est par la wilaya de Ouragla, à l'est par la Tunisie et à l'ouest par la wilaya de Djelfa (Figure 15). Le relief de cette wilaya comporte deux régions sableuses (région de Souf et de l'Erg), et une autre sous forme de plateaux rocheux qui est la région de Oued Righ. Notre étude a été menée dans la ville aux mille coupoles **Oued Souf**, mais plus spécialement dans les communes de **Trifaoui** (Trifaoui1 et Trifaoui2), et de **Hassi Khelifa** (Hassi khelifa1 et Hassi khelifa2). Cette région aride reçoit une pluviométrie de l'ordre de 50.04 mm/an (Office National de Météorologie, 2016). Elle est caractérisée par des températures annuelles moyennes de l'ordre de 23.3°C avec une moyenne annuelle maximale de 30.1°C et une minimale enregistrée de 16.4°C. La température varie entre 48°C pour le mois le plus chaud de l'été (juin) à 0.6°C pour les mois les plus froids (janvier) (Office National de Météorologie, 2017). La superficie agricole totale de cette région miraculeuse est de l'ordre de 1 591 869 ha, alors que la zone agricole exploitée est de 76.400 ha destinée à la production des graminacées, des fourrages, du tabac, des palmiers et des cultures de plein champ y compris la pomme de terre (Agence National de Développement de l'Investissement, 2013). La culture de ce légume est en surproduction dans la vallée de Souf. Elle assure 25% de la production nationale équivalent à 11 725 000 qx, la superficie consacrée à ce légume est l'ordre de 35 000 ha, alors que le rendement est de 335 qx/ha. Environ 4 millions de qx de la pomme de terre de cette wilaya est exportée vers huit pays du monde à savoir : les Emirats Arabes Unis, l'Arabie Saoudite, le Qatar, la Tunisie, la Russie, l'Espagne, l'Italie et la France (Agence National de Développement de l'Investissement, 2014 ; El bouyahiaoui, 2016).

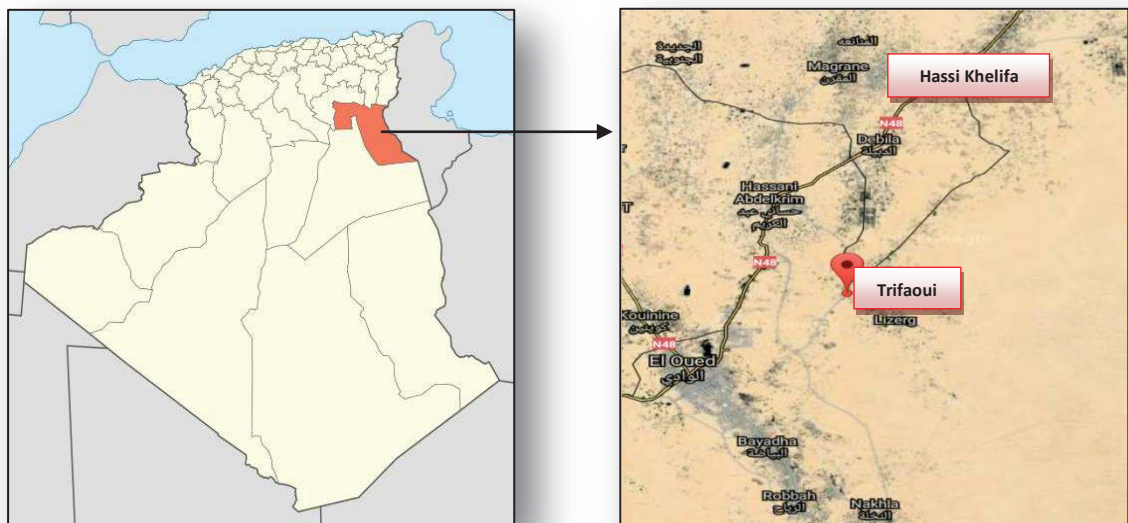


Figure 15: Régions étudiées au niveau de la wilaya d'El Oued

(<http://www.maps.google.dz>)

CHAPITRE III

PRÉVALENCE ET INFESTATION DES NÉMATODES A KYSTES DE LA POMME DE TERRE DANS QUELQUES WILAYAS DE L'ALGÉRIE

Chapitre III : Prévalence et infestation des nématodes à kystes de la pomme de terre du genre *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Objectifs de l'étude

L'objectif de cette étude est de mener une vaste enquête sur les *Globodera* dans les wilayas de production de pomme de terre en Algérie (Nord, Est, Ouest et Sud). Il permet également d'évaluer la prévalence, la distribution géographique, le degré d'infestation, et la diversité des nématodes à kystes de la pomme de terre dans chaque région. Ce travail est suivi par l'établissement d'une cartographie de la répartition de ces parasites dans toutes les zones étudiées. Les analyses nématologiques ont été effectuées aux laboratoires de la nématologie à l'ENSA, et à l'institut espagnol d'agriculture durable.

1. Matériels et Méthodes

1.1. Choix des sites

L'étude a été conduite dans 30 sites à travers 25 communes situées au centre, à l'est et à l'ouest, puis du nord au sud de l'Algérie. Elles sont de la wilaya d'Alger (Staoueli, Zeralda 1, Zeralda 2, H'rawa, et Rouiba), de Boumerdès (Cap Janet, Mandoura, et Lagata), de Blida (El Afroun, Mouzaia, Mefteh1, Mefteh2, et Mefteh3), de Tipaza (Hajout, Bourkika, Bousmail, et Douaouda), de Chlef (Oued Fodda, et Oum Drou), de Ain Defla (Mkhatria, Beni Neghlane, et Khemis Meliana), de Skikda (El Harrouche), de Tlemcen (Sabra), de Bouira (Ain Bessam), de Béchar (Abadella), et de EL Oued « Oued Souf » (Trifaoui 1, Trifaoui 2, Hassi Khelifa1, et Hassi Khelifa 2).

Le choix des sites est basé sur la distribution cardinale. De même, les communes étudiées sont à vocation pomme de terre et figurent parmi les régions les plus productrices de ce légume dans ces wilayas. Les données relatives aux sites prospectés sont synthétisées dans le tableau 2.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Tableau 2: Coordonnées géographiques des sites étudiés.

Wilayas d'étude	Régions	villes	Coordonnées géographiques	Latitude (m)	Longitude (m)	Altitude (m)
Alger	Li	Staoueli	36° 45' 5.943'' N 2° 53' 17,446'' E	36,7516507	2.888179	45
		Zeralda p1	36°41'40,613''N 2° 49' 40,066''E	36.694615	2.827796	30
		Zeralda p2	36°41'40,613''N 2° 49' 40,066''E	36.694615	2.827796	30
		H'Rawa	36°46' 6.297 N 3° 18' 31.24'' E	36,768416	3.308678	23
		Rouiba	36°43' 33.273''N 3°17''18,763'' E	36,725909	3.288546	22
Boumerdès	Li	Cap Jinet	36°52'40''N 3°43'14'' E	36.877778	3,720556	21
		Mandoura	36°49'0.001''N 3°40'0.001 ''E	36,816667	3,666667	38
		Lagata	36°46 '45,465''N 3°40' 20,873''E	36.779296	3.672465	91
Blida	Li	El affroun	36°26'25,789''N 2°36' 32,415''E	36,440497	2.609004	184
		Mouzaïa	36°28' 17,053''N 2° 40° 42,633'' E	36.471399	2.678509	104
		Meftah1	36°37'11.234''N 3°13'41.513'' E	36.619787	3.228198	101
		Meftah2	36°37'11.234''N 3°13'41.513'' E	36.619787	3.228198	101
		Meftah3	36°37'11.234''N 3°13'41.513'' E	36.619787	3.228198	101
Tipaza	Li	Hajout	36° 30'44.787''N 2°24'50,859''E	36.512441	2.414128	87
		Bourkika	36°29'9.094''N 2° 30' 35.609 ''E	36.485859	2.509891	94
		Bou ismaïl	36°38'17.517'' N 2°42'12,087'' E	36.638199	2.703358	0-118
		Douaouda	36°40''42.889''N 2°47'50.148'' E	36.67858	2.797263	71
Chlef	TA	Oued fodda	36°11'55.82''N 1° 32'59.715''E	36.198839	1.549921	151
		Oum Drou	36°12'1.832'' N 1°24'52.137''E	36.200509	1.414483	115
Ain defla	TA	Mkhatria	36°20'40.76''N 1°57'31.682''E	36.344656	1.958801	686
		Beni neghlane	36°16'41''N 1°57'28'' E	36.278056	1.957778	266
		KhemisMeliana	36°15'12.699''N 2°12'49.784''E	36.253527	2.213829	278
Skikda	Li	El harrouche	36°39'20.531''N 6°50'25.656''E	36.655703	6.84046	112
Tlemcen	TA	Sabra	34°49'40.893''N 1° 31'41.251''O	34.828026	-1.528125	811
Bouira	TA	Ain Bessam	36°24'0.858''N 3°43'23.521''E	36.400238	3.7232	531
Béchar	SA	Abadla	31°0'36.825''N 2°44'35.311''O	31.010229	-2.743142	780
El Oued (Oued Souf)	SA	Trifaoui1	33°25'10.753''N 6°56'8.426''E	33.419654	6.935674	71
		Trifaoui2	33°25'10.753''N 6°56'8.426''E	33.419654	6.935674	71
		Hassikhelifa 1	33° 33'36.455''N 6°59'26.59'' E	33.560126	6.99072	51
		Hassikhelifa 2	33° 33'36.455''N 6°59'26.59'' E	33.560126	6.99072	51

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

1.2. Analyse nématologique

L'analyse nématologique comprend plusieurs étapes : l'observation des symptômes d'attaque des nématodes (Figures 16 et 17), l'échantillonnage du sol, l'extraction des kystes, puis la récupération et le comptage des kystes, enfin l'estimation de la densité des nématodes. Cette analyse est accompagnée par une analyse physico-chimique du sol avec une identification moléculaire des nématodes.



Figure 16: Plages causées par les *Globodera* au champ (Original)



Figure 17: Symptômes aériens causés par les *Globodera* sur un plant de la pomme de terre (Original)

1.3. Échantillonnage du sol

Trente échantillons ont été collectés selon le modèle systématique basé sur la méthode de zigzag (Figure 18) (Coyne et *al.*, 2010) dans différentes régions de culture de la pomme de terre en Algérie durant la campagne 2013- 2016. Les échantillons sont prélevés à la fin ou après la récolte de la pomme de terre (Figures 19, 20 et 21) dans le Littoral, le Sub-littoral, l'Atlas tellien et le Sud du pays. Les sites sont localisés dans 11 wilayas à savoir : Alger, Blida, Tipaza, Boumerdès, Chlef, Ain Defla, Skikda, Tlemcen, Bouira, Béchar et El Oued. Chaque échantillon est obtenu à l'aide d'une binette ou tarière à une profondeur de 10-20 cm sur une parcelle d'environ un hectare. De nombreuses prises élémentaires sont effectuées et rassemblées en un seul échantillon global à raison de 6 kg par parcelle.

En effet, l'échantillonnage doit s'effectuer en plusieurs parties de la parcelle afin d'assurer une représentativité suffisante de la méthodologie appliquée. Si les surfaces sont grandes, il faut les diviser en parcelles élémentaires. Cette technique nous permet d'avoir des résultats

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

significatifs concernant l'état de distribution des nématodes à kystes dans une parcelle donnée. Les échantillons collectés sont placés par la suite dans des sachets en plastiques dans lesquels sont mentionnés la date du prélèvement, le lieu, le numéro de la parcelle, le précédent cultural et la variété de la pomme de terre. Au laboratoire de nématologie (ENSA), chaque échantillon est séché à l'air libre puis divisé en 12 sous échantillons de 500g (Figures 22, 23, 24, 25), puis conservé au réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'extraction des nématodes.

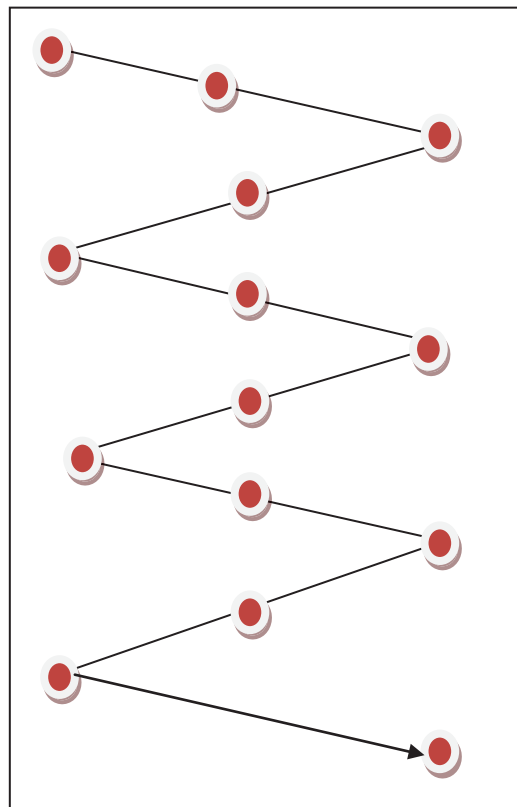



Figure 18: Méthode d'échantillonnage en Zigzag appliquée au niveau des parcelles prospectées (Coyne et *al.*, 2010).

 = Prise élémentaire

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie



Figure 19: Parcelle de la pomme de terre en fin de culture (Original)



Figure 20: Parcelle de la pomme de terre à la fin de la récolte (Original)



Figure 21: Parcelle de la pomme de terre après la récolte (Original)



Figure 22: Sachets en plastiques étiquetées contenant du sol (Original)



Figure 23: Séchage du sol à l'air libre (Original)



Figure 24: Pesée du sol séché (Original)



Figure 25: Sous échantillons contenant 500 g de sol (Original)

1.4. Extraction des nématodes et comptage

1.4.1. Extraction des nématodes

Les kystes sont extraits du sol à l'aide de l'appareil de Fenwick (Fenwick, 1940) dont le principe est basé sur la densité du kyste par rapport à celle de l'eau (la flottation des kystes) (Figure 26). La densité des kystes pleins et humides de *Globodera* est supérieure à 1.08 et inférieure à 1.18. Les échantillons nécessitent un séchage au préalable du sol contenant les kystes (Nakachia et Jacquemont, 1971). Après homogénéisation de l'échantillon global du sol, 500 g de sol sont séchés à l'air libre puis versés dans une passoire de 1 mm de maille. Les particules de sol seront entraînées par un jet d'eau dans le corps de l'appareil. La passoire retient les gros éléments alors que les kystes et les particules fines sont entraînés dans le récipient où ils flottent et débordent à travers la gouttière de l'appareil dans un tamis de 250 μm (Figures 27, 28).

Le refus du tamis sera récupéré grâce à un jet d'eau d'une pissette sur un papier filtre tapissant un entonnoir porté par un erlenmeyer pour égoutter et sécher à l'air libre pendant 48 h environ (Figures 29, 30, 31).



Figure 26: Composition de l'appareil de Fenwick (Original)



Figure 27: Extraction des *Globodera* à partir du sol (Original)



Figure 28: Refus du tamis (Original)



Figure 29: Récupération du refus sur un papier filtre (Original)



Figure 30: Papier filtre contenant la matière organique et les kystes (Original)



Figure 31: Séchage du refus à l'air libre (Original)

1.4.2. Récupération des kystes et comptage

1.4.2.1. Récupération des kystes

Une fois séché, le papier filtre contenant les kystes est conservé dans une boîte de Pétri. Les kystes sont séparés des débris du sol et de la matière organique, puis récupérés avec un pinceau ou une épingle sous loupe binoculaire (Figure 32). Les kystes obtenus sont mis par la suite dans une boîte de Pétri tapissée de papier filtre et qui porte une étiquette portant l'origine des kystes (région), la date de l'extraction et le jour de leur récupération.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

1.4.2.2. Comptage des kystes vides et pleins

Les kystes sont ensuite triés en kystes vides et kystes pleins puis comptés. Les kystes pleins ont un aspect turgescent avec une couleur varie entre le marron foncé à claire, alors que les kystes vides ont une couleur claire, transparente qui indique l'absence d'œufs avec un aspect ridé de la cuticule (Figures 33, 34, 35 et 36). De même, nous pouvons procéder à l'écrasement des kystes afin de s'assurer si les kystes sont pleins ou vides (Figures 37 et 38). Les kystes remplis d'œufs et les larves de deuxième stade L2 sont sélectionnés et conservés à sec à 4°C dans des tubes étiquetés pour l'identification moléculaire.



Figure 32: Récupération des kystes de *Globodera* spp. sous une loupe binoculaire (Original)



Figure 33: Aspect d'un kyste plein de *Globodera* spp. (G: 6.3x 6x 10) (Original)



Figure 34: Aspect d'un kyste vide de *Globodera* spp. (G: 6.3x 6x 10) (Original)



Figure 35: Boîtes de Pétri contenant les kystes vides et pleins de *Globodera* spp. (Original)

KV : Kystes vides ; KP : Kystes pleins



Figure 36: Boîtes de Pétri de différentes parcelles à kystes vides et pleins (Original)

1.4.2.3. Dénombrement des œufs et des larves L₂

A l'aide d'une pipette en plastique, on prend 10 kystes pleins de chaque tube correspondant à chaque région étudiée. Les œufs et les juvéniles sont libérés à partir des kystes en utilisant un homogénéisateur du tissu (Figure 39) composé d'un pilon de verre et d'un tube homogénéisateur. Par la suite, on met le contenu dépourvu des cuticules des kystes dans une boîte en plastique, puis nous ajoutons de l'eau distillée jusqu'à atteindre 100 ml de volume. Avec une nouvelle pipette, on prend 1 ml de ce contenu et on le dépose dans une lame à comptage de Peter à 1 ml (Peter's 1 ml counting slide) (Figure 40). Le dénombrement des œufs et des larves se fait sous loupe binoculaire avec un compteur à main (Figure 41).

Cette opération nous permet de connaître le nombre des larves et des œufs dans un ml de la solution diluée. Donc le nombre total est compté pour 100 ml de la solution diluée qui correspond à 10 kystes écrasés. Par la suite, nous aurons le nombre des larves et des œufs dans un kyste pour chaque échantillon. Cette analyse effectuée au laboratoire de la nématologie à l'institut espagnol d'agriculture durable est répétée deux fois à raison de deux réplifications.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

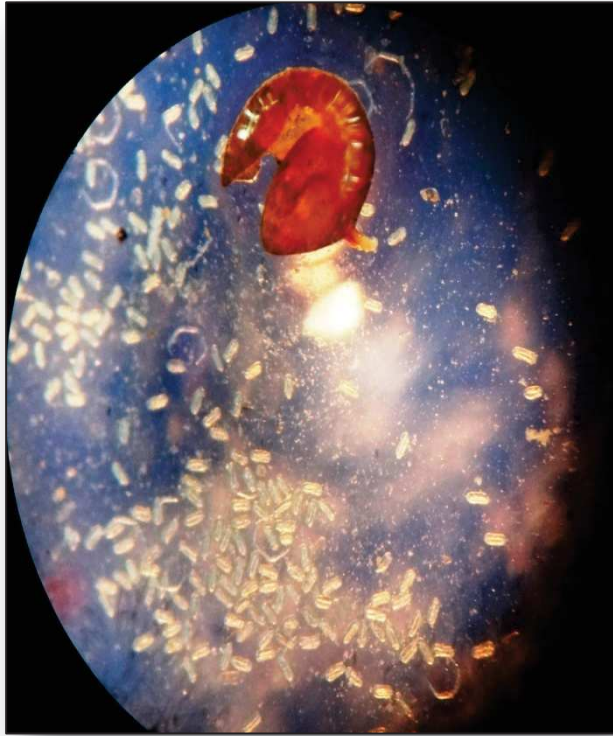


Figure 37: Kyste écrasé libérant des larves L₂ et des œufs de *Globodera spp.* vu sous M.O (G: 6.3x 8x10) (Original)

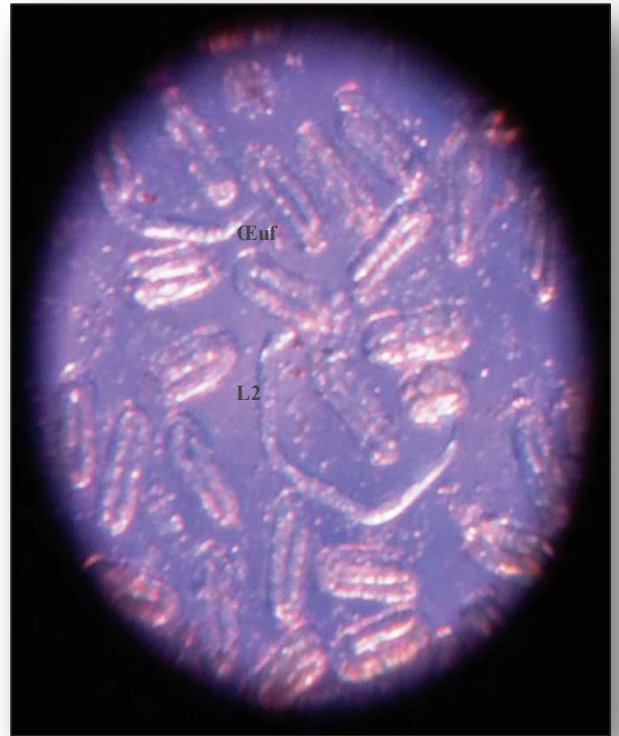


Figure 38: Larves L₂ et œufs de *Globodera spp.* vus sous M.O (G: 6.3x12x10) (Original)



Figure 39: Homogénéisateur des tissus (Original)



Figure 40: Lame de Peter pour comptage des nématodes (Original)



Figure 41: Dénombrement des œufs et des larves sous loupe binoculaire (Original)

1.5. Effet des caractéristiques physiques de certains sols étudiés sur les nématodes de la pomme de terre *Globodera spp.*

Objectif :

Les analyses pédologiques permettent une quantification des propriétés et des caractéristiques des sols étudiées, ainsi que leurs influences sur l'existence, la densité et la distribution des *Globodera*.

1.5.1. Matériels et Méthodes :

Selon Mathiew et Pieltain (2003), la prise d'un échantillon de sol doit être effectuée d'une façon représentative et correcte en suivant un certain nombre de règles afin d'obtenir des résultats satisfaisants. Pour cela, nous avons prélevé 12 échantillons provenant de douze régions de différents wilayas d'Algérie (Alger, Blida, Boumerdès, Tipaza, Béchar et El Oued) qui ont paru positivement infestés par les nématodes à kystes de la pomme de terre à une profondeur qui varie de 20 à 30 cm selon le model en zigzag. Les échantillons collectés sont séchés à l'air libre et tamisés à 2 mm.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Cette étape est préliminaire pour effectuer les analyses physiques du sol. Ces derniers ont été réalisés au niveau des laboratoires des départements de science du sol et de la production végétale de l'ENSA et de BNEDER (Bureau National d'étude pour le Développement Rural) de Chéraga à raison de 3 répétitions pour chaque échantillon.

1.5.2. L'analyse physique du sol

A noter que toutes les analyses physico-chimiques des sols étudiés (30 régions) dans notre travail ont été effectuées (le pH, Sol-eau 1/2.5, l'humidité du sol HR%, la conductivité électrique CE H₂O (ds/m), la capacité d'échange cationique CEC (meq/100g), le calcaire total CaCO₃%, le carbone organique C%, la matière organique totale MO%, le phosphore total P₂O₅ (ppm), l'azote total (Nt%), le rapport C/N, et l'analyse granulométrique à 5 fractions). Seulement les résultats relatifs à l'analyse physique du sol qui est présentée par la granulométrie et la texture du sol seront exposés dans cette thèse.

1.5.2.1. La granulométrie (analyse mécanique) :

Elle permet de connaître sous une forme pondérale le pourcentage des différentes fractions de particules minérales inférieures à 2 mm, selon des classes de grosseur d'après les normes de l'association Internationale de la Science du Sol (AISS) (Tableau 3). De même, elle détermine la répartition statique des particules d'un échantillon dans ces différentes classes granulométriques par la destruction de la matière organique qui joue un rôle de ciment entre les particules et la dispersion de ces dernières par une solution alcaline (Mathiew et Pieltain, 1998). Aussi, la granulométrie vise à établir la texture du sol, elle exprime la teneur en argile (A), en limon fin (LF), en limon grossier (LG), en sable fin (SF) et en sable grossier (SG) dans le sol.

1.5.2.1.1. Mode opératoire :

L'analyse granulométrique à pour but de caractériser la taille des particules minérales contenues dans la terre fine. De ce fait, la méthode utilisée au cours de cette étude est celle de la sédimentation avec des prélèvements à la pipette de Robinson (Figure 42). Cette méthode repose sur la loi de Stokes qui indique que la vitesse de chute d'une particule sphérique tombant librement dans un fluide est proportionnelle au carré de son rayon et à sa densité (Baize, 2000). En effet, l'échantillon doit passer par 4 étapes : l'attaque à froid, l'attaque à chaud, l'agitation, la dispersion et le prélèvement.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

L'attaque à froid (Figure 43) consiste à mettre la terre séchée dans un bécher, ajouter 15 ml de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 à 30% et laisser reposer 24 h afin de détruire la matière organique. Par la suite, l'échantillon est porté au bain de sable pour une attaque à chaud (Figure 44) en effectuant des jets d'eau distillée H_2O autour de la paroi pour faire descendre la mousse. Nous ajoutons quelques gouttes d' H_2O_2 pour s'assurer que l'échantillon reste liquide, la réaction est terminée quand celui-ci devient sec. La partie minérale restante est traitée par une solution d'hexamétaphosphate de sodium $(Na_6P_6O_{36})$ à 4% et du carbonate de sodium Na_2CO_3 à 1% pour assurer une bonne dispersion des particules. Ensuite, nous agitons l'échantillon dans une allonge pleine d'eau (1 litre), la sédimentation s'effectue sous la seule action de la gravité. Nous réalisons trois prélèvements successifs afin de récupérer les argiles, le limon fin et grossier. Pour reprendre les deux catégories de sable fin et grossier, le contenu de l'allonge d'eau est versé dans les tamis de 50 et 200 microns successivement. Enfin, les différentes classes récupérées par prélèvement à la pipette ou par tamisage sont séchées à $105^\circ C$ pendant 24 heures dans des creusets en porcelaine, qui seront ensuite pesés après refroidissement (Mathiew et Pieltain, 1998).

Une analyse granulométrique est considérée comme valable lorsque la somme des fractions constitutives de l'échantillon est comprise entre 95 et 101 % (sable grossier (SG) + sable fin (SF) + limon grossier (LG) + limon fin (LF) + argile (A) + Matière organique).

Tableau 3: Classes granulométriques des différents constituants minéraux de la terre Fine (Baize, 2000).

Dimensions en micromètres	0-2	2-20	20-50	50-200	200-2000
Classes	Argile	Limon (ou limon fin)	Limon grossier (ou sable très fin)	Sable fin	Sable grossier



Figure 42: Pipette de Robinson (Original)



Figure 43: Attaque à froid (Original)



Figure 44: Attaque à chaud (Original)

1.5.2.2. Détermination de la texture :

La représentation graphique des résultats de l'analyse granulométrique est représentée en coordonnées tri-linéaires : le triangle textural (Figure 45).

1.5.2.2.1. - Le diagramme texturale

C'est un triangle dont ces trois côtés représentent respectivement l'argile, le limon et le sable. Chaque côté porte les variations des taux de ces derniers qui sont de 0 à 100 pour cent. Chaque échantillon qui est présenté par un tiré correspond au pourcentage de chaque fraction (argile, limon, sable). Le point d'intersection entre ces trois lignes sera situé dans l'une des subdivisions du triangle. En se référant au diagramme des textures, sur lequel est mentionné le nom de chaque subdivision, nous déterminons la nature ou la texture de notre sol (USDA, 1986 ; Mathiew et Pieltain, 1998). La plasticité, la rigidité, la perméabilité, et la fertilité du sol peuvent être en relation directe avec la texture dans une région géographique donnée.

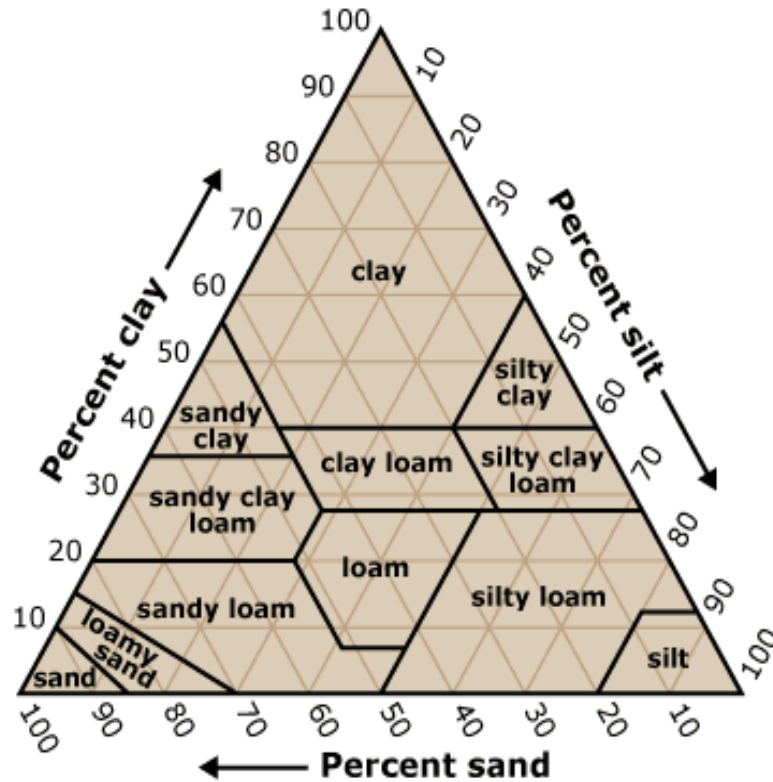


Figure 45: Diagramme de classification détaillé de la texture (USDA, 1986).

1.6. Analyse des données

Les données sont analysées selon Norton (1978) et Wolfgang (1991). La prévalence des populations de nématodes est basée sur trois facteurs :

- a) La densité de la population exprimée par la moyenne des nématodes dans 100 cm³ du sol.
- b) La fréquence des espèces de nématodes qui est déterminée par la relation entre le nombre des échantillons qui contient le nématode divisé sur le nombre total des échantillons puis multiplié par 100.
- c) Le degré d'infestation qui est égale au nombre des larves L₂ et des œufs par g du sol est calculé comme la moyenne des kystes pleins dans tous les sous-échantillons de chaque région multipliée par la moyenne des larves et des œufs pour chaque kyste de la même région et divisée par 500 g (le poids de notre sous échantillon).

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

1.7. Analyse statistique des résultats

Le traitement des analyses statistiques a été effectué à l'aide du logiciel XLSTAT 2010. Nous avons réalisé une analyse de la variance ANOVA entre les divers variables étudiées afin de mettre en évidence la différence existante entre eux.

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats

2.1.1. Fréquence de l'infestation des *Globodera spp.*

L'état d'infestation des parcelles de pomme de terre par ce nématode varie d'une région à une autre, tandis que certaines sont indemnes de *Globodera spp.* En effet, les nématodes à kystes de la pomme de terre ont été trouvés dans douze des trente localités échantillonnées en Algérie avec une prévalence générale de 40% (tableau 4). La fréquence moyenne de l'infestation dans les régions du Nord (Meftah 2, Lagata, Mandoura, H'rawa, Bousmail, Douaouda et Staoueli) était de 23.33 %. Alors que ce taux était de 16.67% dans le Sud de l'Algérie (Al Abadella, Trifaoui 1, Trifaoui 2, Hassi khelifa 1 et Hassi Khelifa 2). De même, tous les sous échantillons (12 sous échantillons) analysés au niveau de chaque parcelle infestée présentent un pourcentage d'infestation de 100%.

Enfin, l'absence total des kystes de ce nématode (Tableau 5) est relevée dans les communes de la willaya de Chlef (Oued Fodda, Oum Drou), d'Ain Defla (Mkhatria, Beni Neghlane, Khemis Meliana), de Bouira (Ain Bessam), de Skikda (El Harrouche), de Tlemcen (Sabra), d'Alger (Zeralda1, Zeralda 2 et Rouiba), de Boumerdès (Cap Jinet), de Blida (El Afroun, Mouzaia, Meftah 1 et Meftah 3), et de Tipaza (Hajout et Bourkika).

Tableau 4: Taux d'infestation des *Gobodera spp.* dans les régions infestées.

Sites	Regions	Altitude (m)	Variété de la pomme de terre	Nombre d'échantillons (500g)	Fréquence d'infestation% Par région	Fréquence d'infestation% Nord /Sud
Alger	Staoueli	45	Spunta	12	100	23.33
	H'Rawa	23	Désirée	12	100	
Boumerdès	Mandoura	38	Désirée	12	100	
	Lagata	91	Désirée	12	100	
Blida	Meftah2	101	Timate	12	100	
Tipaza	Bousmaïl	118	Désirée	12	100	
	Douaouda	71	Désirée	12	100	
Béchar	Al Abadella	780	Désirée	12	100	16.67
El Oued (OuedSouf)	Trifaoui1	71	Spunta	12	100	
	Trifaoui 2	71	Spunta	12	100	
	Hassikhelifa1	51	Bartina	12	100	
	HassiKhelifa2	51	Spunta	12	100	

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Tableau 5: Infestation des parcelles de pomme de terre par les *Globodera*.

Wilayas d'étude	Régions	villes	Nombre d'échantillons (500g)	Nombre moyen de Kystes vides/500g de sol	Nombre moyen de Kystes pleins /500g de sol	Pourcentage (%) de kystes vides	Pourcentage (%) de kystes pleins
Alger	Li	Staoueli	12	362,83	57,50	86,32	13,68
		Zeralda p1	12	00	00	00	00
		Zeralda p2	12	00	00	00	00
		H'rawa	12	289,08	16,92	94,00	6,00
		Rouiba	12	00	00	00	00
Boumerdès	Li	Cap Jinet	12	00	00	00	00
		Mandoura	12	91,42	13,75	86,93	13,07
		Lagata	12	146	15,33	90,50	9,50
Blida	Li	El affroun	12	00	00	00	00
		Mouzaïa	12	00	00	00	00
		Meftah1	12	00	00	00	00
		Meftah2	12	99,83	12,00	89,27	10,73
		Meftah3	12	00	00	00	00
Tipaza	Li	Hajout	12	00	00	00	00
		Bourkika	12	00	00	00	00
		Bousmaïl	12	220,42	29,00	88,37	11,63
		Douaouda	12	260,83	15,83	94,28	5,72
Chlef	TA	Oued Fodda	12	00	00	00	00
		Oum Drou	12	00	00	00	00
Ain defla	TA	Mkhatria	12	00	00	00	00
		Beni neghlane	12	00	00	00	00
		khemisMeliana	12	00	00	00	00
Skikda	Li	El harrouche	12	00	00	00	00
Telemcen	TA	Sabra	12	00	00	00	00
Bouira	TA	Ain Bessam	12	00	00	00	00
Béchar	SA	Abadla	12	36,58	32,00	53,34	46,66
El Oued (Oued Souf)	SA	Trifaoui1	12	11,50	42,33	21,36	78,64
		Trifaoui2	12	19,25	49,75	27,9	72,1
		Hassi Khelifa 1	12	9,58	66,75	12,55	87,45
		Hassi Khelifa 2	12	7,75	52,58	12,85	87,15

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

2.1.2. Dénombrement et pourcentage des kystes pleins et vides de *Globodera* spp.

Les résultats concernant l'état d'infestation des parcelles de pomme de terre dans les régions infestées sont consignés dans le tableau 5 et la figure 46.

L'analyse des échantillons infestés au cours de notre expérimentation révèle que le nombre des kystes vides sont très abondant par rapport aux kystes pleins dans les régions Nord avec une valeur minimale de 91.42 kystes vides/500 g de sol dans la commune de Mandoura (wilaya de Boumerdès) et une valeur maximale de 362.83 kystes vides/500 g de sol dans la commune de Staoueli (wilaya d'Alger). Les nombres moyens des kystes pleins varient entre 12 kystes plein/500g de sol dans la région de Meftah 2 (wilaya de Blida) et 57.50 kystes plein/500g de sol dans la région de Staoueli (wilaya d'Alger). Par contre, le nombre des kystes vides est inférieur à ceux des kystes pleins au sud du pays où il varie de 7.75 à 19.25 kystes vides/500g de sol dans la région de Hassi khelifa 2 et Trifaoui 2, et de 42.33 à 66.75 kystes pleins/500g de sol pour Trifaoui 1 et Hassi Khelifa 1 (wilaya de Oued Souf). En revanche, dans la wilaya de Béchar où les prospections ont été réalisées dans la commune d'Al Abadella, nous avons remarqué que le nombre moyen des kystes vides (36.58 kystes/500 g de sol) sont presque identiques à ceux des kystes pleins (32 kystes/500g de sol). Les pourcentages des kystes pleins les plus élevés sont enregistrés aux régions du Sud, ils atteignent leurs extrêmes à la commune de Hassi khelifa 1 avec 87,45%. Au nord du pays, la commune de Staoueli marque un pourcentage moins élevé de kystes pleins avec 13.68% (Figure 47).

En effet, l'analyse de la variance de l'effet des régions infestées sur le nombre des kystes par 500 g de sol montre une différence très hautement significative ($<0,001$) entre ces régions (Tableau 6).

Tableau 6: Analyse de la variance du nombre de kystes pleins et vides des *Globodera* spp./500g de sol entre les différentes régions infestées.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyennes des carrés	F de Fisher	Pr > F
Modèle	11	1928899,806	175354,528	86,344	< 0,0001
Résidus	132	268076,167	2030,880		
Total	143	2196975,972			

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Le test de NEWMAN-KEULS fait ressortir huit groupes homogènes (A, B, BC, C, D, E, EF, et F) (Tableau 7). Le premier groupe renferme la région de Staoueli, le deuxième groupe comporte la région de H'Rawa, le groupe BC correspond à la région de Douaouada, le Groupe C comprend la région de Bousmail, le groupe D renferme la région de Lagata, le groupe E contient la région de Meftah, le groupe EF englobe les régions de Mandoura et les régions du Sud Hassi khelifa 1, Hassi khelifa 2, Trifaoui 2 et Al abadella, et enfin le groupe F renferme la région de Trifaoui 1.

Tableau 7: Classement des groupes homogènes des moyennes de l'ensemble de kystes vide et pleins entre les différentes régions infestées (Test de Newman-Keuls).

Modalité	Moyenne estimée	Groupe
Staoueli	420,333	A
H'Rawa	306,000	B
Douaouada	276,667	BC
Bousmail	249,417	C
Lagta	161,333	D
Meftah	111,833	E
Madoura	105,167	EF
Hassi Khelifa 1	76,333	
Trifaoui 2	69,000	
Al Abadella	68,583	
Hassi Khelifa 2	60,333	
Trifaoui 1	53,833	F

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

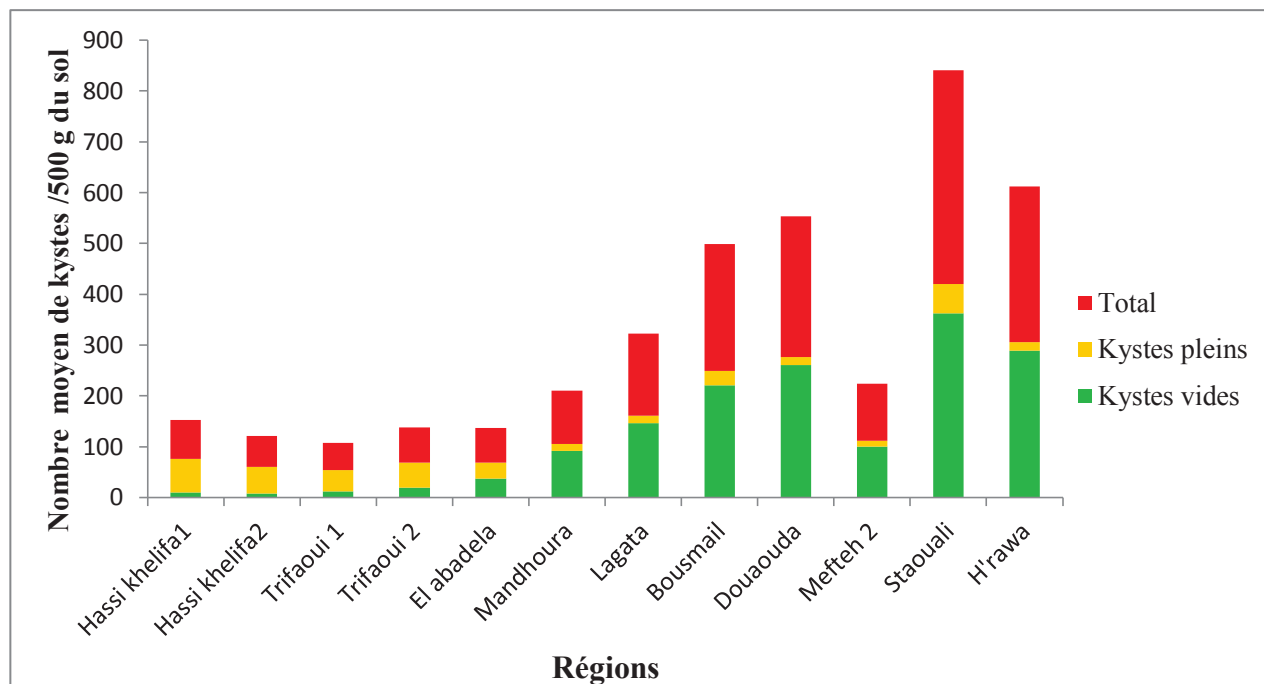


Figure 46: Nombre moyen des kystes de *Globodera spp.* en fonction des régions étudiées

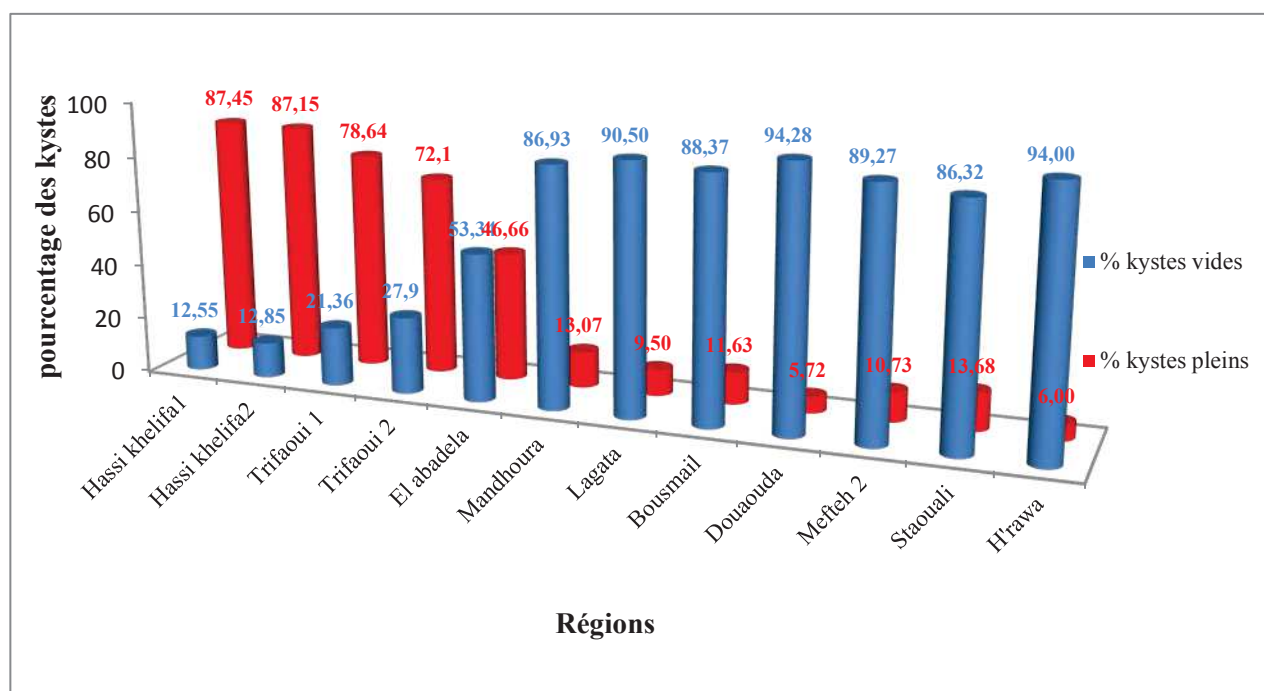


Figure 47: Pourcentages des kystes (vides et pleins) de *Globodera spp.* en fonction des régions étudiées

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

2.1.3. La densité des kystes pleins des *Globodera spp.* dans les régions infestées.

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 8 et la figure 48, les *Globodera spp.* ont été trouvés avec une densité moyenne de 4,60 kystes pleins par 100 cm³ de sol au nord de l'Algérie, allant de 2.4 kystes/100 cm³ (Meftah 2) à 11,5 kystes/100 cm³ de sol (Staoueli), alors que les régions du Sud (Al Abadella, Trifaoui 1, Trifaoui 2, Hassi khelifa 1 et Hassi Khelifa 2) ont montré des valeurs supérieures avec une densité moyenne de 9.76 kystes pleins par 100 cm³ de sol, allant de 6,4 kystes/100 cm³ (Al Abadella) à 13,4 kystes/100 cm³ de sol (Hassi Khaliffa 1). Nous notons aussi que les densités moyennes les plus élevées des kystes pleins sont enregistrées dans les communes de la wilaya d'El Oued (Oud Souf) où la région de Hassi Khalifa1 (13.4 kystes/100 cm³ de sol) est classée en tête de celles-ci, suivie de la wilaya d'Alger (Staoueli) avec 11.5 kystes/100 cm³ de sol. De même, ces densités sont moyennement importantes dans la wilaya de Béchar (Al Abadella) où 6.4 kystes/100 cm³ de sol sont collectés, et de la wilaya de Tipaza (Bousmail) avec seulement 5.8 kystes/100 cm³ de sol. La densité moyenne la plus faible est observée dans la wilaya de Blida (Meftah 2) à une valeur égale à 2.4 kystes/100 cm³ de sol. Enfin, des densités identiques moins importantes de kystes pleins sont recensées dans les wilayas d'Alger (H'Rawa), de Tipaza (Douaouda), et de Boumerdès (Mandoura et Lagata) avec 3.4, 3.16 et 3 kystes/100 cm³ de sol respectivement.

Tableau 8: Densité des kystes pleins et degré d'infestation des *Gobodera spp.* dans les régions infestées.

Sites	Localités	Altitude (m)	Variété de la pomme de terre	Degré d'infestation (ID) Juvéniles + œufs/g de sol	Kystes par 100 cm ³ de sol
Alger	Staoueli	45	Spunta	43.7	11.5
	H'Rawa	23	Désirée	18.19	3.4
Boumerdès	Mandoura	38	Désirée	18.15	3
	Lagata	91	Désirée	30.81	3
Blida	Meftah2	101	Timate	12.19	2.4
Tipaza	Bousmaïl	118	Désirée	19.95	5.8
	Douaouda	71	Désirée	10.70	3.16
Béchar	Al Abadella	780	Désirée	72.83	6.4
El Oued (OuedSouf)	Trifaoui1	71	Spunta	67.62	8.4
	Trifaoui 2	71	Spunta	93.5	10
	Hassikhelifa1	51	Bartina	98.22	13.4
	HassiKhelifa2	51	Spunta	98	10.6

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Les résultats de l'analyse de la variance sur la densité des kystes pleins par 100 cm³ de sol dans les régions infestées ont montré une différence très hautement significative (<0,001) (Tableau 9).

Tableau 9: Analyse de la variance de la densité des kystes pleins des *Globodera* /100 cm³ de sol dans les différentes régions infestées.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyennes des carrés	F de Fisher	Pr > F
Modèle	11	2006,174	182,379	32,815	< 0,0001
Résidus	132	733,623	5,558		
Total	143	2739,798			

Le test de NEWMAN-KEULS (Tableau 10) fait ressortir six groupes homogènes (A, AB, BC, C, D, et E). Le groupe A renferme la région de Hassi khelifa 1, le groupe AB comporte la région de Staoueli, le groupe BC rassemble la région de Hassi khelifa 2 et de Trifaoui 2, le groupe C comprend la région de Trifaoui 1, le groupe D renferme la région d'Al abadella et de Bousmail. Enfin, le groupe E réunit la région de H'Rawa, de Douaouda, de Lagata, de Mandoura et de Meftah.

Tableau 10: Classement des groupes homogènes des moyennes de la densité des kystes pleins entre les différentes régions infestées (Test de Newman-Keuls).

Modalité	Moyenne estimée	Groupe
Hassi Khelifa 1	13,350	A
Staoueli	11,500	AB
Hassi Khelifa 2	10,517	BC
Trifaoui 2	9,950	
Trifaoui 1	8,467	C
Al Abadella	6,400	D
Bousmail	5,800	
H'Rawa	3,383	E
Douaouda	3,167	
Lagata	3,067	
Mandoura	2,750	
Meftah 2	2,400	

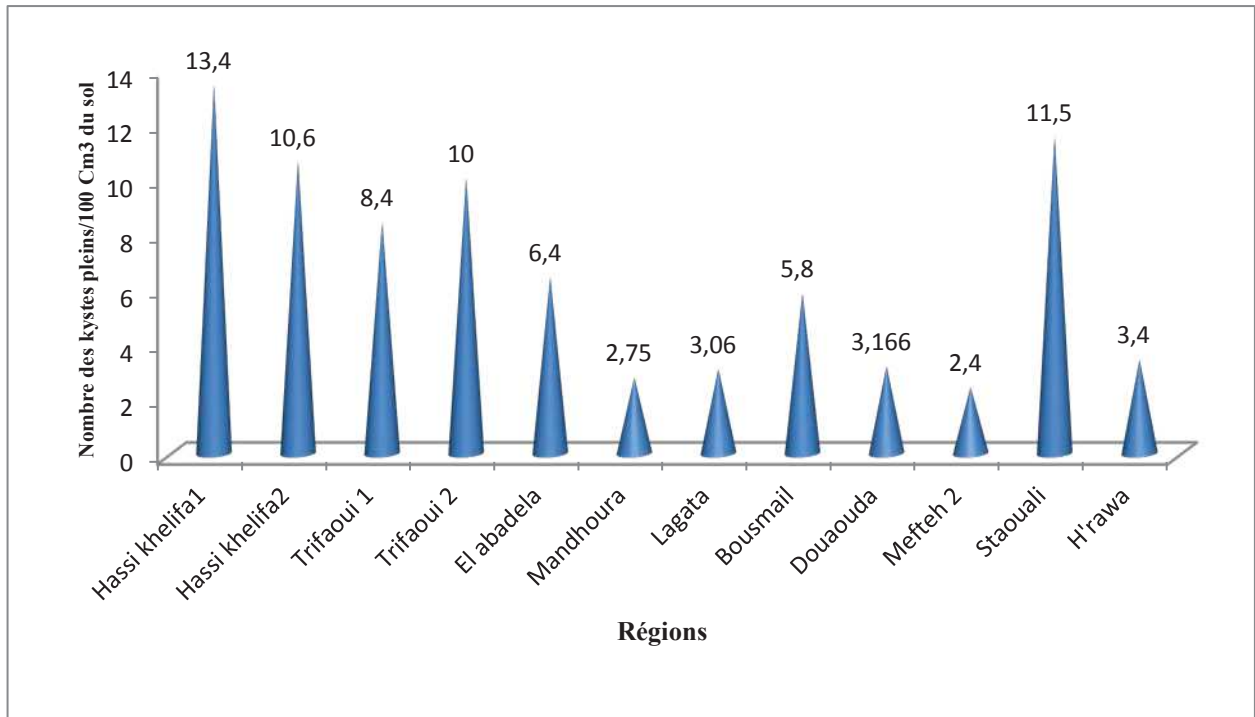


Figure 48 : Moyenne des densités des kystes pleins en fonction des régions étudiées

2.1.4. Degré d'infestation des régions étudiées par *Globodera spp.*

Les résultats cités dans le tableau 8 et la figure 49 indiquent que les régions du Sud sont fortement infestées par les *Globodera spp.* En effet, les degrés d'infestation les plus élevés sont enregistrés dans la wilaya d'El Oued (Oued Souf) où ils exposent un maximum de 98,22 juvéniles et œufs par g de sol dans la région de Hassi Khelifa 1, et un minimum de 67,62 juvéniles et œufs par g de sol dans la région de Trifaoui 1. De plus, la wilaya de Béchar représentée par la commune d'Al Abadella s'est avérée très infestée par ces nématodes avec 72.83 juvéniles et œufs par g de sol. En revanche, ces degrés sont moyennement élevés dans les régions du Nord où il varie de 10,7 juvéniles et œufs par g de sol à Tipaza (commune de Douaouda) à 43,7 juvéniles et œufs par g de sol à Alger (commune de Staoueli). Cependant, ces degrés indiquent que toutes les régions infestées ont dépassées le seuil de nuisibilité qui est évalué à 10 larves /g de sol (Mugnière, 1982).

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

L'analyse de la variance sur les degrés d'infestations des régions étudiées par *Globodera spp.* indique une différence très hautement significative ($<0,001$) (Tableau 11).

Tableau 11: Analyse de la variance des degrés d'infestations de sol par *Globodera spp.* entre les différentes régions infestées.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyennes des carrés	F de Fisher	Pr > F
Modèle	11	162235,180	14748,653	63,426	< 0,0001
Résidus	132	30694,515	232,534		
Total	143	192929,695			

Le test de NEWMAN-KEULS (Tableau 12) fait ressortir six groupes homogènes (A, B, C, D, DE, et E). Le premier groupe rassemble la région de Hassi khelifa 1, Hassi khelifa 2, Trifaoui 2, le groupe B réunit la région d'Al Abadella et Trifaoui 1, le groupe C comprend la région de Staoueli. Le groupe D regroupe la région de Lagata, le groupe DE englobe la région de Bousmail, de Mandoura et de H'Rawa. Enfin, le groupe E comprend la région de Meftah 2 et de Douaouda.

Tableau 12: Classement des groupes homogènes des moyennes des degrés d'infestations entre les différentes régions prospectées (Test de Newman-Keuls).

Modalité	Moyenne estimée	Groupe
Hassi Khelifa 1	98,220	A
Hassi Khelifa 2	98,050	
Trifaoui 2	93,503	
Al Abadella	72,832	B
Trifaoui 1	67,621	
Staoueli	43,700	C
Lagata	30,810	D
Bousmail	19,952	DE
H'Rawa	18,19	
Mandoura	18,150	
Meftah 2	12,192	E
Douaouda	10,703	

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

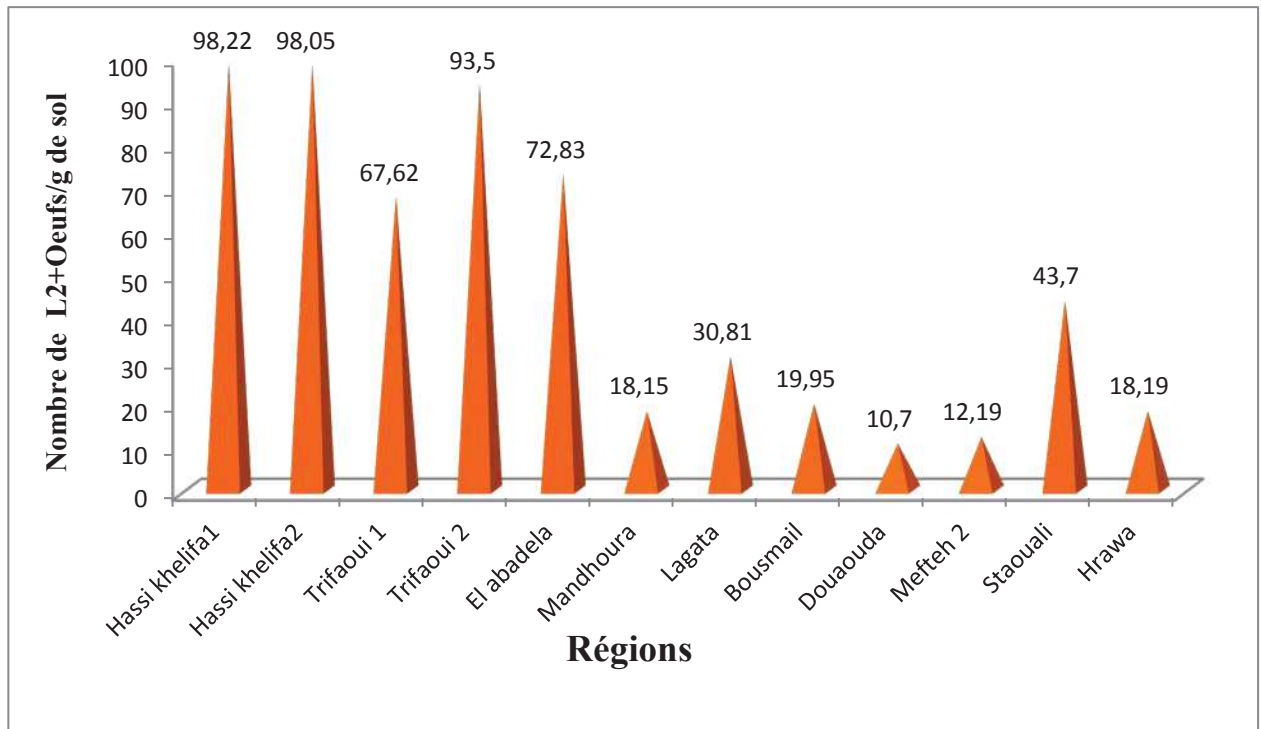


Figure 49 : Moyennes des degrés d'infestations des *Globodera spp.* en fonction des régions étudiées

2.1.6. L'analyse physique des sols infestés :

Les résultats de la granulométrie des sols infestés par les *Globodera* ont montré une dominance spécifique de la fraction limoneuse dans les régions Nord (Mefteh 2, Lagata, Mandoura, H'rawa, Bousmail, Douaouda et Staoueli), et une fraction sableuse dans les régions Sud du pays (Al Abadella, Trifaoui 1, Trifaoui 2, Hassi khelifa 1 et Hassi Khelifa 2).

2.2. Discussion et conclusion

Les nématodes à kystes de la pomme de terre NKPT ont, dans de nombreux aspects de leur biologie, démontré une capacité remarquable à coloniser, s'adapter et à survivre dans de nouveaux environnements à travers le monde (Turner et Evans, 1998). En effet, le kyste est une unité écologique qui forme avec la coquille de l'œuf une très grande protection aux juvéniles non éclos contre les agents pathogènes en contribuant à la capacité de celles-ci à rester inactives. Elles peuvent survivre pendant des périodes de dessiccations et de gelée. Des œufs viables ont été trouvés dans des sols 14 ans après la dernière saison de croissance de l'hôte (Storey, 1984).

En fait, notre étude menée dans 30 régions de l'Algérie a montré que les *Globodera spp.* sont largement présents dans 12 localités appartenant au Nord et au Sud du pays avec un taux d'infestation égale à 100%. Dans le présent travail nous avons enregistré une différence hautement significative entre les régions infestées avec un gradient descendant du Nord au Sud. Franco et *al.* (1998) déclarent que la longueur du jour, l'altitude, la température, la pluviométrie et leur interaction avec la pomme de terre hôte, sont les facteurs responsables de la distribution des *Globodera* à travers les différents aires géographiques de la culture de pomme de terre. S'ajoutent à ceux-ci les vents et l'activité humaine qui peuvent influencer cette diffusion.

De même, les pourcentages des kystes vides de *Globodera spp.* étaient très importants par rapport à ceux des kystes pleins dans les régions du Nord. Ceci est probablement dû à la forte compétition envers un choix phénotypique sexuel mâle, ce qui induit à un blocage de développement des larves et une réduction des kystes néoformés. De plus, dans un climat tempéré, la diapause des kystes des *Globodera* n'est pas effectuée, ce qui conduit à une très haute éclosion des larves et des déclin au niveau des taux des kystes d'environ 30% par an en absence de la plante hôte (Evans et Stone, 1977; Foot, 1978; Marshall, 1998). C'est pour ces raisons que les kystes pleins vont se vider, ou peuvent contenir un nombre assez faible des œufs. En revanche, les taux des kystes pleins dépassent amplement ceux des kystes vides dans le sud du pays dans lequel la région de Hassi Khelifa 1 (wilaya de Oued Souf) a présenté la densité la plus élevée avec une moyenne de 13.4 kystes pleins par 100 cm³ de sol. Cela est probablement lié à la monoculture de la pomme de terre et son intensification (deux fois par an), mais également l'utilisation des cultivars résistants par les agriculteurs (Bartina et Spunta) qui sont sensibles à certaines pathotypes de nématodes à kystes de la pomme de terre.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Les recherches indiquent que les nématodes à kystes de la pomme de terre peuvent causer des pertes de rendement remarquables en fonction de la densité de la population. Des densités de 3-24 kystes /100g de sol ont été associées à des pertes de 20-30% de rendement total, tandis qu'avec des populations qui dépassent 25 kystes/100 g de sol, les pertes de rendements peuvent arriver jusqu'à 80-90% (Marks et Rojancovski, 1998). Franco et *al.*(1998) rapporte que la densité de la population des *Globodera* qui varie de 1 à 700 kystes/g de sol dépend principalement de la fréquence de la culture et du type de sol.

De plus, le degré d'infestation le plus élevé de *Globodera spp.* a été enregistré dans le Sud représenté par Hassi khelifa à Oued Souf avec 98,22 juvéniles /g de sol par rapport au nord du pays dans lequel Staoueli à Alger a marqué un degré d'infestation égale à 43,7 juvéniles /g de sol. Ceci indique que les zones du sud sont fortement infestées par ce nématode par rapport aux régions du nord du pays. Mais l'abondance de *Globodera spp.* est plus importante dans le nord que dans le sud (7 régions au nord par rapport à 5 au sud). De même tous les degrés d'infestations des parcelles étudiées ont dépassé le seuil de nuisibilité évalué à 10 L₂/g de sol (Mugniéry, 1982). En effet, le choix des cultivars de pomme de terre joue un rôle important dans la propagation de ces parasites. La variété Spunta s'est avérée sensible à ces nématodes (Greco et *al.*, 2007). De même, à des niveaux d'infestation élevés, le cultivar sensible et intolérant Désirée présentait un début de croissance moyenne, mais ensuite elle a montré une sénescence accélérée sévère (Van Riel et Mulder, 1998).

Norton (1989) a signalé que le but de nombreuses investigations de nématodes est de déterminer pourquoi une espèce donnée est limitée à certaines zones. La distribution de certaines espèces de nématodes dépend des facteurs abiotiques du sol, notamment l'influence de l'environnement, la température et la texture du sol.

De nombreuses espèces de nématodes peuvent survivre dans des conditions abiotiques extrêmes à une température du sol très basse ou élevée (MCSorley, 2003, Treonis et wall, 2005). Block et *al.* (2010), signalent que la température est un facteur majeur qui influence beaucoup d'aspects de cycle de vie des nématodes à kystes de pomme de terre tel que le taux d'éclosion, le développement au sein de la plante hôte, et le potentiel d'initier et de compléter une seconde génération dans la même saison de culture. Ces mêmes auteurs affirment que les *Globodera spp.* peuvent éclore sur une large gamme de températures moyennes qui varie entre 13°C et 29° C.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

L'analyse physique des sols des parcelles infestées révèle une dominance des textures limoneuses au Nord, et des textures sableuse au sud du pays. En fait, les nématodes à kyste comme *Heterodera spp.* et *Globodera spp.* vivent dans tous les types de sols, mais leurs attaques sont plus redoutées dans les sols légers (Williams et Siddiqui, 1972, Caubel et *al.*, 1980). L'éclosion et le mouvement des *Globodera* vers les racines se reproduisent le plus rapidement dans les sols sablonneux. Ces résultats démontrent que les cultures pratiquées sur ces sols soient les plus susceptibles pour subir les dommages les plus importants (Trudgill et *al.*, 1998). De même, Hlaoua et *al.* (2010) ont déclaré que ce genre est retrouvé dans des zones à production de pomme de terre à fraction limoneuse.

Toutefois, l'aération dans le sol est régulée par l'espace interstitiel, l'humidité, la profondeur et la température. La plupart des sols sont très hétérogènes, permettant une diversité d'organismes, y compris les nématodes. Lorsque les précipitations sont irrégulières, l'espace des pores fluctue grandement. Ceci, à son tour, affecte le développement des nématodes. Les extrêmes de l'oxygène et du dioxyde de carbone régissent sans doute sur la présence de certains nématodes du sol et des plantes. De telles influences peuvent commencer tôt dans la vie d'un nématode (Norton et *al.*, 1978).

Cependant, l'absence des kystes de *Globodera* dans certaines régions comme la willaya de Chlef (Oued Fodda, Oum Drou), d'Ain Defla (Mkhatria, Beni Neghlane, Khemis Meliana), de Bouira (Ain Bessam), de Skikda (El Harrouche), de Tlemcen (Sabra), d'Alger (Zeralda1, Zeralda 2 et Rouiba), de Boumerdès (Cap Jinet), de Blida (El Afroun, Mouzaia, Meftah 1 et Meftah 3), et de Tipaza (Hajout et Bourkika) peut être attribué à la distribution des nématodes qui est irrégulière et très mal répartie. Elle peut se justifier par une rotation équilibrée car les surfaces réservées à la pomme de terre sont associées aux surfaces des céréales. Ce qui donne la possibilité d'éviter de mettre en place la plante hôte (Pomme de terre) une fois sur quatre.

Malgré cela, la non détection de kystes de ce genre pendant les analyses de sol dans les zones d'études ne peut pas exclure sa présence. En effet, l'Institut National de Protection des Végétaux (2009) a confirmé l'infestation des sols de plusieurs wilayas du pays par ces nématodes y compris Aïn Defla, Tipaza, et Chlef. De même, les travaux de Tirchi et *al.*, (2016) rapporte la présence des *Globodera* dans la région d'Ain Defla.

III. Prévalence et infestation des *Globodera* dans quelques wilayas de l'Algérie

Enfin, nos résultats concordent avec ceux de Hancock (1996), qui a mentionné que lorsque seulement un site a été échantillonné et qu'une infestation a été trouvée, cela n'indique pas que toutes les terres de ce producteur étaient infestées. De même, lorsque aucune infestation n'a été trouvée, cela ne signifie pas que toutes les terres du producteur étaient exemptes de nématodes dorés de la pomme de terre.

A la lumière du précédent argumentaire, une étude à grande échelle est nécessaire afin d'identifier les différentes espèces de *Globodera* trouvées dans les régions infestées, et de développer une méthode de lutte appropriée contre ces bioagresseurs.

A présent, des nouvelles stratégies de contrôle des nématodes à kystes de la pomme de terre sont améliorées, basées essentiellement sur l'utilisation de produits biologiques, et des variétés résistantes. Ces dernières posent un vrai débat à cause de la résistance partielle de certains cultivars de pomme de terre au *Globodera pallida*. De ce fait, les chercheurs mettent l'accent sur la nécessité de combiner plusieurs méthodes de lutte afin de bien contrôler et réduire les pertes gigantesques occasionnées par ces parasites.

CHAPITRE IV

**CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE DES POPULATIONS DE NÉMATODES A KYSTES
DE LA POMME DE TERRE EN PROVENANCE DE DIFFÉRENTES RÉGIONS DE L'ALGÉRIE**

Chapitre IV : Caractérisation moléculaire des populations de nématodes à kystes de la pomme de terre en provenance de différentes régions de l'Algérie

Objectifs

L'objectif de notre étude est d'identifier les populations de nématode à kystes introduites en Algérie par l'utilisation de quelques techniques de la biologie moléculaire notamment la spécifique PCR, l'ITS ADNr, le *cytochrome b* (*cyt b*) gène de l'ADNmt, et le séquençage. Cette étude est complétée par une détermination phylogénétique des populations de *Globodera rostochiensis* et de *Globodera pallida* de l'Algérie, et leur association géographique avec d'autres régions. Ces analyses ont été effectuées au laboratoire de la nématologie à l'institut espagnol d'agriculture durable.

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériel biologique

Douze populations de nématodes à kystes de la pomme de terre (NKPT) recensées au cours de notre recherche sont soumises à l'analyse moléculaire. Ces populations appartiennent aux régions suivantes : la wilaya d'Alger (Staoueli et H'rawa), de Boumerdès (Mandoura et Lagata), de Blida (Meftah 2), de Tipaza (Bousmail et Douaouda), de Béchar (Abadella), et d'El Oued « Oued Souf » (Trifaoui1, Trifaoui2, Hassi khelifa1, et Hassi khelifa2). Les caractéristiques de ces parcelles étudiées sont présentées dans le tableau 2, chapitre 2.

1.2. Choix des marqueurs moléculaires

Pour une analyse par PCR, il faut connaître au préalable la séquence d'un segment de l'ADN spécifique à l'organisme que l'on recherche. Il est essentiel de choisir des marqueurs de grande qualité ainsi que la taille du produit d'amplification et les amorces essentielles à cette réaction. Dans notre étude, nous avons choisis différents marqueurs moléculaires, c'est le cas de la région ITS de l'ADN ribosomique (Figure 50), et le *cytochrome b* gène de l'ADN mitochondrial (Figure 51) qui interviennent dans la distinction de différences existantes entre les différentes espèces, et dans les relations phylogénétiques.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

En effet, l'ADN ribosomique est constitué des cistrons qui sont des unités répétées composées d'une région non codante ETS, de la petite et de la grande sous unité ribosomique (le gène 18 S et le gène 28 S), de deux régions internes transcrites : ITS1 et ITS2. Entre ces dernières se trouve le gène 5.8 S. De même, le gène *cyt b* de l'ADNmt est un excellent marqueur pour l'identification et la phylogénie des *Globodera pallida*.

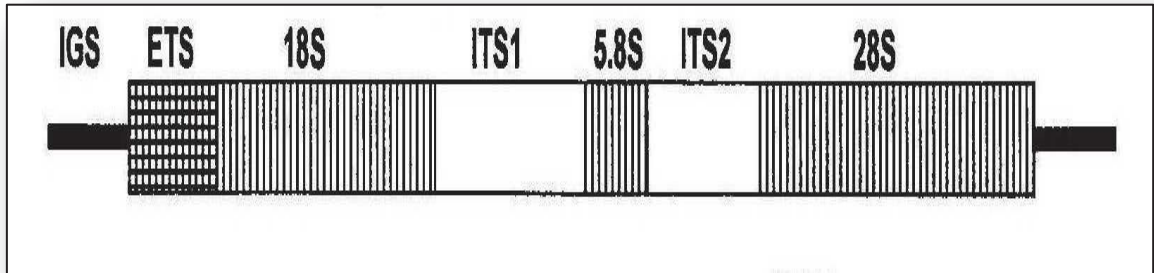


Figure 50: Structure de l'unité répétitive (cistron) d'ADN ribosomique montrant la position des régions amplifiées (Fleming et powers, 1998b)

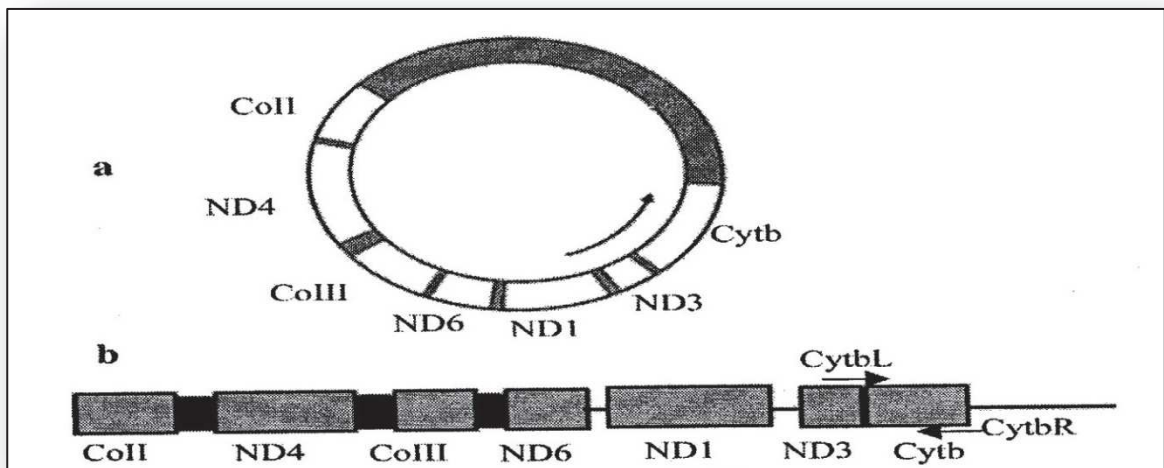


Figure 51: Position du gène *cytochrome b* et les amorces utilisées dans le génome mitochondrial (Madani et al., 2010).

a: Position du *cyt b* dans l'ADNmt ; **b:** position de l'amorce de *cyt b*.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

1.3. Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait à partir de chaque kyste individuel, avec au minimum cinq kystes par région infestée ont été identifiés par des techniques moléculaires. Chaque kyste a été écrasé et des juvéniles ont été coupées et fragmentées avec une lame de scalpel sous un stéréomicroscope en utilisant une lame en verre contenant une goutte de solution tampon d'extraction (buffer lyse). Cette destruction permet la libération de l'ADN génomique dans la goutte du buffer lyse. Les nématodes coupés à partir de chaque kyste sont transférés individuellement à l'aide d'une pipette dans un tube Eppendorf de 0.5 ml contenant 20 µl de tampon d'extraction de nématodes (Thomas *et al.*, 1997). Cette opération est répétée pour chaque kyste. Pour éviter les contaminations de l'ADN, les lames et les scalpels doivent être changés à chaque manipulation. Enfin, environ 2 µl de protéinase K (600 µg/ml) ont été ajoutés à chaque tube, et ont été incubés pendant 1 h à 65 ° C, suivis de 95 ° C pendant 10 min. Cette méthode d'extraction de l'ADN est identique pour tous les types des PCR utilisés dans notre étude.

1.4. Réactions PCR (Polymerase Chain Reaction)

1.4.1.. La PCR spécifique

1.4.1.1. Principe de la PCR

La PCR spécifique est une technique utilisée pour l'identification des nématodes dorés de la pomme de terre (NKPT) *in vitro*. Elle est capable d'amplifier en millions de fois des séquences cibles présentes dans un échantillon d'ADN à partir d'une faible quantité d'acide nucléiques (séquence spécifique d'ADN) et d'amorces spécifiques (Tableau 13) constitués d'oligonucléotides de 15 à 30 nucléotides.

Après la dénaturation qui consiste à dissocier les deux brins de l'ADN matrice, les amorces sens et anti sens commencent à s'hybrider à cet ADN. La phase d'élongation permet aux polymérase de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à partir des dNTPs libre présents dans le milieu réactionnel. Le protocole de PCR se fait en plusieurs cycles successifs avec plusieurs séquences amplifiées qui seront facilement détectables par électrophorèse sur gel d'agarose.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

1.4.1.2. Méthode

Nous avons utilisé cette technique pour dupliquer le gène 18S de l'ADNr et la région transcrite interne ITS1 à l'aide d'une amorce universelle : le ITS5, et deux amorces spécifiques : le PITSp pour *Globodera pallida* et le PITSr3 pour *G. rostochiensis*.

Ce test a été effectué dans un volume final de 25 µL de réaction. Deux microlitres de l'extrait d'ADN ont été utilisés pour chaque réaction de PCR comme décrit dans Bullman et Marshall (1997):

H2O	17.105 µl
Buffer	2.5 µl
Mgcl2	1 µl
dNTP	0.4 µl
Les amorces	1.875 µl
TAQ	0.12 µl
ADN	2 µl
Total	25µl

Le témoin négatif (l'eau) et les témoins positifs (*G.pallida* et *G. rostochiensis* fournis par le Dr Blok, James Hutton Institute) ont été inclus. Les tubes à produits utilisés et ceux qui renferment le mélange sont mis dans une boîte qui contient de la glace pour éviter toute réaction d'hybridation et d'élongation. Toutes les amorces de PCR utilisées dans cette étude sont listées dans le tableau 13.

Les microtubes contenant le mélange réactionnel sont mis dans la machine à PCR (thermocycleur). L'amplification par PCR a été soumise à des variations de températures rapide à 35 cycles grâce au thermocycleur qui est programmé pour une initiale dénaturation de l'ADN pendant 2 minutes à 94°C, 35 cycles de 30 Secondes à 94°C pour une dénaturation complète, suivie par une phase d'hybridation pendant 30 secondes à 60°C. Enfin, l'élongation est produite à 72°C pendant 30 secondes et prendra fin après 5 minutes à 72°C.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

1.4.2. La région de l'espaceur transcrit interne de l'ADNr (Internal transcribed spacer regions ITS)

1.4.2.1. Principe de l'ITS

Ce test permet d'identifier les nématodes à kyste de la pomme de terre et de réaliser des relations phylogénétiques. La région ITS ADNr est moins conservée par rapport aux autres qui la limitent ce qui lui permet d'être facilement amplifiée par la technique de la PCR.

1.4.2.2. Méthode

L'amplification du fragment de l'ITS ADNr a été effectuée en utilisant les amorces TW81 et AB28 (Tableau 13) comme décrit dans Joyce et *al.*, (1994).

Ce test a été effectué dans un volume final de 25 μ L de réaction. Environ 1.25 microlitres de l'extrait d'ADN ont été utilisés pour chaque réaction de PCR. :

H2O	18.55 μ l
Buffer	2.5 μ l
Mgcl2	0.75 μ l
dNTPs	0.25 μ l
Les amorces	1.5 μ l
TAQ	0.2 μ l
ADN	1.25 μ l
Total	25 μ l

Le profil d'amplification pour ITS ADNr consistait à une étape de préchauffage pendant 5 min à 94°C, suivi de six cycles de 94°C pendant 1 min, de 55°C pendant 1 min, de 72°C pendant 1 min, et de 28 autres cycles à 94 °C pendant 1 min, de 57°C pendant 45 s, de 72 °C pendant 1 min, et une extension finale à 68°C pendant 5 min.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

1.4.3. Le gène Cytochrome *b* de l'ADN mitochondrial ADNmt (PCR *cytb* gene mtDNA)

1.4.3.1. Principe de *cyt b* gène de l'ADNmt

Cet essai permet l'étude des variations intra-spécifiques, ce gène est fortement conservé ce qui rend possible l'identification des espèces de *Globodera pallida* et de connaître leurs origines.

1.4.3.2. Méthode

L'INRA *cytbL* et l'INRA *cytbR* sont deux amorces spécifiques pour le gène *cyt b* de l'ADNm de *G. pallida* (Tableau 13) qui ont été utilisées pour amplifier un fragment de 872 pb tel que décrit dans Picard et *al.* (2007).

Ce test a été effectué dans un volume final de 25 µL de réaction. Un microlitre de l'extrait d'ADN ont été utilisés pour chaque réaction de PCR :

H2O	17.3 µl
Buffer	2.5 µl
Mgcl2	1.5 µl
dNTPs	0.5 µl
Les amorces	2 µl
TAQ	0.2 µl
ADN	1 µl
Total	25 µl

Le gène *cyt b* de l'ADNmt à été amplifié à l'aide d'un profil thermique de 94° C pendant 5 min pour une initiale dénaturation, suivi par 38 cycles à 94°C pendant 45 s, de 58°C pendant 30 s, de 68° C pendant 1 min, et une extension finale à 68°C pendant 5 min.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

Tableau 13: Liste des amorces utilisées pour les différentes amplifications.

Code de l'amorce	Séquence (5'-3 ')	Région amplifiée	Source
ITS5	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3 '	18S rDNA gène et la région ITS1	White et al. (1990)
PITSp4	5'-ACAACAGCAATCGTCGAG-3 '	18S rDNA gène et la région ITS1	Bulman& Marshall (1997)
PITSr3	5'-AGCGCAGACATGCCGCAA-3 '	18S rDNA gène et la région ITS1	Bulman& Marshall (1997)
TW8I	5'-GTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3'	ITS	Joyce et al. (1994)
AB28	5'-ATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3 '	ITS	Howlett et al. (1992)
INRAcytL	5'-GGGTGTGGCCTTGTTATTC-3 '	cytb de mtDNA	Picard et al. (2007)
INRAcytR	5'-ACCAGCTAAAACCCCATCCT-3 '	cytb de mtDNA	Picard et al. (2007)

1.5. Electrophorèse, purification des produits PCR et séquençage

Après l'amplification, les produits de PCR ont été séparés par électrophorèse dans des gels d'agarose tamponnés au Tris-Borate-EDTA (TBE) à 1% avec du bromure d'éthidium. L'électrophorèse permet de séparer des particules en fonction de leurs charges électriques et de leurs tailles. Les molécules d'ADN chargées négativement sont attirées vers l'anode au travers d'un réseau solide non mobile (gel en agarose). Ce réseau permet de retenir les molécules en fonction de leur taille, les plus petites gagnent plus rapidement l'anode que les grandes. Plus le réseau est dense, mieux les molécules de petites tailles seront séparées (Huybens et al., 2009).

Après l'électrophorèse, les bandes apparues sur le gel d'agarose ont été visualisées avec un éclairage UV et des moyens de photo-détecteurs. Ils sont représentés graphiquement avec un appareil photo.

1.6. Séquençage et analyse des séquences

Les produits d'amplification purifiés résultants ont été exécutés sur un séquenceur multi-capillaire ADN (analyseur génétique modèle 3130 XL, Applied Biosystems, Foster City, CA, États-Unis), en utilisant le Big Dye Terminator Sequencing Kit v.3.1 (Applied Biosystems), aux installations (laboratoire) de séquençage Stab Vida (Caparica, Portugal). Par la suite, les séquences seront éditées, analysées et comparées avec d'autres résultats de Gen Bank (banque de données).

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

1.7. Identification, diversité moléculaire et analyse phylogénétique

Les ITS de l'ADNr et les séquences du gène *cytb* de l'ADNmt de différents nématodes à kystes appartenant à GenBank ont été utilisés pour la reconstruction phylogénétique. Les taxons de hors groupe ont été choisis pour chaque ensemble de données selon Madani et *al.* (2010). Les alignements multiples des différents gènes ont été réalisés en utilisant l'algorithme Q-INS-i de MAFFT v.7.205 (Kato et Standley, 2013). Les alignements de séquence ont été édités manuellement à l'aide de BioEdit (Hall, 1999).

La similitude de pourcentage entre les séquences a été calculée à l'aide de la matrice d'identité de séquence inBioEdit. Des analyses phylogénétiques des ensembles de données séquentielles ont été effectuées en fonction de l'inférence bayésienne (BI) à l'aide de MrBayes 3.1.2 (Ronquist et Huelsenbeck, 2003).

Le meilleur modèle d'évolution de l'ADN a été obtenu en utilisant Jmodel Test v.2.1.7 (Darriba et *al.*, 2012) avec le critère d'information Akaike (AIC). Le modèle pris en charge par Akaike, la fréquence de base, la proportion des sites invariables, les paramètres de forme de distribution gamma et les taux de substitution dans l'AIC ont ensuite été utilisés dans des analyses phylogénétiques.

L'analyse de BI des sites invariables associés à un modèle de distribution en forme de gamma (GTR + I + G) ont été utilisés pour l'ensemble de données ITS. De même, un modèle de transition de sites invariables et un modèle de distribution en forme de gamma (TIM1 + I + G) ont été choisis pour analyser des données de *Cyt b* gène de l'ADNmt. Ceux-ci ont été exécutés avec quatre chaînes pour 1×10^6 générations respectivement.

Les chaînes de Markov ont été échantillonnées à des intervalles de 100 générations. Deux séries ont été réalisées pour chaque analyse. Après avoir éliminé les échantillons de combustion et évalué la convergence, les échantillons restants ont été retenus pour d'autres analyses. Les topologies ont été utilisées pour générer un arbre de consensus de la règle majoritaire de 50%. Les probabilités postérieures bayésiennes (BPP) sont données sur des clades appropriés. Les arbres de toutes les analyses ont été visualisés en utilisant la version de logiciel FigTree v.1.42 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

2. Résultats et discussion

2.1. Résultats

2.1.1. Identification et diversité des nématodes à kyste de la pomme de terre

Les nématodes à kyste de la pomme de terre (NKPT) ont été détectés et identifiés dans six wilayas de l'Algérie (Alger, Boumerdès, Blida, Tipaza, Béchar et El Oued) représentées par Douze localités.

Aucun mélange des deux espèces n'a été trouvé dans aucune des localités positives. L'espèce *Globodera pallida* a été distribuée dans la région Nord de l'Algérie (Alger, Blida, Tipaza et Boumerdès). Alors que dans les régions Sud (El Oued et Béchar), seulement la population de *G.rostochiensis* était dominante.

L'amplification par la PCR spécifique de la région ITS1 et du 18 rDNA de *Globodera rostochiensis* et de *G.pallida* a produit des fragments uniques de 434 bp et 265 bp respectivement (Figure 52).

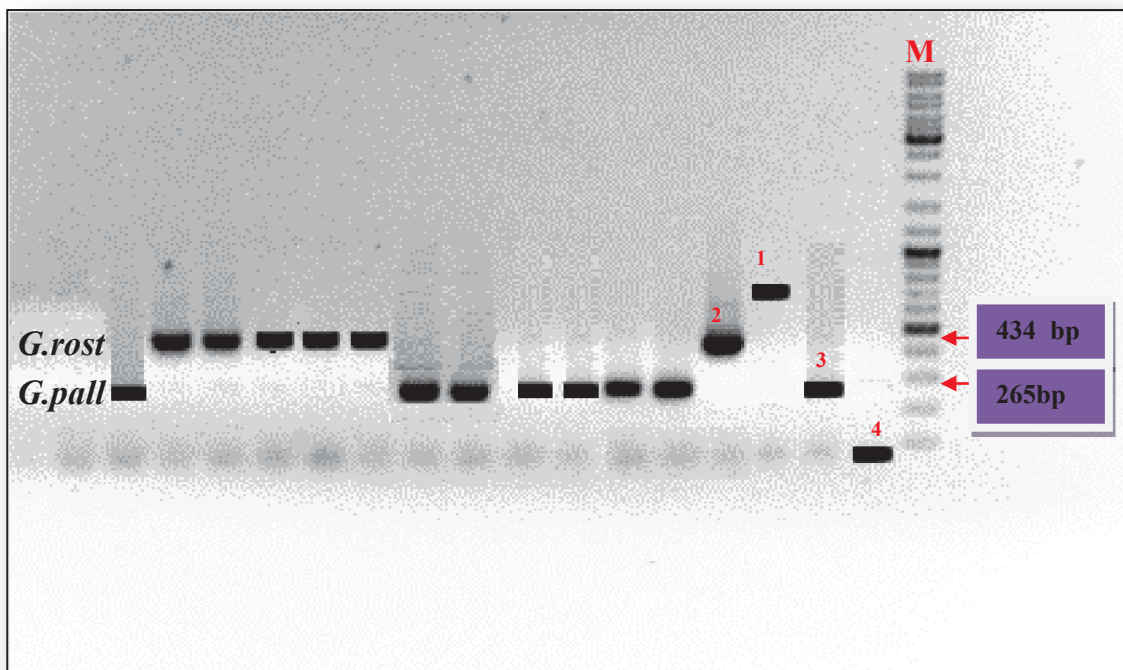


Figure 52: Produit d'amplification de l'ADNr de *Globodera pallida* et de *Globodera rostochiensis* (Original)

G.rost : *Globodera rostochiensis*/ *G.pall.* : *Globodera pallida*/ M : marqueur moléculaire 100 bp. Témoins / 1 : *Heterodera sp.* / 2 : *G.rostochiensis*/ 3 : *G.pallida*/ 4 : eau.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

La PCR spécifique nous a permis de tracer une cartographie concernant la distribution de ces deux espèces dans les douze wilayas étudiées qui sont représentées par trente régions à travers le territoire algérien (Figure 53).

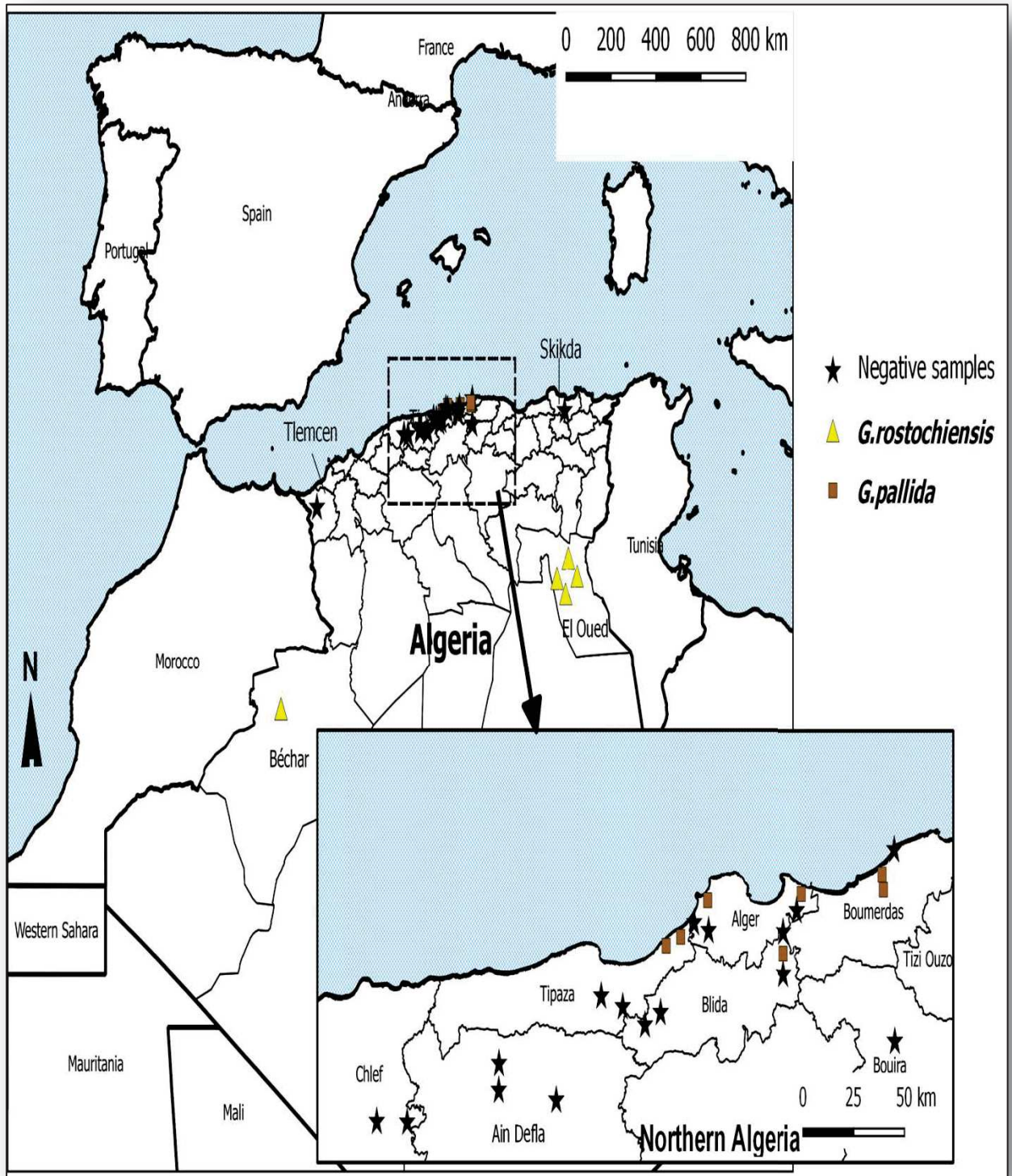


Figure 53: Carte de l'Algérie montrant la distribution des *Globodera rostochiensis* et des *Globodera pallida* dans les différents sites étudiés (Original)

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

L'amplification de l'ITS ADNr de *G. pallida* et *G. rostochiensis* a donné un fragment unique d'environ 1100 pb (Figure 54), et l'amplification correspondant au gène *cytb* de l'ADNmt de *G. pallida* a montré un seul fragment d'environ 1000 pb. Aucune diversité intraspécifique de séquence n'a été trouvée parmi les six séquences de l'ITS ADNr de *G.rostochiensis* (de KY513118 à KY513123) obtenues dans cette étude. De même, la diversité intraspécifique de l'ADNr de l'ITS de *G. pallida* (Tableau14) était très faible et varie de 0,0 à 0,2% (de KY513111 à KY513117) (Tableau 14).

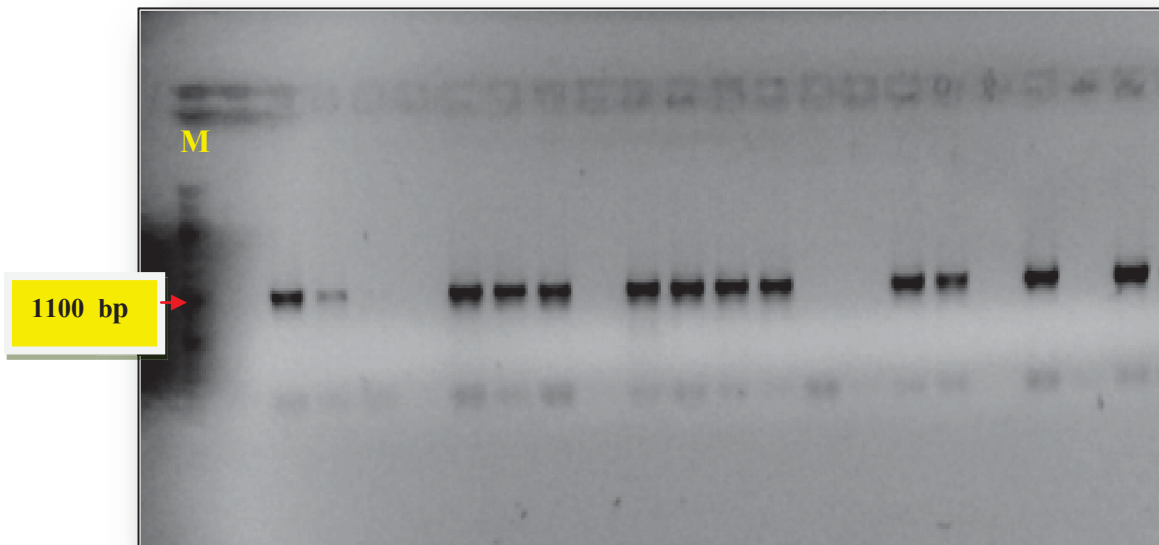


Figure 54: Produit d'amplification du gène de l'ITS ADNr de *Globodera pallida* et de *Globodera rostochiensis* (Original)

M : marqueur moléculaire 100 bp.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

Les résultats de BLAST ont montré que les séquences de l'ITS ADNr de *G. pallida* et de *G.rostochiensis* correspondaient bien à d'autres séquences de ces espèces déposées dans GenBank. La diversité de séquence intraspécifique a été de 0,0 à 1,8% et de 0,2 à 0,9% respectivement pour *Globodera pallida* et *G. rostochiensis*.

Huit nouvelles séquences de *cyt b* gène de *Globodera pallida* ont été obtenues dans la présente étude (de KY513124 à KY513131) et aucune diversité intraspécifique de séquence n'a été trouvée (Tableau 14). Bien que des valeurs élevées de la diversité des séquences intraspécifiques soient fréquentes parmi d'autres séquences de *G.pallida* déposées dans GenBank où les valeurs sont de 0.0% à 11.0% avec les valeurs les plus élevées correspondant aux séquences Sud américaines.

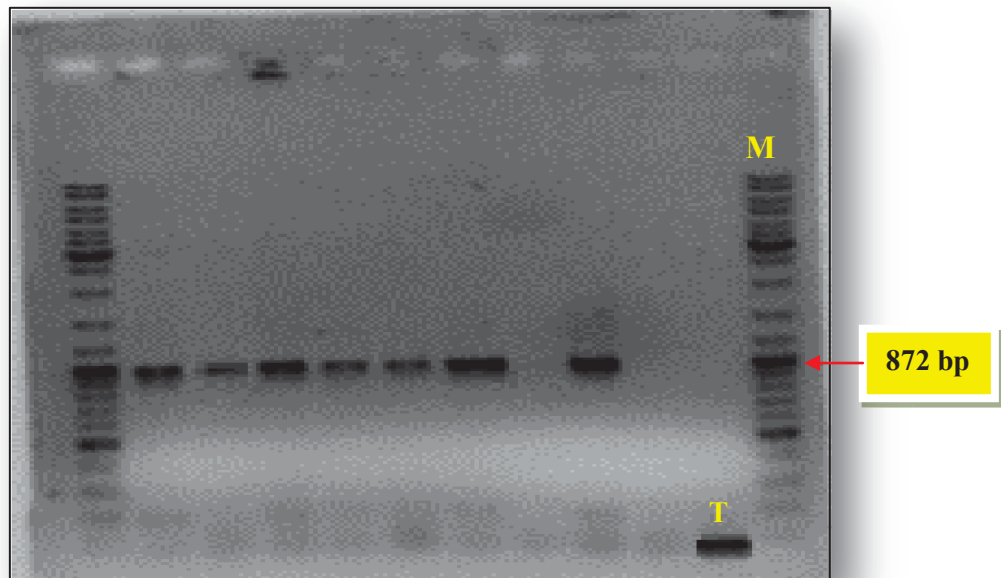


Figure 55: Produit d'amplification du *cyt b* gène de l'ADNmt de *Globodera pallida* (Original)

Témoin : eau/ M : marqueur moléculaire 100 bp.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

Tableau 14: Codes et Origines des *Globodera* utilisés dans notre étude.

Sites	Regions	Coordonnées géographiques	Altitude (m)	L'espèce de nématode	Code de la population	Potato Le cultivar	Accessions de GenBank	
							ITS	<i>cytb</i>
Alger	Staoueli	36°45'5.943''N 2°53'17.446''E	45	<i>Globodera pallida</i>	AC150	Spunta	KY513117	KY513131
	H'Rawa	36°46'6.297''N 3°18'31.24''E	23	<i>G.pallida</i>	AC146	Désirée	KY513113 KY513116	KY513129 KY513130
Boumerdès	Mandoura	36°49'0.001''N 3°40'0.001''E	38	<i>G.pallida</i>	AC121	Désirée	KY513112	KY513126
	Lagata	36°46'45.465''N 3°40'20.873''E	91	<i>G.pallida</i>	AC132	Désirée	KY513115	KY513128
Blida	Meftah2	36°37'11.234''N 3°13'41.513''E	101	<i>G.pallida</i>	AC125	Timate	KY513114	KY513127
Tipaza	Bousmaïl	36°38'17.517''N 2°42'12.087''E	118	<i>G.pallida</i>	AC114	Désirée	KY513111	KY513124
	Douaouda	36°40'42.889''N 2°47'50.148''E	71	<i>G.pallida</i>	AC116	Désirée	*	KY513125
Bechar	Al Abadella	31°0'36.825''N 2°44'35.311''W	780	<i>Globodera rostochiensis</i>	AC136	Désirée	KY513118	-
El Oued (OuedSouf)	Trifaoui1	33°25'10.753''N 6°56'8.426''E	71	<i>G.rostochiensis</i>	AC167	Spunta	KY513121	-
	Trifaoui 2	33°25'10.753''N 6°56'8.426''E	71	<i>G.rostochiensis</i>	AC160	Spunta	KY513122 KY513123	-
	Hassikhelifa1	33°33'36.455''N 6°59'26.59''E	51	<i>G.rostochiensis</i>	AC140	Bartina	KY513119	-
	HassiKhelifa2	33°33'36.455''N 6°59'26.59''E	51	<i>G.rostochiensis</i>	AC157	Spunta	KY513120	-

(-) Non obtenu

(*) Population séquencée mais non disposée au niveau de la base des données GenBank à cause de sa haute ressemblance avec les autres.

2.1.2. Analyse phylogénétique des *Globodera*

La règle de la majorité à 50% regroupe des arbres phylogénétiques générés à partir de l'ITS ADNr et les alignements partiels du gène *cytb* de l'ADNmt sont présentés aux figures 56 et 57. L'arbre BI (inférence bayésienne) de la règle de la majorité à 50% de l'alignement multiple comprenant 212 séquences de l'ITS ADNr et 928 pb de long, a montré deux clades majeurs hautement soutenus (BPP = 100) séparant les deux espèces *G. pallida* et *G. rostochiensis* (Figure 56). Les espèces identifiées comme *G. pallida* occupent une position supérieure dans l'arbre et ont montré une topologie similaire à celle du gène *cytb* de l'ADNmt (Figure 57).

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

En effet, les populations de *G.pallida* de l'ITS ADNr (KY513124 à KY513131) sont toutes classées dans le premier groupe avec d'autres populations ayant des origines du Royaume-Uni, du Canada, d'Europe, du Pérou, et des Etats Unis d'Amérique (USA).

Les séquences ITS-ADNr du Pérou et du Chili ont tendance à regrouper deux sous-clades différents, dont l'un n'est pas bien soutenu, mais certaines séquences du Royaume-Uni et une autre adhésion de l'Algérie (LT159838) appartenant à GenBank sont regroupées dans ces sous-clades.

De même, le deuxième groupe de cet arbre est construit par les souches algériennes de *G. rostochiensis* (de KY513118 à KY513123), du Canada, du Royaume-Uni, du Pérou, des Etats Unis d'Amérique (USA), et d'Europe.

D'autre part, cinq séquences du Pérou se sont regroupées en dehors de ces sous-clades avec des séquences du monde entier. Ces séquences de *G. rostochiensis* ont occupé une position basale dans l'arbre formant un clade majeur unique (PP = 86), tout sous-clade a été montré mais pas bien soutenu (figure 56). Une seule adhésion pour *G.rostochiensis* (GU084809, Bolivie) s'est regroupée séparément.

L'arbre BI du gène *cytb* de l'ADNmt du consensus de la règle de la majorité à 50% d'un alignement édité multiple de *G. pallida* basé sur un alignement modifié multiple comprenant 56 séquences et 1020 caractères totaux a montré trois clades majeurs clairement séparés (PP = 1,00) (figure 57). Le Clade I a regroupé toutes les séquences du gène *cytb* de l'ADNmt des populations de *Globodera pallida* de l'Algérie (de KY513124 à KY513131) correspondant aux régions de Bousmail, de Douaouda, de Mandora, de Meftah, de Legata, de Staoueli et de deux nouvelles séquences de H'rawa accompagné de séquences de l'Europe, du Canada, des États-Unis et de 4 adhésions GenBank du Pérou (AY851639, AY851647, AY851648, AY851641). Clade II et III ont été formés par le reste des séquences du Pérou.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

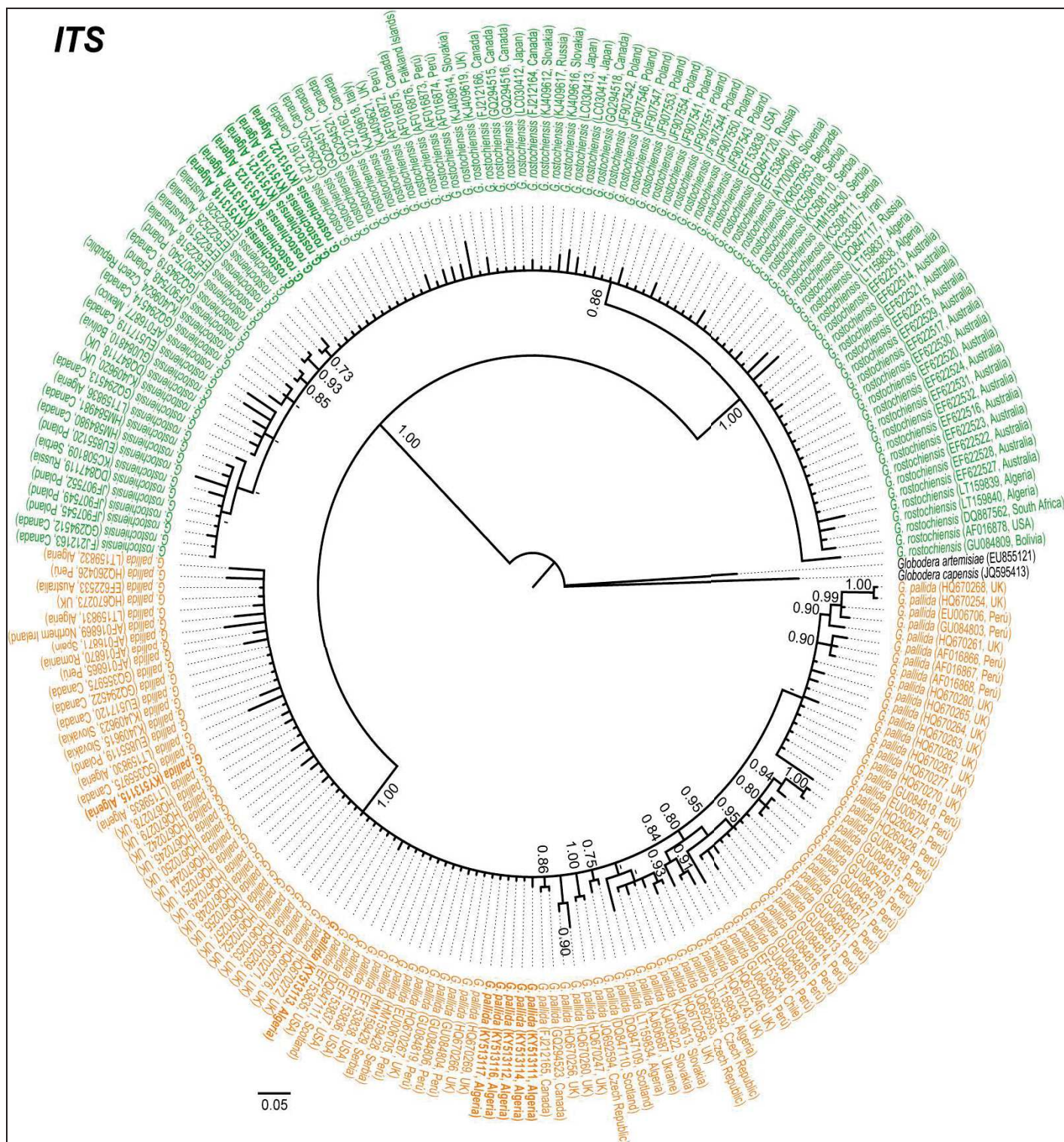


Figure 56: Arbre consensuel bayésienne à 50% de la majorité de l'ITS ADN_r décrivant les relations évolutives entre différentes populations géographiques de NKPT. Alignement sous le modèle GTR+I+G. Des probabilités postérieures supérieures à 70% sont données pour les clades appropriés. Les séquences nouvellement obtenues dans cette étude sont en gras (Original).

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

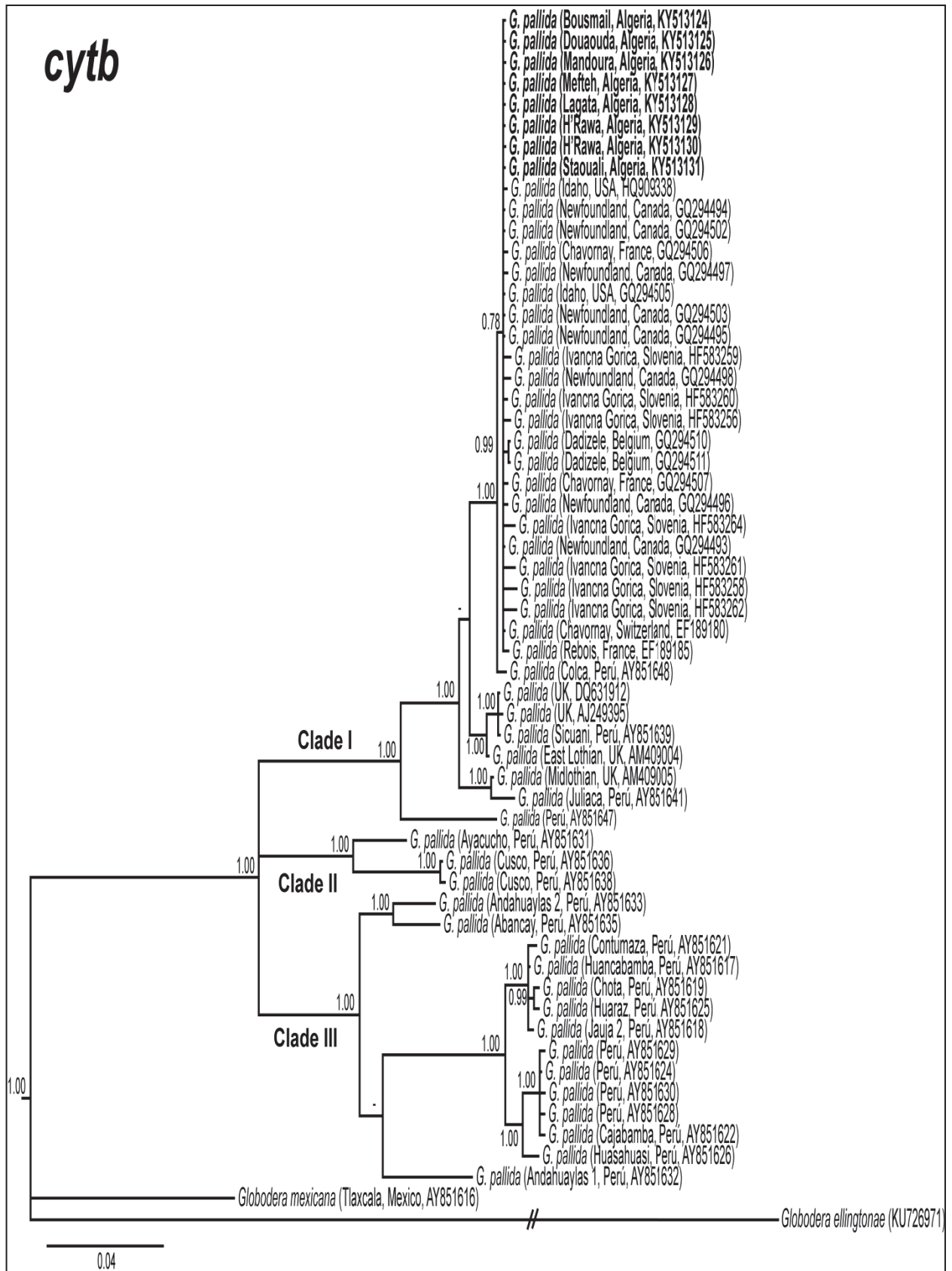


Figure 57 : Arbre consensuel bayésienne à 50% de la majorité du gène *cytb* ADNmt décrivant les relations évolutives entre différentes populations géographiques de *Globodera pallida*. Alignement sous le modèle TIM1+1+G. Des probabilités postérieures supérieures à 70% sont données pour les clades appropriés. Les séquences nouvellement obtenues dans cette étude sont en gras (Original).

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

2.2. Discussion et conclusion

Notre travail fournit de nouvelles informations originales et précieuses sur la répartition et la fréquence des nématodes à kyste de la pomme de terre (NKPT) en Algérie. En effet, c'est la première fois dans notre pays qu'on a réussi à tracer une cartographie sur une large échelle concernant la distribution des nématodes à kyste de la pomme de terre dans trente localités (Nord, Sud, Est et Ouest). Ils sont réparties à travers onze wilayas de l'Algérie, tandis que Tirchi et *al.*(2016) ont caractérisé et identifié des populations de *Globodera* appartenant uniquement à la wilaya de Ain Defla.

Cependant, notre enquête a indiqué la présence des NKPT dans des échantillons de six wilayas et douze localités dont Staoueli, Mandoura, Lagata, H'rawa, Meftah2, Bousmail, Douaouda, Al Abadella, Trifaoui1, Trifaoui2, Hassi Khelifa1 et Hassi Khelifa2.

Cette recherche a montré une séparation claire dans la répartition géographique entre *G. pallida* et *G. rostochiensis*. La première étant plus répandue dans les régions du Nord, alors que la dernière était dominante dans le Sud du pays.

De même, cette étude augmente notre connaissance de la prévalence, de la distribution et de la diversité moléculaire des NKPT en Algérie concernant des études récentes centrées sur cinq localités du nord de la province d'Ain Defla seulement (Tirchi et *al.*, 2016).

C'est intéressant dans notre cas, même en identifiant plus de 5 kystes par localité, seule une population d'une seule espèce par localité a été trouvée, alors que Tirchi et *al.* (2016) ont détecté des populations mixtes basées principalement sur des mesures morphométriques tel que le ratio de Granek.

Deux explications principales pourraient être plausibles pour cette répartition: i) la tolérance majeure de *G. rostochiensis* à des températures plus élevées se développe dans les régions tempérées de l'Algérie, tandis que *G. pallida* pourrait se reproduire mieux à des températures plus basses dans les régions du Nord (Kaczmarek et *al.*, 2014); et ii) l'utilisation répétée de cultivars résistants à *G. rostochiensis* ('Spunta' et 'Bartina') dans la région du Sud. En effet, Jones (1979) affirme que la répartition et la prédominance de l'une des deux espèces dépend de la sensibilité ou de la résistance des pommes de terre cultivées en rotations successives.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

Même en utilisant des cultivars résistants, les régions du Sud ont montré des niveaux d'infestation plus élevés que le Nord, ce qui pourrait résulter d'une sélection de types de pathotypes résistants à ces cultivars, probablement en raison de la monoculture de pommes de terre. Ces cultivars de résistance, 'Spunta' et 'Bartina' sont sensibles à PCN Ro1 et Pa2 et Pa3 respectivement, et aux autres pathotypes dans une moindre mesure (<https://www.hzpc.com>).

La faible diversité moléculaire et leur association avec les populations européennes de NKPT suggèrent que les populations algériennes sont probablement introduites d'Europe vraisemblablement par la pomme de terre infestée en quelques introductions. Ce résultat est différent de la variabilité importante trouvée par Tirchi et *al.* (2016) dans la région ITS, en utilisant pour séquencer des produits de PCR clonés. Par contre, Kleynhans (1998) signale que Frézal a annoncé en 1954 que l'espèce *Globodera rostochiensis* est probablement rentrée en Algérie par le biais des semences de la pomme de terre en provenance d'Angleterre durant le début de 1940.

En effet, notre aboutissement est en harmonie avec pylypenko et *al.*(2008) qui ont découvert que deux populations ukrainiennes apparaissaient très similaires à d'autres populations européennes en termes de leur virulence et au niveau de la séquence partielle du *cytochrome b*.

Madani et *al.*(2010) ont déclaré que l'analyse phylogénétique et celle de la séquence des gènes *cytb* de l'ADNmt et de l'ITS ADNr basée sur l'inférence bayésienne ont révélé que la souche canadienne de *G.pallida* est presque identique à l'europpéenne et à l'américaine.

Dans notre étude, les séquences dépurées étaient basées sur le séquençage direct de PCR, n'obtenant que les haplotypes majoritaires présents dans les génomes. Le clonage et le séquençage des produits de PCR pourraient montrer une plus grande variabilité intra-individuelle en raison de la variation intra-génomique dans les répétitions ribosomales, alors que dans notre cas, seule la répétition majoritaire a été séquencée. En fait, il a été démontré que ce locus est affecté par le processus d'évolution concertée, qui est une force homogénéisante dans les répétitions de l'ADNr dans un génome (Dover, 1982).

Les résultats de cette enquête ont révélé la prévalence différentielle et la distribution de *G.rostochiensis* et *G.pallida* dans les zones de production de pommes de terre en Algérie, ainsi que l'identification moléculaire et leur relation phylogénétique avec les populations européennes.

IV. Caractérisation moléculaire des *Globodera* de différentes régions de l'Algérie

La forte infestation des nématodes dorés de la pomme de terre (NKPT) dans certaines régions, même en utilisant des cultivars résistants, fait de cette espèce une grave menace pour la production de pommes de terre, en particulier dans le sud du pays. Ce qui est considéré aujourd'hui parmi les premières zones de production de pommes de terre en Algérie. Pour cette raison, il faut souligner l'identification correcte des espèces de nématodes afin de trouver les méthodes de contrôle les plus appropriées. Ils devraient utiliser les méthodes de production de cultures naturelles de sécurité comme cultivars, rotations et contrôles biologiques résistants à l'aide de bactéries, de champignons et d'extraits végétaux. Des études supplémentaires sur ces nématodes de régions plus variables et plus informatives, en particulier dans le Sahara algérien, sont nécessaires pour permettre la construction d'une image plus complète de la distribution de nématodes à kystes associés à la culture de la pomme de terre en Algérie.

CHAPITRE V

EVALUATION DE L' EFFICACITÉ DE *BACILLUS SP.* ET DES EXTRAITS AQUEUX
DE CERTAINES PLANTES CONTRE *GLOBODERA PALLIDA*

**Chapitre V: Évaluation de l'efficacité de *Bacillus sp.* et des extraits aqueux de certaines plantes contre *Globodera pallida* (Stone, 1973) Behrens, 1975
(*Nematoda* : *Heteroderidae*)**

Objectif

L'objectif de notre travail consiste à déterminer l'effet nématocide de quelques extraits obtenus à partir des plantes. Il s'agit de l'if commun *Taxus baccata* (*Taxaceae*), et de genévrier de Phénicie *Juniperus phoenicea* (*Cupressaceae*). À ceux-ci s'ajoute un bionématocide à base de bactérie *Bacillus sp.* (le NOVI- BIOTEC 7996). Les observations sont faites *in vitro* sur la mortalité des larves du deuxième stade (L₂) des nématodes de la pomme de terre *Globodera pallida*, et sur le potentiel d'éclosion des œufs. L'activité nématocide est également testée sur le développement de ces parasites sur une culture de pomme de terre (*Solanum tuberosum*) *in vivo*.

1. Matériels et méthodes

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Le nématode : kystes et larves

Le matériel biologique utilisé au cours de notre expérimentation est l'espèce *Globodera pallida* identifiée antérieurement par des procédés moléculaires (PCR, ITS rDNA et *Cytb* gène de mtDNA) dans le chapitre IV. Les kystes de cette espèce sont collectés durant la campagne 2013-2016. Ils sont extraits à partir du sol naturellement infesté de la région de Staoueli par la méthode de Fenwick (Fenwick, 1940). Ces derniers sont stockés quatre mois au minimum à une température équivalente à 4° C avant leur utilisation (Figure 58). De même, les larves L₂ ont été mises à éclore en trempant des kystes de *Globodera pallida* dans de l'eau distillée pendant 48 H à une température de 20 ±1 °C, suivi par une période d'incubation de 7 jours dans les exsudats racinaires de la pomme de terre. Les kystes sont gardés à l'obscurité afin de stimuler l'éclosion.



Figure 58 : kystes de *Globodera pallida* mise à éclore (Original)

1.1.2. La composition du produit nématocide NOVI-BIOTEC 7996

C'est un bionématicide vivant composé d'un mélange de deux souches bactériennes compatibles à savoir : *Bacillus thuringiensis* (de 20 à 50%) et *Bacillus sphaericus* (de 50 à 80%). Cette suspension a une action ovicide synergique sur les différents groupes de nématodes phytoparasites. Ce produit est appliqué avant ou après la culture de pomme de terre à raison de 10 ml de produit par m². A partir de cette dose, plusieurs dilutions sont effectuées afin de les utiliser dans notre étude (Figure 59).



Figure 59 : Suspension bactérienne (Original)

1.2. Matériel végétal

1.2.1. Origine des plantes

Les plantes testées au cours de notre expérimentation appartiennent à deux familles: Les *Taxaceae* (Taxacées) représentée par l'if commun (*Taxus baccata*), et les *Cupressaceae* (Cupressinées) représentée par le Genévrier de Phénicie (*Juniperus phoenicea*) en provenance du parc National de Chréa (Figure 60).



Figure 60: Les plantes broyées utilisées dans notre étude (Original)

1.2.2. Caractéristiques des plantes étudiées

a) L'if commun (Figure 61)

L'If commun ou *Taxus baccata* L. (Taxous en Arabe) est une espèce non résineuse de la Famille des *Taxaceae* (ifs) (Taxales, Taxopsida). *Taxus* vient du nom latin « hyfe » ou bien tissu car on confectionne des vêtements à partir de ses fibres de bois, ou bien « taxis » allusion à la disposition très régulière des feuilles sur les rameaux de la plante. Le nom d'espèce *baccata* lui a été donné à cause de sa semence entouré d'une enveloppe rouge en forme de baie (Guide illustré de la flore algérienne, 2009). C'est un arbre à croissance lente qui peut atteindre 20 m de hauteur, dioïque à tronc unique ou multiple, à écorce écailleuse, brun rougeâtre, à branches nombreuses et étalées. Les feuilles en aiguilles aplaties et molles, sont disposées presque dans un plan (subdistique) sur des rameaux verts striés par des pétioles foliaires. La face supérieure est d'un vert très foncé, la face inférieure présente deux bandelettes stomatiques vert jaunâtres. Les fleurs minuscules, dioïques apparaissent entre le mois d'Avril et Mai. Les males en chatons et les

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

femelles isolées le long des rameaux. L'ovule, solitaire et dressé, conduit à une graine noire, entourée d'une coupe charnue, rouge, ouverte au sommet (l'arille). La semence est toxique et son ingestion peut être mortelle (Couplan et Styner, 1994; Bruneton, 2005; Augereau, 2008). Ce conifère est très répandu dans le bassin méditerranéen, l'Europe, le Moyen-Orient, et l'Afrique du Nord. Il est présent de manière ponctuelle dans les forêts algériennes (l'Atlas Blidéen, le Djurdjura, les Babors et les Aurès) où elle peut être trouvée jusqu'à 1500 m. Sa longévité peut dépasser les 1000 ans (Bruneton, 2005; Guide illustré de la flore algérienne, 2009; FAO, 2012). L'ivaie (peuplements d'ifs), dont la toxicité pour l'Homme et les animaux domestiques est connue depuis la plus haute Antiquité, fournissent trois molécules diterpéniques antitumorales (contre les cancers); la paclitaxel, le docétaxel et le cabazitaxel, plus d'autres composés comme le taxol, la taxine, le baccatine III et dérivé (Bruneton et Poupon, 2016). De même sa décoction fut parfois utilisée comme abortif, ce qui donna lieu à de nombreux et fatals empoisonnements. Il engendre des troubles digestifs, nerveux, respiratoires, et cardiovasculaires pouvant entraîner la mort. Toutes les parties de l'if sont mortelles à dose relativement faible, la sensibilité à l'if varie selon l'espèce animale, la dose mortelle pour un bovin s'établit à 0.36-0.7g/kg et de 0.4 g/kg chez une chèvre (Couplan et Styner, 1994; Bruneton, 2005).



Figure 61: *Taxus baccata* L. (Original)

b) Le Genévrier de Phénicie (Figure 62)

Le Genévrier de Phénicie ou *Juniperus phoenicea* L. (Genévrier de Lycie, rouge, ou Cade endormi, et en arabe Araar) est une espèce de la famille des *Cupressaceae*. *Juniperus* vient du nom celtique qui signifie « âpre » allusion à la saveur des fruits de la plante. Il désigne le genre qui comprend environ une cinquantaine d'espèces d'arbustes ou arbres persistants à la croissance lente. Le nom d'espèce *phoenicea* fait référence au phénix « rouge pourpre » qui est la couleur des fruits rouges sur les arbres femelles. C'est un Arbrisseau ou arbuste atteignant 6 à 8 m, à port en fuseau trouvé dans les régions montagneuses. Cette espèce est caractérisée par un tronc dont l'écorce s'exfoliant en longue lanières. Les feuilles ovales et sillonnées sur le dos qui sont écailleuses, et étroitement imbriquées sur 4-6 rangs. Les fleurs apparaissent en fin de février et début avril sont minuscules dont les mâles et les femelles sont sur des pieds différents. Les cônes (pseudo- fruit) sur les arbres femelles sont globuleux, de 5 à 7 mm de diamètre, charnus, et rougeâtres à maturité (Couplan et Styner, 1994). Le genévrier rouge est largement répandue en Méditerranéen, en Afrique du Nord jusqu'à l'Arabie Saoudite et les îles Canaries. En Algérie, elle compose la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès, l'Atlas saharien. Elle se trouve aussi dans l'Atlas Blidéen jusqu'à 1800 m d'altitude (Lebreton et Pérez de Paz, 2001). Le Cade contient majoritairement des carbures monoterpéniques, sesquiterpéniques, flavonoïdes et des diterpènes (Couplan et Styner, 1994). *Juniperus phoenicea* est une espèce toxique, chose qui la diffère de *Juniperus oxycedrus* qui est comestible. Elle est utilisée en médecine traditionnelle comme abortif, et pour soigner le diabète, les diarrhées, les verres intestinaux, et le rhumatisme sous forme de décoction. Tandis que la poudre des fruits séchés peut guérir les ulcérations de la peau et les abcès. De même, elle est utilisée en cosmétique et en parfumerie (Couplan et Styner, 1994 ; Bruneton et Poupon, 2016).



Figure 62: *Juniperus phoenicea* L. (Original)

1.2.3. Préparation des exsudats racinaires de la pomme de terre (Figures 63)

Les exsudats racinaires sont préparés à partir des racines de pomme de terre, variété Désirée âgées de 4 à 5 semaines. La sélection de ce cultivar est due à sa sensibilité au nématode du genre *G. pallida* (Evans et Haydock, 2000). Environ 20 g de ces racines sont broyées dans un mortier. Le broyat est filtré (filtre Wattman) pour éliminer tous les débris végétaux existants. Les exsudats collectés sont ensuite complétés par 1500 ml d'eau distillée. Ils sont conservés dans des bouteilles en plastiques à 4°C, puis gardés à l'obscurité en vue de leur utilisation ultérieure.

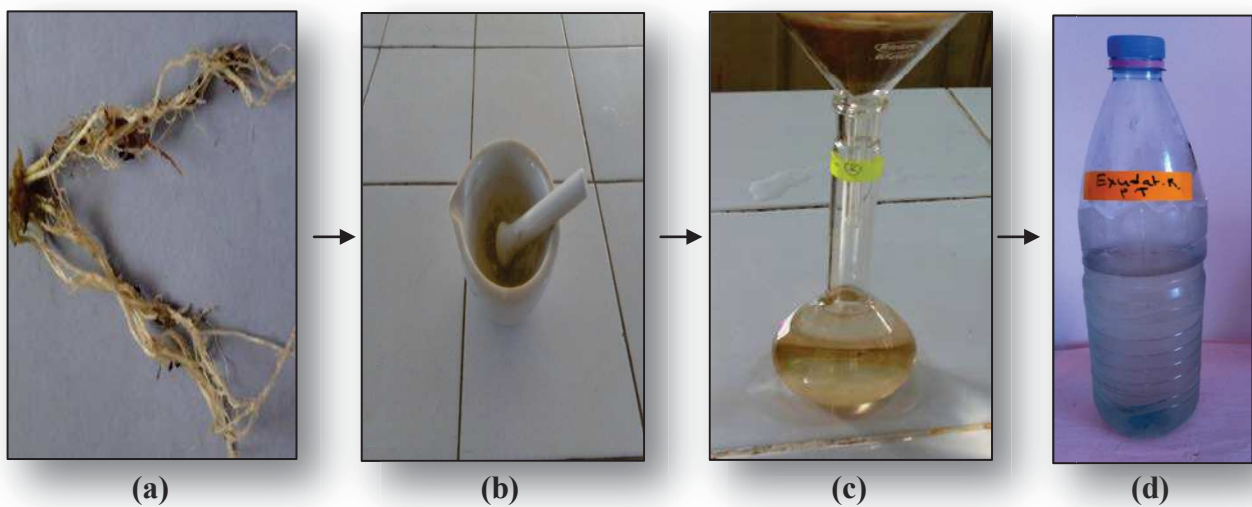


Figure 63: Préparation des exsudats racinaires de la pomme de terre (Original)

(a): racine de pomme de terre variété Désirée. **(b):** racine de pomme de terre broyée dans un mortier.
(c): broyat filtré. **(d):** exsudats racinaires complétés par l'eau distillée.

1.2.4. Extraction de la solution biologique à partir des feuilles (Figure 64, 65)

Plusieurs méthodes sont utilisées pour l'extraction des végétaux, soit à partir de l'eau, soit à partir de l'alcool. Celle que nous avons utilisée est une modification de la méthode standard préconisée par Sasanelli et Di Vito (1991). Elle consiste à faire broyer après séchage pendant 7 à 10 jours en couche mince, à l'air libre et à l'abri du soleil des feuilles des plantes à tester. Les poudres sont macérées dans de l'eau distillée à raison de 25 g pour 150 ml pendant 24 heures. Les solutions obtenues sont filtrées à travers un tissu de tulle, puis à travers un papier Wattman, ensuite centrifugées à raison de 12000 tours/minutes pendant 5 minutes pour obtenir une solution claire dans laquelle les kystes et les larves écloses seront visibles. Elles constituent la solution standard « S » ou la solution biologique à partir de laquelle des dilutions ont été réalisées.



Figure 64: Extraction de la solution biologique à travers un tissu de tulle (Original)



Figure 65: Extraction de la solution biologique à travers le papier Wattman (Original)

1.3. Effet de différents extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur la mortalité des larves L₂ de *Globodera pallida* (Figure 66, 67)

Ce test nous permettra de montrer l'efficacité des plantes testées sur la mortalité des larves de *Globodera pallida*. Un inoculum de 100 larves L₂ écloses de *Globodera pallida* est placé dans des boîtes quadrillées de 5 cm de diamètre avec 5 ml de chaque solution des extraits foliaires à des concentrations de 10.4, 20.8, 41.7, 83.5 et 167 mg/ml, et à des concentrations de 6.25, 12.5, 25, 50 et 100 µl/ml pour les solutions de la suspension bactérienne (le bionématicide). Pour chaque traitement, nous avons réalisé 5 répétitions. Le taux de mortalité est déterminé après 24, 48 et 72 heures. Le comptage des larves mortes a été fait à l'aide d'un compteur sous une loupe binoculaire. L'effet de ces extraits foliaires est comparé aux témoins représentés par l'eau distillée, et les exsudats racinaires de pomme de terre (ERP). Le dispositif est gardé en obscurité à une température de 20 ±1°C. Toute larve qui est immobile au toucher par la pointe de l'aiguille est considérée comme morte. En plus de cette observation initiale de la mortalité, on rajoute de l'eau distillée à ces solutions biologiques et on les laisse pendant 24 H. Cette durée nous permet de confirmer si les larves sont mortes ou non.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Les résultats sont exprimés en pourcentage de mortalité selon la formule suivante :

$$\text{Le pourcentage de mortalité \%} = \frac{\text{Nombre de nématodes morts}}{\text{Nombre total de nématodes}} \times 100$$

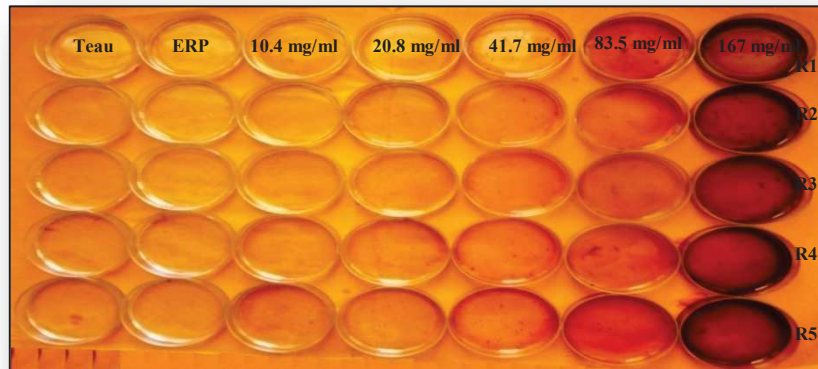


Figure 66: Test des différents extraits foliaires sur la mortalité des larves L₂ de *Globodera pallida* (Original)

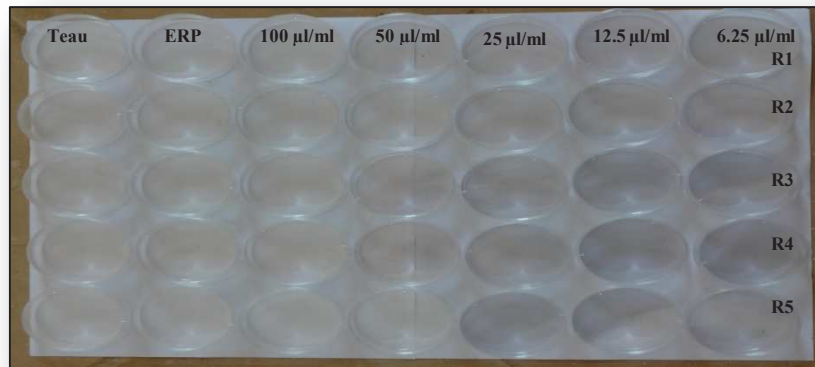


Figure 67: Test des différentes dilutions du produit nématocide sur la mortalité des larves L₂ de *Globodera pallida* (Original)

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

1.4. Effet des différents extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur l'éclosion des larves de *Globodera pallida* (Figures 68, 69, 70, 71)

Ce test nous permet de déterminer l'action des différents extraits aqueux testés sur l'éclosion des œufs de *Globodera pallida*. Des kystes de *Globodera pallida* sont trompés dans de l'eau distillée pendant 48 H, puis 5 kystes pleins par éclosoir sont exposés pendant deux semaines à 5 ml de chaque solution obtenue à partir des plantes testées à des concentrations de 10.4, 20.8, 41.7, 83.5 et 167 mg/ml, et à des concentrations de 6.25, 12.5, 25, 50 et 100 µl/ml pour les solutions de suspension bactérienne (le bionématicide Novi-Bio). L'eau distillée et les exsudats racinaires de la pomme de terre (ERP) sont considérés comme témoins. Durant cette période, les extraits des plantes et les témoins sont contrôlés pour la présence des larves écloses. Par la suite, les éclosoirs contenant les kystes sont transférés dans des exsudats racinaires de la pomme de terre pendant 6 semaines. Le dispositif est gardé en obscurité à une température de 20 ± 1 °C. Pour chaque traitement, nous avons réalisé 05 répétitions. Le comptage des larves écloses a été effectué après chaque semaine sous loupe binoculaire.

Nous avons procédé à l'écrasement des kystes après 6 semaines d'incubation afin de compter le nombre de larves non écloses. Nous avons calculé le nombre total du contenu des kystes, et le pourcentage de l'éclosion. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de l'éclosion.

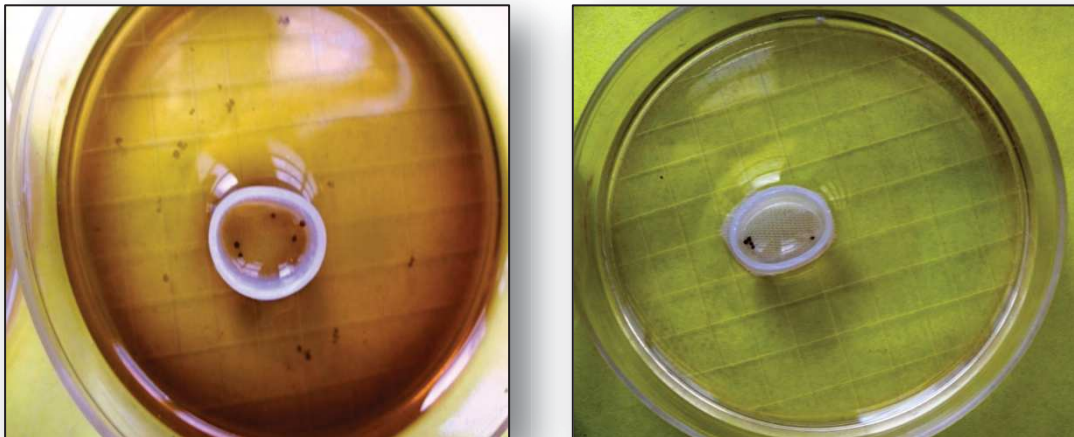


Figure 68: Eclosoirs contenant 5 kystes (Original)

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

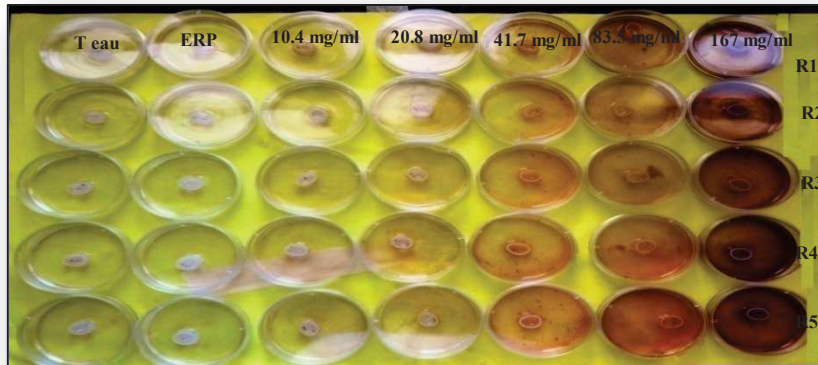


Figure 69: Test de différents extraits foliaires sur l'éclosion des œufs de *Globodera pallida* (Original)

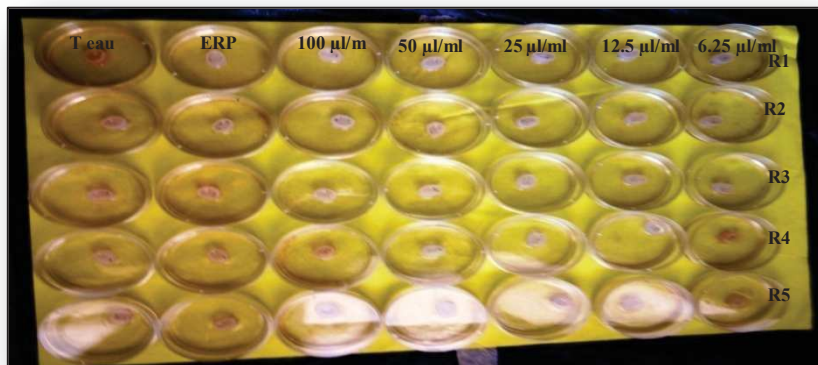


Figure 70: Test de différentes dilutions du produit biocide sur l'éclosion des œufs de *Globodera pallida* (Original)

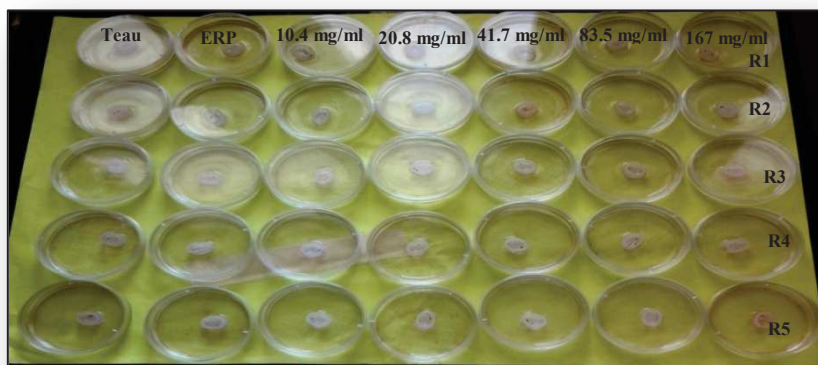


Figure 71: Transfert et immersion des kystes dans les exsudats racinaires de pomme de terre (Original)

1.5. Effet des extraits foliaires de *Taxus baccata*, de *Juniperus phoeniceae*, et de *Bacillus sp.* sur le développement de *Globodera pallida* sur pomme de terre

1.5.1. Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Nous rappelons que la variété Désirée a été retenue pour notre essai en raison de sa sensibilité aux *Globodera pallida*. Elle est également utilisée par les agriculteurs (Figure 72).



Figure 72: Pomme de terre Variété Désirée (Original)

2. Matériel biologique

La population de *Globodera pallida* utilisée lors de notre essai est celle obtenue à partir des échantillons en provenant des sols infestés de la région de Staoueli.

1.5.2. Mode opératoire

L'essai a été réalisé dans des pots en plastique d'une capacité de 250 g remplis avec du terreau stérilisé.

1. Préparation des plantules

Environ 5 kg de la pomme de terre « variété Désirée » sont conservés dans un local bien aéré, et éclairci afin de stimuler la germination des tubercules pour faciliter la manipulation lors de la plantation.

2. Repiquage

Des bourgeons germés de 10 mm de diamètre sont récupérés à partir des tubercules de pomme de terre. Ils ont été repiqués à raison d'un seul bourgeon par pot pour le traitement après plantation. En ce qui concerne le traitement avant plantation, et le traitement avant et après plantation, le repiquage a été réalisé dix jours après l'application du traitement. Les pots ont été couverts avec un film plastique pour les deux derniers traitements.

3. Inoculation

Quelques jours après le repiquage des bourgeons, et l'apparition des premières émissions racinaires, les plantules ont été inoculées par les kystes de *Globodera pallida* à raison de 10 kystes enveloppés dans un petit sac en tulle, attachés à un fil et enfouie au milieu du sol à une profondeur de 6 cm par pot (Figure 73).



Figure 73: Préparation et enfouissement des sacs à kystes de *Globodera pallida*

4. Traitement

Une semaine après l'inoculation, 5 ml des extraits foliaires de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea* à la concentration 167 mg/ml, ainsi que de la suspension bactérienne aux concentrations 44.2, 88.4 et 176.9 $\mu\text{l/ml}$ ont été appliqués pour chaque traitement à raison de 5 répétitions au niveau de chaque pot (Figures 74, 75, 76, 77, 78). Il est à noter que la dose recommandée en plein champ du produit nématicide est de 10 ml de produit par m^2 .



Figure 74: Dilutions de la suspension bactérienne (Original)



Figure 75: Dilutions des extraits foliaires (Original)



Figure 76: Traitement avant plantation (Original)



Figure 77: Couverture des pots avec un film en plastique (Original)

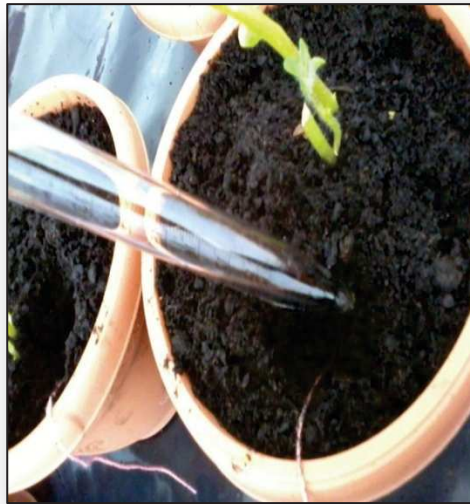


Figure 78: Inoculation et traitement après plantation (Original)

1.5. 3. Dispositif expérimental (Figures 79, 80)

Le dispositif expérimental est un bloc aléatoire complet comprenant les traitements suivants:

***Traitement avant plantation:**

- Traitement avant plantation par la solution biologique de *Taxus baccata* à une concentration de 167 mg/ml.
- Traitement avant plantation par la solution biologique de *Juniperus phoenicea* à une concentration de 167 mg/ml.
- Traitement avant plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration (S/2) de 44.2 μ l/ml.
- Traitement avant plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration (S) de 88.4 μ l/ml.
- Traitement avant plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration (2S) de 176.9 μ l/ml.

***Traitement après plantation**

-Traitement après plantation par la solution biologique de *Taxus baccata* à une concentration de 167 mg/ml.

-Traitement après plantation par la solution biologique de *Juniperus phoenicea* à une concentration de 167 mg/ml.

-Traitement après plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration de 44.2 µl/ml.

-Traitement après plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration de 88.4 µl/ml.

-Traitement après plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration de 176.9 µl/ml.

***Traitement avant et après plantation**

-Traitement avant et après plantation par la solution biologique de *Taxus baccata* à une concentration de 167 mg/ml.

-Traitement avant et après plantation par la solution biologique de *Juniperus phoenicea* à une concentration de 167 mg/ml.

-Traitement avant et après plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration de 44.2 µl/ml.

-Traitement avant et après plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration de 88.4 µl/ml.

-Traitement avant et après plantation par la suspension bactérienne à *Bacillus sp.* à une concentration de 176.9 µl/ml.

Le témoin

-Le témoin est composé de la culture de la pomme de terre + les kystes des nématodes. En effet, 5 témoins ont été installés pour chaque traitement.

Enfin, nous avons réalisé 5 répétitions pour chaque traitement, soit un total de 90 pots. Ces pots ont été disposés en bloc aléatoire complet dans une serre, et arrosés régulièrement pendant 90 jours.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Les paramètres retenus pour l'évaluation de l'efficacité des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* vis-à-vis de *Globodera pallida

Dans le présent travail, nous avons visé à déterminer le poids frais des racines de pomme de terre pour chaque traitement. De même, le nombre des kystes de *Globodera pallida* dans le sol a été calculé trois mois après la mise en place de l'essai selon la méthode d'extraction du sol. Cette étude est également accompagnée par l'évaluation du nombre de femelles sur les racines de pomme de terre après la même période.



Figure 79: Dispositif expérimental de l'essai (Original)

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Bloc1	Bloc 2	Bloc 3	Bloc 4	Bloc 5
T1	C8	C4	T1	C9
C8	T5	C9	T1	T1
C5	C9	C5	C8	T1
C7	T1	C2	C5	C9
T5	C8	C6	C8	C4
C6	C6	C1	T1	C6
C2	C7	T6	C3	T7
T5	T1	T4	C4	C5
C3	T1	C1	T3	C2
T3	T7	T4	T1	T6
C1	C3	T1	C7	C9
T6	C4	C3	T3	T2
C3	T2	C6	C2	C7
C4	C5	T7	T1	T5
T7	T3	C7	T4	C1
T5	C2	T1	T2	T6
T3	T1	T7	T4	T2
T1	T2	T4	T6	C1

Figure 80: Dispositif expérimental de l'essai. T1: Témoins, T2 : Traitement 167

mg/ml *Taxus baccata* avant plantation, T3: Traitement 167 mg/ml *Juniperus phoenicea* avant plantation, T4: Traitement 167 mg/ml *Taxus baccata* après plantation, T5: Traitement 167 mg/ml *Juniperus phoenicea* après plantation, T6: Traitement 167 mg/ml *Taxus baccata* avant et après plantation, T7: Traitement 167 mg/ml *Juniperus phoenicea* avant et après plantation, C1: Traitement bionématicide S avant plantation, C2: Traitement bionématicide S/2 avant plantation, C3 : Traitement bionématicide 2S avant plantation, C4: Traitement bionématicide S après plantation, C5: Traitement bionématicide S/2 après plantation, C6 : Traitement bionématicide 2S après plantation, C7: Traitement bionématicide S avant et après plantation, C8: Traitement bionématicide S/2 avant et après plantation, C9 : Traitement bionématicide 2S avant et après plantation. **En jaune** : pots couverts, **En blanc**: pots non couverts.

1.5.4. Analyses nématologiques

a) Extraction des nématodes à partir du sol

Après mélange et homogénéisation des échantillons du sol, 250g de sol sont séchés à l'air libre. L'extraction des kystes se fait par la technique de Fenwick (Fenwick, 1940).

b) Comptage

Après extraction du sol, le comptage des kystes se fait sous loupe binoculaire à l'aide d'un compteur.

1.6. Tests phyto-chimiques préliminaires (ou Screening phytochimique)

Le but de ce test est de connaître la composition des métabolites secondaires des plantes testées au cours de notre étude.

Les tests sont effectués dans le laboratoire du groupe Saïdal (service huiles essentielles), soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé (Pharmacopée Russe, 1991).

1.6.1. Préparation de l'infusé

Environ 20 g de poudre sont mis à infuser dans 100 ml d'eau distillée, puis sont portés à ébullition pendant 15 mn. Après filtration, le filtrat est ajusté à 100 ml d'eau distillée.

1.6.2. Préparation des réactifs

La préparation des réactifs utilisés au cours de cette étude est mentionnée en annexe 4.

1.6.3. Identification des principaux métabolites secondaires des plantes testées.

A- Identification des Anthocyanes

Trois procédés sont utilisés pour la mise en évidence de ces composés :

1. Nous ajoutons quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 5 ml de l'infusé, la réaction donne une coloration rouge en présence d'anthocyane.

2. Nous portons à ébullition 1g de poudre dans 10 ml d'éthanol pendant 10 minutes. Après filtration nous ajoutons le zinc métallique et quelques gouttes d'acide chlorhydrique. La réaction vire au rouge en présence d'anthocyane.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

3. Nous ajoutons quelques gouttes d'ammoniaque 1/2 à 5 ml de l'infusé, la réaction donne une coloration bleue en présence d'anthocyane.

B-Identification des leuco-anthocyanes

Nous additionnons 2 g de poudre à 20 ml d'un mélange de propanol / acide chlorhydrique (1/1). Ces composées sont portés au bain marie bouillant pendant quelques minutes. Une coloration rouge se développe en présence des leuco-anthocyanes.

C- Identification des tanins

Quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 5% sont ajoutées à 5ml de l'infusé, la réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

1. Tanins catéchétiques

Nous mélangeons 15 ml de l'infusé avec 7 ml de réactif de stiasny, la réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchétiques.

2. Tanins galliques

Après filtration et saturation du filtrat par l'acétate de sodium, quelques gouttes de chlorure ferriques sont ajoutées, la réaction donne une coloration bleue foncée en présence des tanins galliques.

D- Identification des flavonoïdes

La réaction cyanhydrique ou l'essai de chinoda lors de la réduction des flavonols, flavonones et flavones par le magnésium métallique en présence de l'acide chlorhydrique donne une coloration rouge orangé en présence de flavonoïdes.

A 5 ml de l'infusé, nous additionnons 5 ml d'acide chlorhydrique, un copeau de magnésium et 1 ml d'alcool isobutanol, la réaction devient rouge orangée en présence de flavonoïdes.

E- Identification des quinones

Nous avons deux types de quinone :

1. Quinone libres

Nous mettons en contact 2 g de poudre végétale humectée avec 2 ml d'acide chlorhydrique pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme. Ce test est réalisé sur le filtrat de ce mélange grâce à 5 ml d'ammoniaque (1/2) comme réactif. La réaction vire au rouge en présence des quinones libres.

2. Quinone combinées

A 2 g de poudre végétale, nous additionnons 5 ml d'acide sulfurique 2 N porté à reflux pendant 2 heures, la solution extractive est filtrée, puis épuisée par 20 ml de chloroforme. La solution chloroformique est évaporée à sec puis reprise par l'ammoniaque. La même réaction est obtenue qu'avec les quinones libres.

F- Identification des saponosides

Leur présence est détectée par 2 procédés:

a) Deux éprouvettes sont utilisées : nous introduisons dans la première 5 ml de d'acide chlorhydrique à 0.1 N, et dans la deuxième 5 ml de l'hydroxyde de sodium à 0.1 N. Nous ajoutons dans chacune deux à trois gouttes de l'infusé, la formation des mousses indique la présence des saponosides.

b) Nous ajoutons à 02 ml de l'infusé quelques gouttes d'acétate de plomb, la formation d'un précipité blanc révèle la présence des saponosides.

G- Identification des alcaloïdes

Nous mettons a macération 5 g de poudre végétale humectée avec 20 ml d'ammoniaque (1/2) pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par de l'acide chlorhydrique 2N. Des réactions de précipitation sont effectuées sur la solution chlorhydrique. En présence d'alcaloïdes, le réactif de Dragendroff donne un précipité rouge.

H- Identification des glucosides

Dans 02 g de poudre végétale, nous ajoutons quelques gouttes d'acide sulfurique. La formation d'une coloration rouge brique, ensuite violette indique la présence des glucosides.

I- Identification des coumarines

Nous introduisons 02 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique, et nous les portons à ébullition pendant 15 minutes à reflux. Après refroidissement, nous filtrons cet extrait. Nous ajoutons à 3 ou 5 ml de filtrat, 10 gouttes de la solution alcoolique de l'hydroxyde de potassium à 10%, et quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10% jusqu'à obtention d'un milieu faiblement acide. L'apparition d'un trouble indique la présence des coumarines.

2. Résultats et discussions

2.1. Résultats

L'efficacité d'un produit biocide est évaluée par la mortalité d'une population donnée. Pour chaque extrait aqueux, le pourcentage moyen de mortalité est calculé. Sachant que dans toute population, il existe une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par un produit toxique. De ce fait, les pourcentages de mortalité doivent être exprimés en pourcentage de mortalité corrigée selon la formule de Schneider-Orelli :

$$\text{Pourcentage de mortalité corrigée MC \%} = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

M1 : pourcentage de mortalité observée dans le témoin.

M2: pourcentage de mortalité observée dans la population traitée.

MC: pourcentage de mortalité corrigée.

Pour étudier la DL50 d'un produit, on procède à une transformation des résultats obtenus au cours de notre essai en probits (Cavelier, 1975).

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Les résultats obtenus dans nos différents essais sont présentés sous forme de droites de régression tracées avec les logarithmes des doses. L'efficacité des extraits aqueux et de la suspension bactérienne testée est effectuée en déterminant:

-La DL 50 de la mortalité : c'est la dose létale de 50% de la population traitée.

-la TL50 de la mortalité : c'est le temps léthal à partir duquel meurt 50% de la population traitée.

2.1.1. Effet des extraits aqueux et de la suspension bactérienne sur la mortalité de *Globodera pallida*

Les résultats consignés dans le tableau 15, et illustrés dans les figures 81, 82, et 83 montrent que les extraits aqueux des plantes testées *Taxus baccata*, *Juniperus phoenicea*, et la suspension bactérienne des *Bacillus* (*Bacillus turingiensis* et *B. sphaericus*) présentent une activité nématicide à l'égard de *Globodera pallida*. Cette activité augmente lorsque la concentration et la période de l'exposition augmentent.

En effet, à une dose plus élevée (167 mg/ml) et après 72 heures de traitement, les pourcentages de mortalité corrigée sont de l'ordre de 86.51% pour l'extrait aqueux de *Juniperus phoenicea*, et atteint 92.97% pour celui de *Taxus baccata*. Après cette même période, et à une dose optimale (100 µl/ml) de *Bacillus sp.*, le taux de mortalité de *Globodera pallida* s'élève à 96%.

Aux doses moyennes (41.7 mg/ml et 83.5 mg/ml) et après 72 heures de traitement, ces pourcentages dépassent 40% et 50% de mortalité chez *Juniperus phoenicea* et *Taxus baccata*. De plus, les *Bacillus sp.* présentent un taux de mortalité de 52% et 74% après 48 heures d'exposition aux doses 25 et 50 µl/ml.

Enfin, aux faibles concentrations des extraits (10.4 mg/ml et 20.8 mg/ml), les taux de mortalité des juvéniles sont inférieurs à 50% après 72 heures de traitement. Ces mêmes résultats sont observés pour les *Bacillus sp* aux concentrations 6.25 et 12.5 µl/ml.

Pour les témoins, la majorité des larves est restée vivante; seulement 2.27% à 6.4% étaient inactives pour l'eau distillée, et de 8.53% à 14.47% pour les extraits racinaires de la pomme de terre (ERP).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Il est à signaler que toutes les doses ont montré une mortalité nettement supérieure à celle des témoins. Ce qui laisse supposer que toutes les doses exceptée la dose 10.4 mg/ml et 20.8 mg/ml des extraits aqueux de *Taxus baccata* ont eu un effet nématocide.

Pour *Juniperus phoenicea*, cette activité nématocide n'est remarquable qu'à partir de la dose de 83.5 mg/ml et 167 mg/ml. L'effet toxique des *Bacillus sp.* sur les juvéniles de *G. pallida* est observé à partir des concentrations 25, 50 et 100 µl/ml.

De même, l'analyse de la variance de l'effet des différents traitements sur la mortalité des larves L₂ de *Globodera pallida* selon le test de Newman-Keuls, montre qu'il ya une différence significative entre *Taxus baccata*, *Juniperus phoenicea* et les *Bacillus* après 72 heures d'exposition aux différentes doses testées. Ces traitements appartiennent aux groupes A, B, et C (Annexes 5).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 15: Effet des extraits aqueux des plantes et de la solution bactérienne testés sur la mortalité des larves (L₂) de *Globodera pallida*.

Traitements testées et période d'exposition	Pourcentage de mortalité corrigée (%)					Probits				
	Doses (mg/ml)					Doses (mg/ml)				
	10.4	20.8	41.7	83.5	167	10.4	20.8	41.7	83.5	167
<i>Taxaceae: Taxus baccata</i>										
24H	22*	28.54	44	57.73	76.47	4.23	4.44	4.85	5.19	5.73
48H	22.35	29.95	46.08	64.75	84.56	4.25	4.47	4.91	5.38	6.02
72H	25.29	37.24	53.86	72.6	92.97	4.35	4.68	5.09	5.6	6.45
<i>Cupressaceae : Juniperus phoenicea</i>										
24H	15.72	25.55	38.21	48.9	66.6	3.99	4.35	4.71	4.96	5.43
48H	17.91	28.11	40.36	53.51	74.6	4.07	4.44	4.76	5.09	5.66
72H	19.3	31.86	44.88	61.86	86.51	4.14	4.52	4.86	5.27	6.11
<i>La bactérie : Bacillus sp.</i>										
	Doses (µl/ml)					Doses (µl/ml)				
	6.25	12.5	25	50	100	6.25	12.5	25	50	100
24H	17.36	33.18	43.95	66.37	87.25	4.07	4.58	4.84	5.43	6.16
48H	21.75	36.34	52.77	74.53	89.81	4.21	4.66	5.07	5.66	6.26
72H	27.69	39.67	62.2	87.79	96	4.41	4.74	5.32	6.16	6.82
<i>Témoin : Exsudats de pomme de terre</i>										
24H	8.53	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48H	12.86	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72H	14.47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Témoin : Eau distillée</i>										
24H	2.27	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48H	4.33	-	-	-	-	-	-	-	-	-
72H	6.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Chaque chiffre représente la moyenne de trois répétitions.

*Chaque traitement était accompagné par ses propres témoins (eau distillée et exsudats racinaires de la pomme de terre PRD). Les chiffres des deux témoins représentent la moyenne générale des trois témoins de chaque traitement.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

L'efficacité de différents extraits aqueux, et de la suspension bactérienne *Bacillus sp.* a été également évaluée par les DL50 représentées par les droites de régressions (tableau 16 ; figures 81, 82, et 83).

L'analyse des DL50 après 72 heures de traitement montre que la DL50 de *Taxus baccata* est inférieure avec une dose de 30.2 mg/ml. Les taux de mortalité obtenus dépassent les 50% (Tableau 16).

La DL50 de *Juniperus phoenicea* est égale à 42.95 mg/ml, elle se situe entre les doses 41.7 et 83.5 mg/ml. En revanche, la DL50 obtenue avec *Bacillus sp.* est égale à 14.6 µl/ml, elle se situe entre les doses testées 12.5 et 25 µl/ml.

Les DL50 obtenues révèlent que parmi les traitements étudiés, *Bacillus sp.* est la plus toxique sur les larves de *Globodera pallida* avec une DL50 égale à 14.6 µl/ml, suivies de l'extrait aqueux de *Taxus baccata* avec une DL50 égale à 30.2 mg/ml. Par contre, *Juniperus phoenicea* montre une efficacité moyenne avec une DL50 égale à 42.95 mg/ml.

Tableau 16: Résultats des DL50 pour la mortalité des larves de *Globodera pallida* après 72 heures d'exposition.

Plantes testées	DL 50 après 72 H
<i>Taxus baccata</i>	30.2 mg/ml
<i>Juniperus phoenicea</i>	42.95 mg/ml
<i>Bacillus sp.</i>	14.6 µl/ml

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

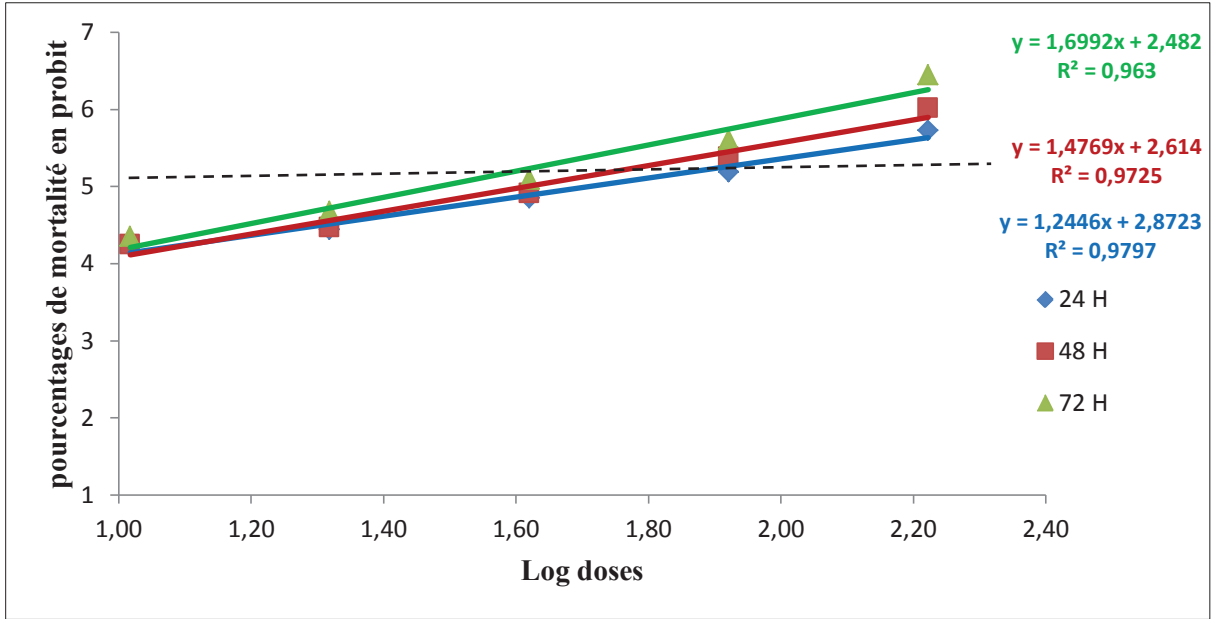


Figure 81: Droite de régression des probits à différentes doses utilisées dans l'extrait aqueux de *Taxus baccata* sur les larves (L₂) de *Globodera pallida*.

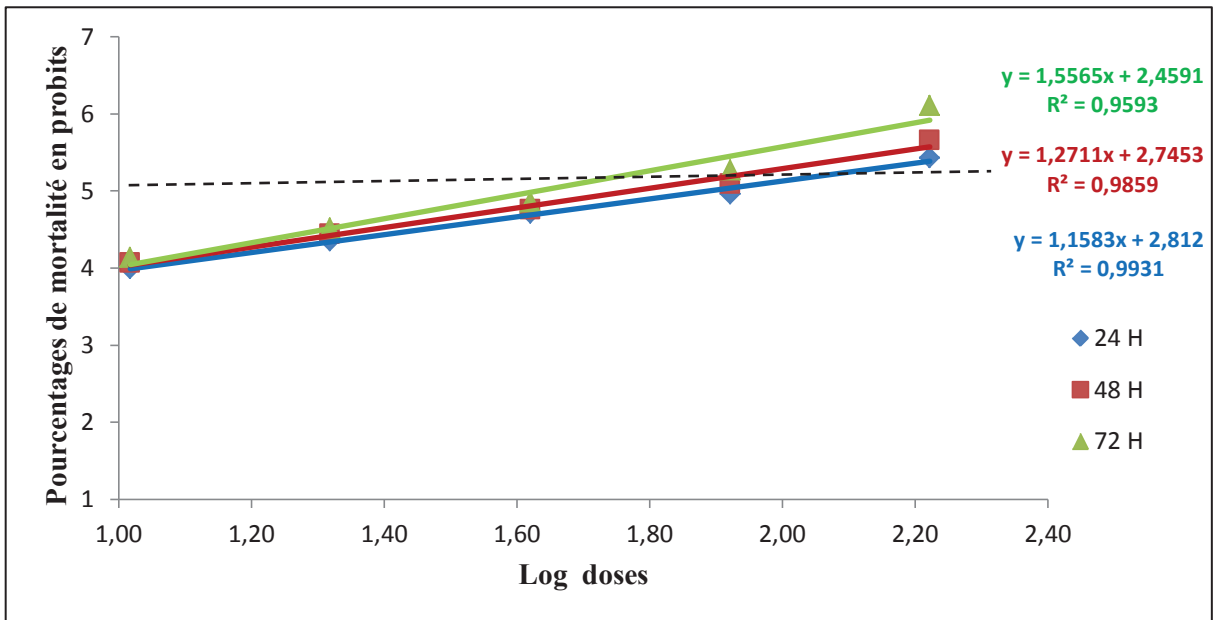


Figure 82: Droite de régression des probits à différentes doses utilisées dans l'extrait aqueux de *Juniperus phoenicea* sur les larves (L₂) de *Globodera pallida*.

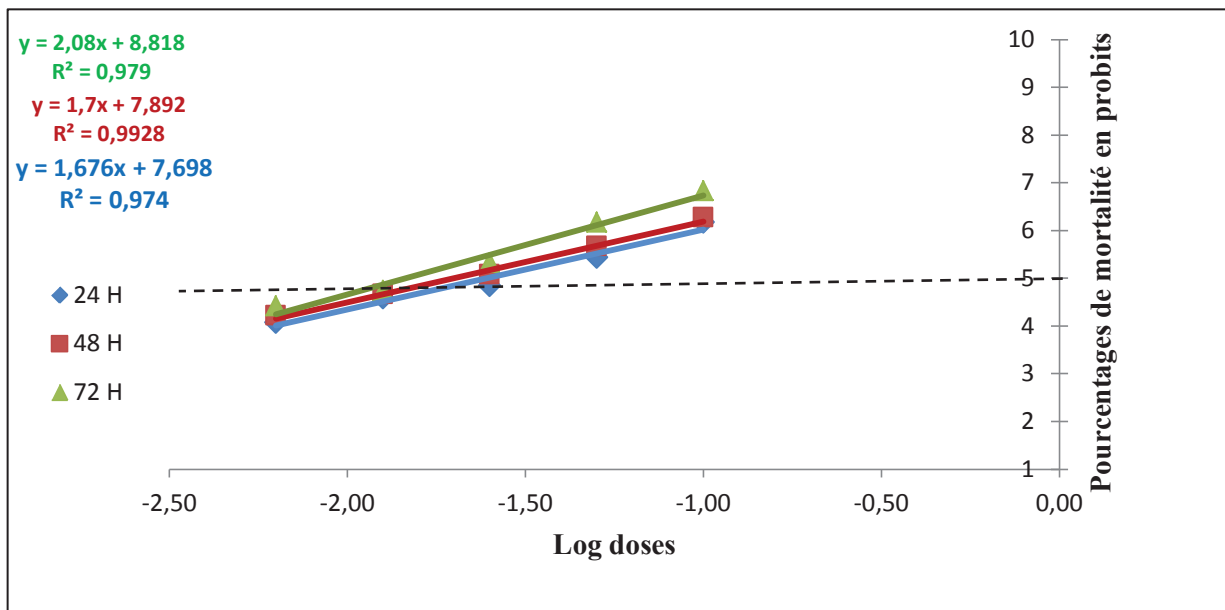


Figure 83: Droite de régression des probits à différentes doses utilisées dans la suspension de *Bacillus sp.* sur les larves (L_2) de *Globodera pallida*.

*La ligne pointillée horizontale représente le point d'intersection avec chaque courbe qui donne la DL50.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

La régression du logarithme du temps en fonction des probits permet de déterminer les TL50 de deux plantes à la concentration 167 mg/ml, et de la bactérie utilisées à la dose de 100 µl/ml (Tableau 17). Nous avons noté que les deux plantes testées ainsi que la bactérie sont dotées d'un effet choc intéressant. L'effet de choc est la mortalité provoquée durant laquelle, il y a 50% de population en moins de 24 heures. Pour *Taxus baccata*, le TL50 (le temps léthal) obtenu est de 7 heures et 56 minutes, alors que l'extrait de *Juniperus phoenicea* provoque 50% de mortalité après 12 heures et 32 minutes. En revanche, ce même taux est enregistré après 3 heures et 19 minutes seulement pour la suspension bactériennes de *Bacillus sp.* Enfin, nous pouvons dire que l'effet choc le plus élevé est enregistré chez les *Bacillus*, suivi de *Taxus bacatta* et de *Juniperus phoenicea* avec une mortalité enregistrée en moins de 24 heures (figures 84, 85 et 86).

Tableau 17: Résultats des TL50 pour la mortalité des larves de *Globodera pallida* dans 167 mg/ml des extrais aqueux, et 100 µl/ml de la suspension bactérienne.

Plantes testées	TL 50 (heures)
<i>Taxus baccata</i> (167 mg/ml)	7 heures et 56 minutes
<i>Juniperus phoenicea</i> (167 mg/ml)	12 heures et 32 minutes
<i>Bacillus sp.</i> (100 µl/ml)	3 heures et 19 minutes

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

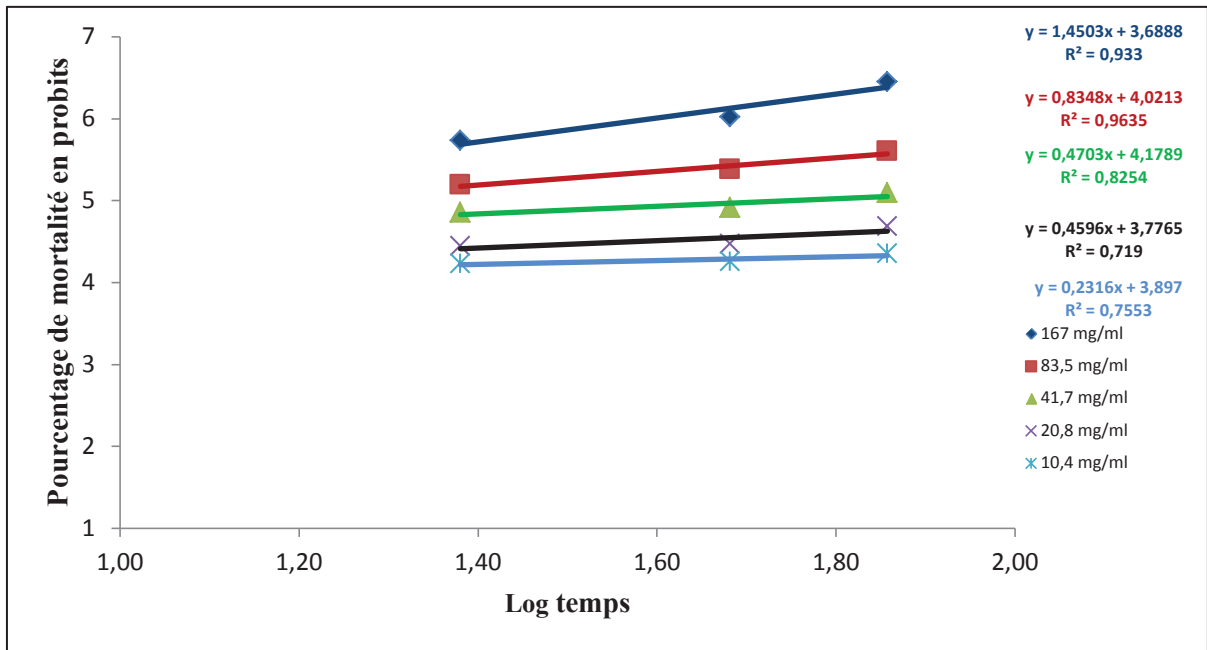


Figure 84: Efficacité de l'extrait aqueux de *Taxus baccata* par rapport aux temps utilisés sur les larves L₂ de *Globodera pallida*.

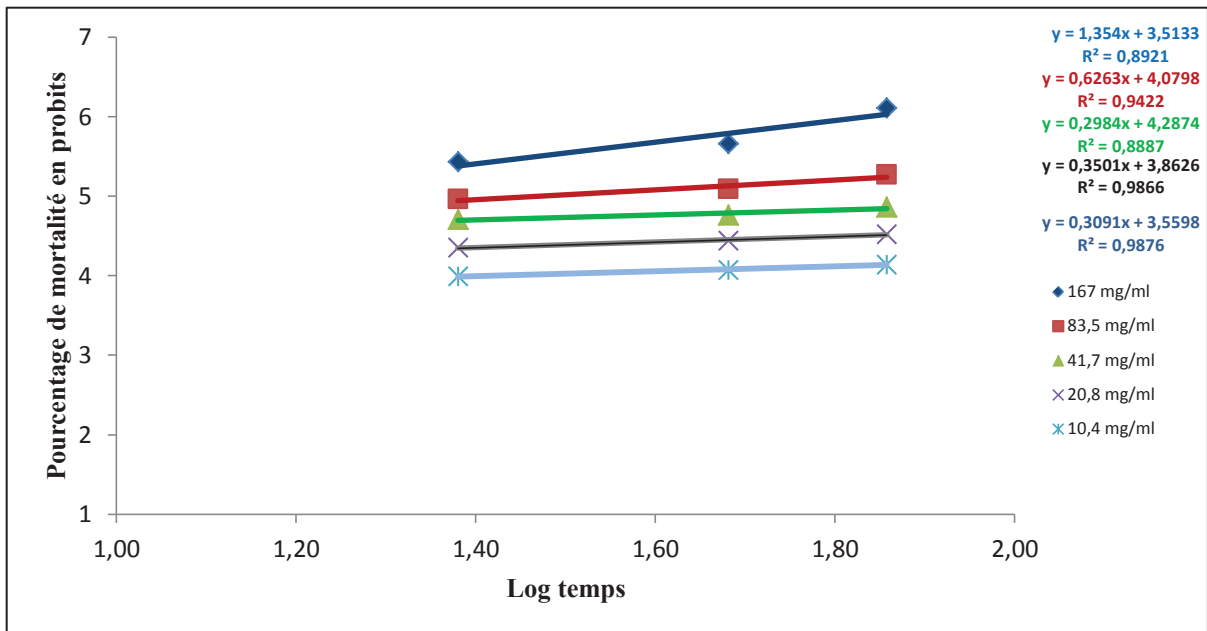


Figure 85: Efficacité de l'extrait aqueux de *Juniperus phoenicea* par rapport aux temps utilisés sur les larves L₂ de *Globodera pallida*.

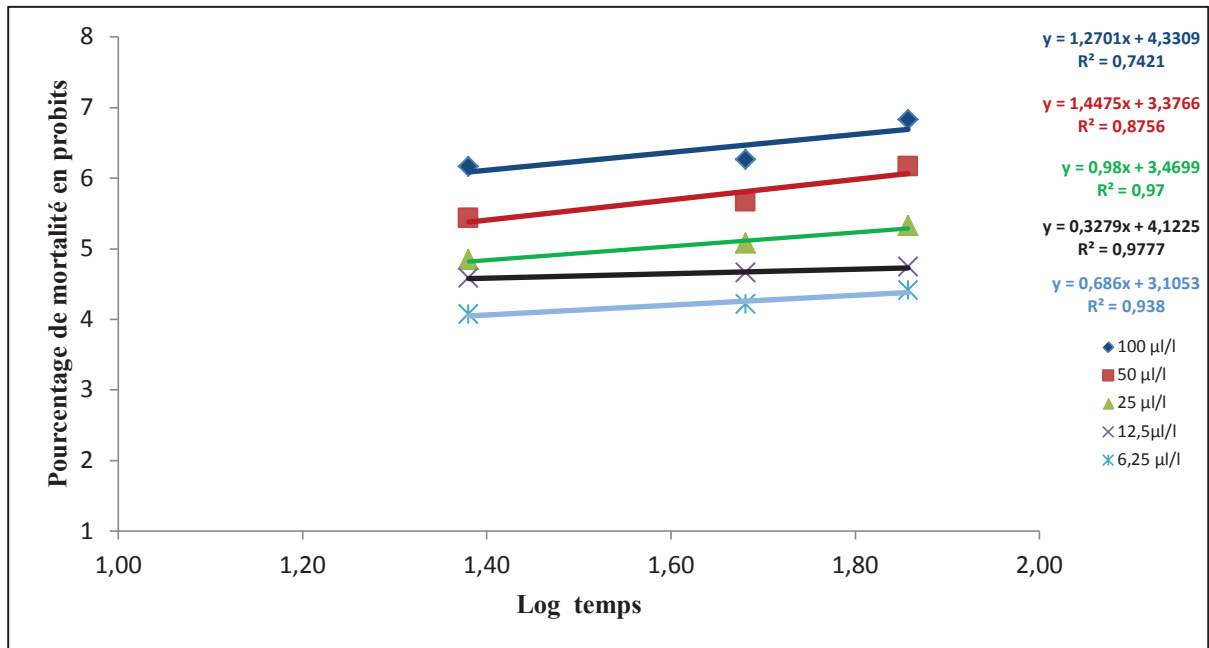


Figure 86: Efficacité de la suspension bactérienne de *Bacillus sp.* par rapport aux temps utilisés sur les larves L₂ de *Globodera pallida*.

2.1.2. Effet de prétraitement des extraits aqueux et de la suspension bactérienne sur l'éclosion des *Globodera pallida*

Le suivi de l'évolution de l'éclosion des kystes de *G. pallida* incubés dans les différentes solutions, l'eau distillée et les exsudats racinaires de la pomme de terre, nous a permis d'établir le total d'éclosion au bout de 6 semaines sous forme de courbes cumulatives (Figures 87, 88, 89).

Ces résultats nous permettent de constater que la courbe cumulative des exsudats racinaires de la pomme de terre est différente de celle de l'eau distillée, et de ceux des extraits foliaires des différentes plantes, et de la suspension bactérienne.

L'analyse des courbes des différents extraits aqueux, et de la suspension bactérienne a permis de mettre en évidence que le total d'éclosion est inversement proportionnel à la concentration. Les solutions testées présentent relativement un nombre de larves éclos faible par rapport au témoin.

Ces données ont été confirmées par la comparaison de moyennes du nombre de larves éclos des différents traitements en utilisant le test de Dunette (Annexes 6). Tous les extraits foliaires testés, ainsi que la suspension bactérienne ont montré une différence hautement significative par rapport au témoin.

Cependant, les résultats représentant les pourcentages d'inhibition de l'éclosion des larves (L_2) de *G. pallida* après 6 semaines d'incubation dans des différents traitements testés sont consignés dans le Tableau 18. Nous relevons que les taux d'inhibition de l'éclosion augmentent en fonction des doses testées.

Le taux d'inhibition le plus élevé a été noté avec la suspension bactérienne *Bacillus sp.* aux concentrations 25, 50, et 100 $\mu\text{l/ml}$ avec 61.84%, 68.26% et 77.32%. Aux faibles concentrations (6.25 et 12.5 $\mu\text{l/ml}$), les *Bacillus* expriment un pourcentage d'inhibition peu négligeable variant entre 35.79% et 48%. De même, aux fortes doses (167 mg/ml), le taux le plus élevé est noté chez l'extrait de *Taxus baccata* avec 76.58%, suivi de celui de *Juniperus phoenicea* avec 65.32%.

Aux doses moyennes 41.7 mg/ml et 83.5 mg/ml, le pourcentage d'inhibition le plus élevé est relevé chez l'extrait de l'if commun (de 60.26% à 67.53%), suivi de celui du Genévrier de Phénicie (de 51.89% à 59.42%). Aux faibles concentrations (20.8 mg/ml et 10.4 mg/ml), ces extraits manifestent un taux d'inhibition nettement inférieur à 50%.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Cependant, le test de Newman-Keuls ne montre aucune différence significative entre les *Bacillus* (aux doses 50 et 100), et l'if commun (aux doses 83.5 mg/ml et 167 mg/ml) qui appartiennent au même groupe B. Ce groupe s'est avéré hautement significatif par rapport au Genévrier qui appartient au groupe A. Par contre aux concentrations (6.25, 12.5 et 25 µl/ml), les *Bacillus* appartiennent au groupe C, alors que les variables if commun et Genévrier (aux doses 10.4 mg/ml, 20.8 mg/ml et 41.7 mg/ml) appartiennent aux groupes B et A (Annexe 6).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 18: Effet des extraits aqueux des plantes et de la suspension bactérienne testés sur l'éclosion de *Globodera pallida*.

Plantes testées	Pourcentage des larves éclos après 6 semaines					Pourcentage d'inhibition de l'éclosion				
	Doses (mg/ml)					Doses (mg/ml)				
	10.4	20.8	41.7	83.5	167	10.4	20.8	41.7	83.5	167
<i>Taxacea:</i> <i>Taxus baccata</i>	67.47	54.16	39.74	32.47	23.42	32.53	45.84	60.26	67.53	76.58
<i>Cupressaceae :</i> <i>Juniperus phoenicea</i>	70.05	61.05	48.11	40.58	34.68	29.95	38.95	51.89	59.42	65.32
La bactérie : <i>Bacillus sp.</i>	Doses (µl/ml)					Doses (µl/ml)				
	6.25	12.5	25	50	100	6.25	12.5	25	50	100
	64.21	52.00	38.16	31.74	22.68	35.79	48.00	61.84	68.26	77.32
Témoin : Exsudats de pomme de terre	70.79									
Témoin : Eau distillée	4.74									

*Chaque chiffre représente la moyenne de cinq répétitions.

*Chaque traitement était accompagné par ses propres témoins (eau distillée et exsudats racinaires de pomme de terre PRD). Les chiffres des deux témoins représentent la moyenne générale des trois témoins de chaque traitement.

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

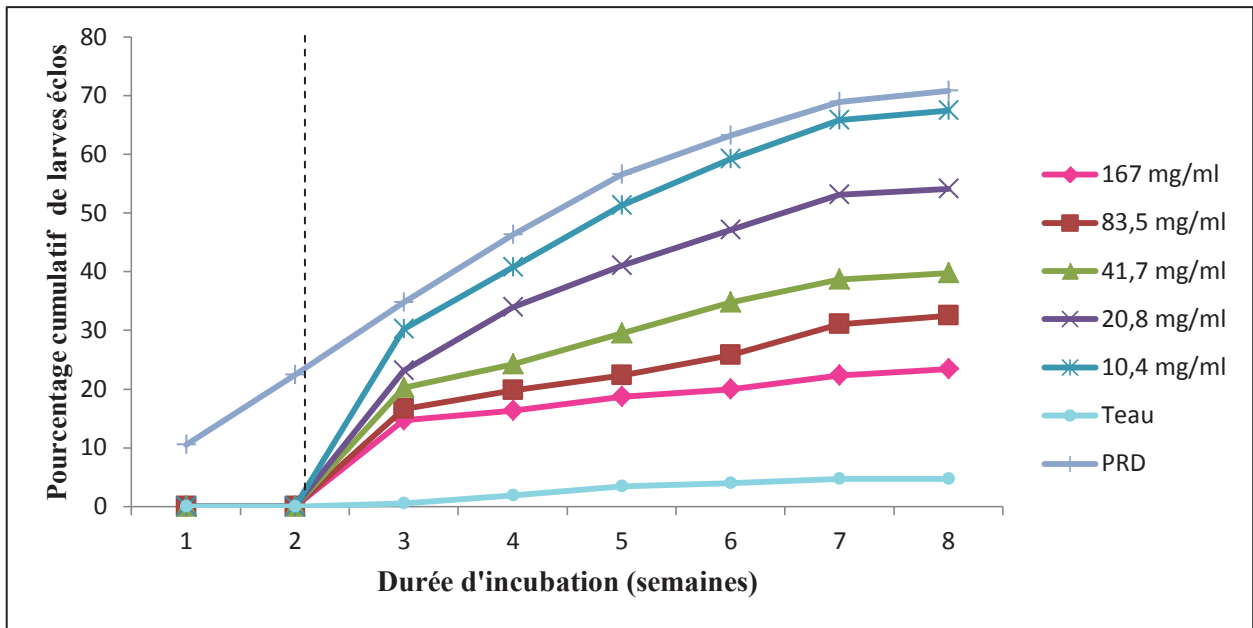


Figure 87: Pourcentage de larves éclos de *Globodera pallida* dans l'extrait aqueux de *Taxus baccata*

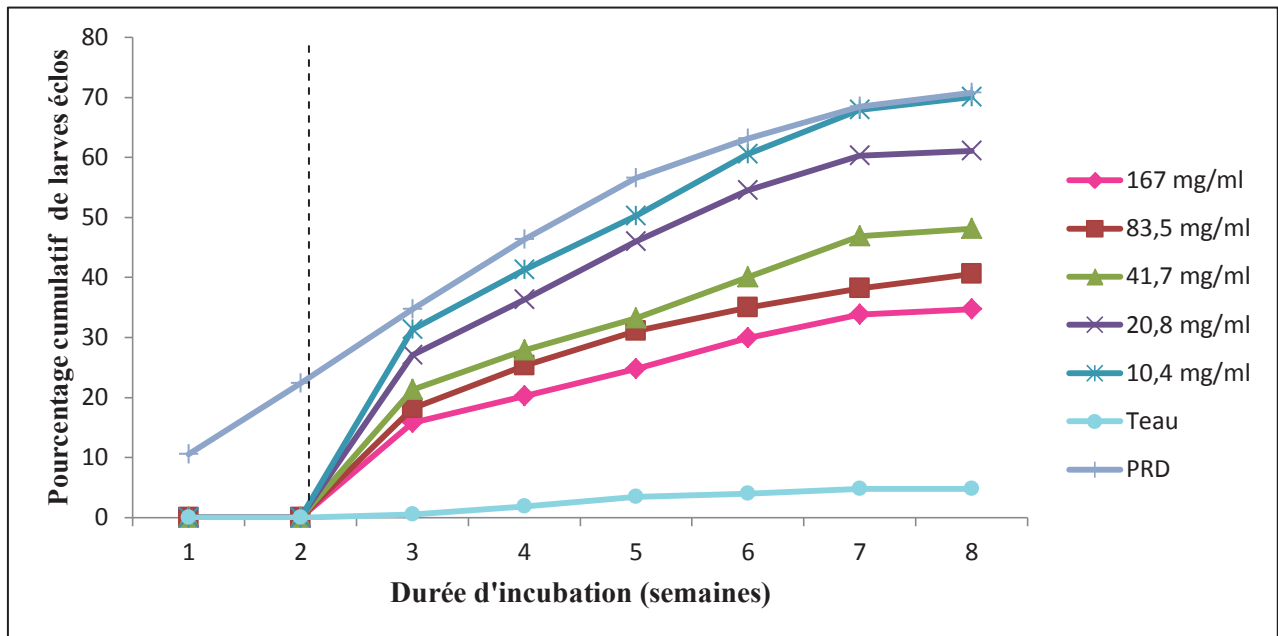


Figure 88: Pourcentage de larves éclos de *Globodera pallida* dans l'extrait aqueux de *Juniperus phoenicea*

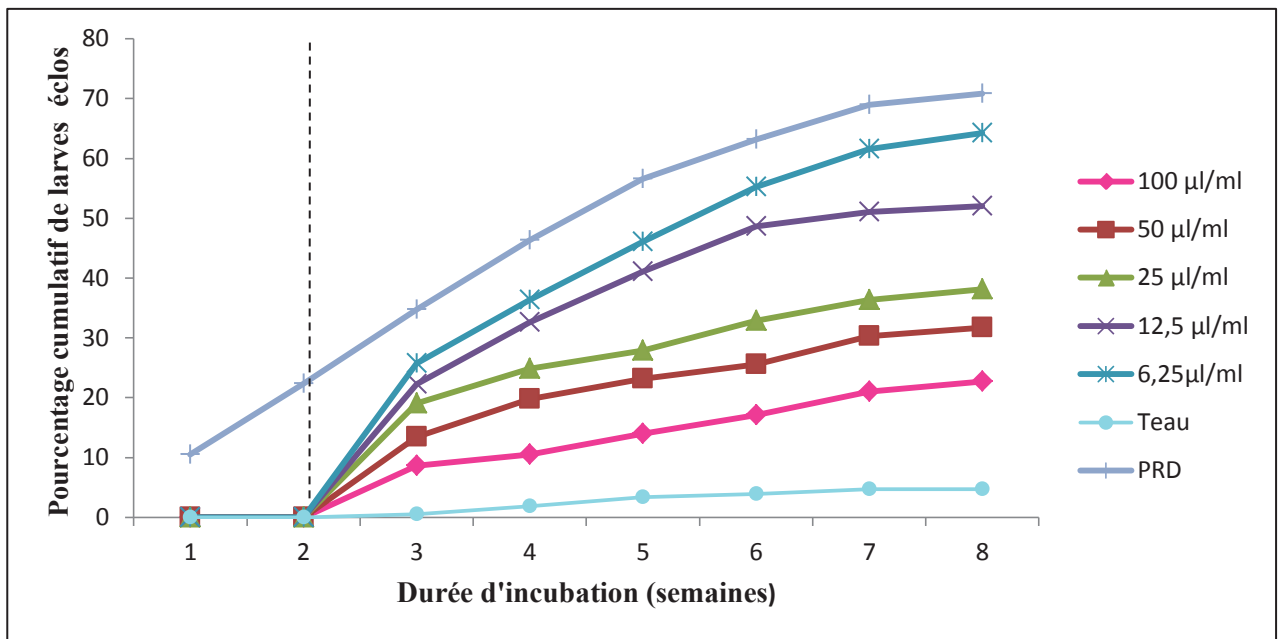


Figure 89: Pourcentage de larves éclos de *Globodera pallida* dans la suspension bactérienne à *Bacillus sp.*

*La ligne pointillée verticale distingue l'éclosion dans les solutions d'essai (0-2 semaines) des 6 semaines suivantes de l'éclosion dans les exsudats racinaires de pomme de terre (2-8 semaines).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

2.1.3. Les Métabolites secondaires des extraits aqueux (Screening chimique)

D'après les résultats obtenus dans le tableau 19, nous notons que les principaux composés communs existant dans les extraits aqueux de *Taxus baccata*, et de *Juniperus phoenicea* sont les leuco-anthocyanes, les tanins, les tanins galliques, les coumarines, et les saponosides. S'ajoutent à ceux-ci, les flavonoïdes et les alcaloïdes qui sont fortement représentés chez l'extrait foliaire de *Taxus baccata*, tandis qu'ils sont en quantité notable chez *Juniperus phoenicea*. De même, nous signalons la présence des quinones combinées qui sont très riche chez le Genévrier, alors qu'ils sont plus ou moins riches chez l'if. Toutefois, les anthocyanes, les tanins catachétiques, les glucosides, et les quinones libres sont absents chez les deux espèces.

Tableau 19: Métabolites secondaires existant au niveau de plantes testées.

Composés chimiques	<i>Taxus baccata</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>
Anthocyanes	-	-
leuco-anthocyanes	+++	+++
Tanins catachétiques	-	-
Tanins galliques	+++	+++
Tanins	+++	+++
Coumarines	+++	+++
Glucosides	-	-
Saponosides	+++	+++
Quinones libres	-	-
Quinone combiné	++	+++
Flavonoïdes	+++	++
Alcaloïdes	+++	++

-: Absence / +: Moyennement riche / ++: Plus ou moins riche / +++: Très riche.

2.1.4. Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le développement de *Globodera pallida* sur pomme de terre

L'objectif de cet essai consiste à étudier *in vivo* l'efficacité de la suspension bactérienne *Bacillus sp.*, et des extraits aqueux (*Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea*) sur le nombre de kystes, des femelles et sur la croissance des racines de la pomme de terre.

1. Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le nombre de kystes dans le sol (Figure 90)

Les résultats de l'effet de la solution bactérienne et des extraits aqueux sur le nombre moyen des kystes de *G. pallida* dans le sol sont consignés dans le tableau 20.

L'utilisation de la solution bactérienne avant plantation pour les trois concentrations testées (44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml) montre que le nombre moyen de kystes est de 5.2, 4.4 et 4.2 kystes par 250 g de sol. Dans le cas des extraits aqueux de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea*, le nombre moyen des kystes à la dose 167 mg/ml est de 4.6 et 5.4 kystes par 250 g de sol.

Après plantation, ce nombre est légèrement plus élevé et atteint 5.6, 4.8, et 4.4 kystes par 250 g de sol pour les concentrations bactériennes 44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml. De même, à la dose 167 mg/ml, les kystes traités par *Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea* sont plus nombreux (de 5.4 à 6 kystes par 250 g de sol) que ceux traités par la solution bactérienne.

Par contre, nous avons relevé que le nombre moyen de kystes dans le sol est faible au traitement avant et après plantation (traitement combiné). Aux doses bactériennes 44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml, ce nombre est de l'ordre de 4.8, 3.8, et 3.6 kystes par 250 g de sol. Il atteint 4.4 et 4.82 kystes par 250 g de sol pour les extraits aqueux de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea* à la même dose (167 mg/ml). Toutefois, les kystes de *Globodera pallida* les plus élevés ont été enregistrés dans le témoin, ils sont de 24 par 250 g de sol en moyenne.

En effet, les résultats montrent que la combinaison des deux traitements avant et après plantation (traitement combiné) est la plus efficace, suivis du traitement préventif (avant plantation), et ensuite le traitement curatif (Après plantation).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

De plus, le traitement bionématique à base de bactérie B.T a révélé une efficacité importante par rapport à ceux des extraits aqueux. La concentration 176.9 $\mu\text{l/ml}$ de ce produit s'est montré la plus efficace, suivie des concentrations 88.4 et 44.2 $\mu\text{l/ml}$ avec des pourcentages de diminution des kystes de 64, 62 et 52%. De même, à la dose 167 mg/ml, l'extrait foliaire de *Taxus baccata* manifeste une toxicité plus élevée que celle de *Juniperus phoenicea*. Ils présentent des taux de réductions des kystes de 56 et 51.8%. Enfin, l'analyse de la variance de l'effet des différents traitements sur le nombre des kystes de *Globodera pallida* par 250 g de sol montre une différence hautement significative ($<0,001$) entre ces traitements (Tableau 21). De plus, l'analyse de la variance basée sur le test de Dunett montre qu'il y a une différence hautement significative entre les différents traitements par rapport au témoin (Annexe 7). De même, le classement des moyennes des kystes de ce nématode par 250 g de sol selon le test de Newman-Keuls nous indique qu'il y'a 2 groupes homogènes par rapport au témoin (Tableau 22).

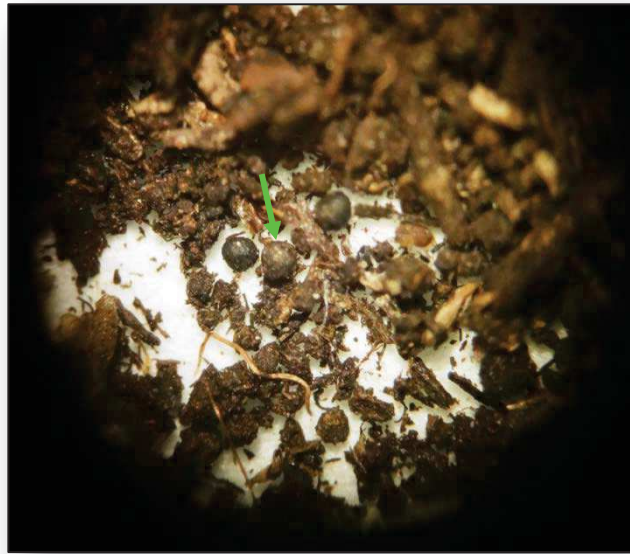


Figure 90: Formation de kystes dans le sol traité par *Taxus baccata* (G : $\times 20$) (Original)

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 20: Effet des différents traitements testés sur le nombre de kystes de *Globodera pallida* dans le sol.

Traitements et doses utilisés	Nombre moyen de kystes dans le sol (250g de sol)					Taux de réduction des kystes (%) %=100- (Pf/Pi *100)				
	<i>Taxus baccata</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Bacillus sp.</i>			<i>Taxus baccata</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Bacillus sp.</i>		
	Doses (mg/ml)		Doses (µl/ml)			Doses (mg/ml)		Doses (µl/ml)		
	167	167	88.4	44.2	176.9	167	167	88.4	44.2	176.9
Avant plantation	4.6	5.4	4.4	5.2	4.2	54	46	56	48	58
Après plantation	5.4	6	4.8	5.6	4.4	46	40	52	44	56
Avant et après plantation	4.4	4.82	3.8	4.8	3.6	56	51.8	62	52	64
Témoin	24									

*Chaque chiffre représente la moyenne de cinq répétitions.

* Pf : Population finale / Pi : population initiale.

*Chaque traitement était accompagné par ses propres témoins (eau distillée). Le chiffre de témoin représente la moyenne générale des cinq témoins de chaque traitement.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 21 : Analyse de la variance des kystes de *Globodera pallida* par 250 g de sol entre les différents traitements testés.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyennes des carrés	F de Fisher	Pr > F
Traitement AVP	5	1391,600	278,320	141,519	< 0,0001
Traitement APP	5	1635,067	327,013	125,774	< 0,0001
Traitement AVP+APP	5	1626,015	325,203	259,747	< 0,0001
Résidus AVP	24	47,200	1,967		
Résidus APP	24	62,400	2,600		
Résidus AVP+APP	24	30,048	1,252		
Total AVP	29	1438,800			
Total APP	29	1697,467			
Total AVP+APP	29	1656,063			

Tableau 22: Classement des groupes homogènes des moyennes des kystes de *Globodera pallida* par 250 g de sol des différents traitements par rapport au Témoin (Test de Newman-Keuls).

Modalité	Moyennes estimées Avant plantation (AVP)	Moyennes estimées Après plantation (APP)	Moyennes estimées (AVP+APP)	Groupes homogènes
Témoin	23,000	25,000	24,000	A
<i>Juniperus phoenicea</i> (167 mg/ml)	5,400	6,000	4,820	B
<i>Bacillus sp.</i> (44.2 µl/ml)	5,200	5,600	4,800	
<i>Taxus baccata</i> (167 mg/ml)	4,600	5,400	4,400	
<i>Bacillus sp.</i> (88.4 µl/ml)	4,400	4,800	3,800	
<i>Bacillus sp.</i> (176.9 µl/ml)	4,200	4,400	3,600	

2. Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le nombre de femelles sur les racines de la pomme de terre (Figure 91, 92, 93)

L'analyse nématologique des sols des différents traitements nous a permis de déterminer le nombre moyen des femelles par racine de pomme de terre (tableau 23). Avant plantation, l'utilisation des extraits aqueux de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea* à la dose 167 mg/ml indique un nombre moyen de 15 et 18.5 femelles par racine. De même, l'application du bionématicide avant plantation pour les trois concentrations testées (44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml) montre que le nombre moyen de femelles est de 16, 14.8 et 14 femelles par racine.

Après plantation, ce nombre augmente pour tous les traitements testés. Il varie de 18 à 20 femelles par racine pour la concentration 167 mg/ml de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea*. Dans le cas de bionématicide, le nombre moyen des femelles aux concentrations testées (176.9 et 88.4 µl/ml) est enregistré à 14.6 et 16 femelles par racine. Il atteint 16.2 femelles par racine pour la dose 44.2 µl/ml. Par contre, les effectifs de *Globodera pallida* les plus élevés ont été enregistrés dans le témoin, ils sont de 33 femelles par racine de pomme de terre.

En revanche, nous avons remarqué que les nombres moyens des femelles sur les racines du traitement combiné (avant et après plantation) sont les plus faibles par rapport au témoin, et aux autres traitements (préventif et curatif). Ils varient entre 14.6 et 16.1 femelles par racines à la dose 167 mg/ml de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea*. Tandis que l'application des trois doses de *Bacillus sp.* (44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml) marque les nombres de femelles le plus bas avec 15.8, 13.4 et 13 femelle/racine de pomme de terre.

Enfin, les résultats témoignent l'efficacité de l'association des deux traitements avant et après plantation (traitement combiné). Les pourcentages de diminution sont de 60.61%, 59.4% et 52.13% aux concentrations bactériennes 176.9, 88.4 et 44.2 µl/ml, suivies de ceux des extraits aqueux de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea* à la dose 167 mg/ml. Ces derniers présentent des taux de réductions des femelles de 55.76 et 51.22%.

En effet, l'analyse de la variance de l'effet des différents traitements sur le nombre des femelles de *Globodera pallida* par racine de pomme de terre montre une différence hautement significative ($<0,001$) entre ces traitements (Tableau 24). De même, cette différence est confirmée par rapport au témoin en utilisant le test de Dunnett (Annexe 7). De plus, le classement des moyennes des femelles de ce nématode par racine selon le test de Newman-Keuls, nous indique qu'il y'a plusieurs groupe homogènes par rapport au témoin (Tableau 25).

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 23: Effet de différents traitements testés sur le nombre de femelles de *Globodera pallida* sur les racines de la pomme de terre.

Traitements et doses utilisés	Nombre moyen de femelles sur les racines de la pomme de terre					Taux de réduction des femelles (%) par rapport au témoin				
	<i>Taxus baccata</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Bacillus sp.</i>			<i>Taxus baccata</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Bacillus sp.</i>		
	Doses (mg/ml)		Doses (µl/ml)			Doses (mg/ml)		Doses (µl/ml)		
	167	167	88.4	44.2	176.9	167	167	88.4	44.2	176.9
Avant plantation	15	18.5	14.8	16	14	54.55	43.94	55.16	51.52	57.58
Après plantation	18	20	16	16.2	14.6	45.46	39.4	51.52	50.91	55.76
Avant et après plantation	14.6	16.1	13.4	15.8	13	55.76	51.22	59.4	52.13	60.61
Témoin	33									

*Chaque chiffre représente la moyenne de cinq répétitions

*Chaque traitement était accompagné par ses propres témoins (eau distillée). Le chiffre de témoin représente la moyenne générale des cinq témoins de chaque traitement.

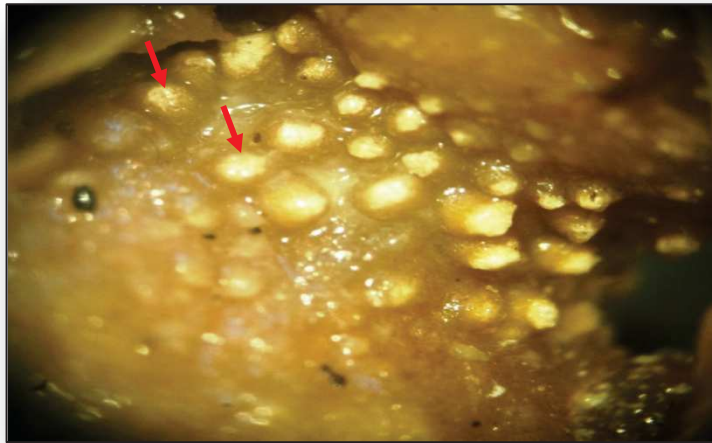


Figure 91: Début de la formation de femelles au niveau de racine de la pomme de terre du Témoin (G : $\times 20$) (Original)

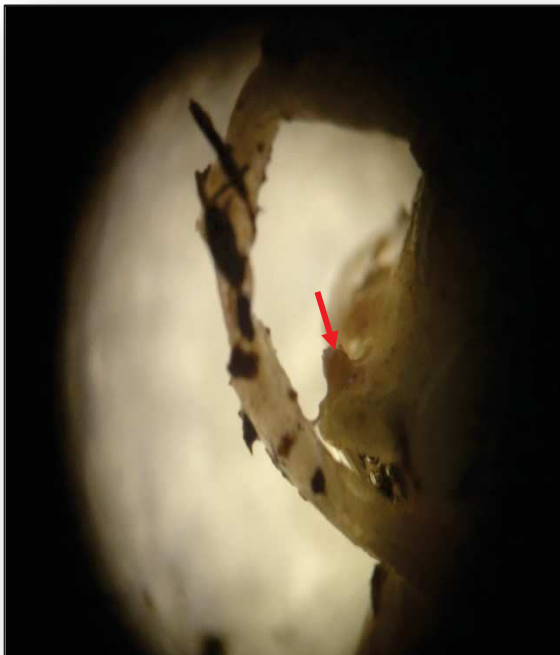


Figure 92: Formation des femelles sur racine de pomme de terre (G : $\times 20$) (Original)



Figure 93: Mort de la femelle et formation d'un kyste (G : $\times 20$) (Original)

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 24 : Analyse de la variance des femelles de *Globodera pallida* sur les racines entre les différents traitements testés.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyennes des carrés	F de Fisher	Pr > F
Traitement AVP	5	1313,375	262,675	140,468	< 0,0001
Traitement APP	5	1054,700	210,940	83,266	< 0,0001
Traitement AVP+APP	5	1577,642	315,528	179,874	< 0,0001
Résidus AVP	24	44,880	1,870		
Résidus APP	24	60,800	2,533		
Résidus AVP+APP	24	42,100	1,754		
Total AVP	29	1358,255			
Total APP	29	1115,500			
Total AVP+APP	29	1619,742			

Tableau 25: Classement des groupes homogènes des moyennes des femelles de *Globodera pallida* par racine de pomme de terre des différents traitements par rapport au Témoin (Test de Newman-Keuls).

Modalité	Moyennes estimées avant plantation (AVP)	Groupes homogènes	Moyennes estimées après plantation (APP)	Groupes homogènes	Moyennes estimées (AVP+APP)	Groupes homogènes
Témoin	33,000	A	32,200	A	33,800	A
<i>Juniperus phoenicea</i> (167 mg/ml)	18,500	B	20,000	B	16,100	B
<i>Bacillus sp.</i> (44.2 µl/ml)	16,000	C	16,200	CD	15,800	
<i>Taxus baccata</i> (167 mg/ml)	15,000		18,000	BC	14,600	BC
<i>Bacillus sp.</i> (88.4 µl/ml)	14,800		16,000	CD	13,400	C
<i>Bacillus sp.</i> (176.9 µl/ml)	14,000		14,600	D	13,000	

3. Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le poids frais du système racinaire (Figure 94, 95, 96)

L'efficacité des extraits aqueux, et de la suspension bactérienne a été également estimée sur le poids frais de la racine de pomme de terre. Les résultats sont reportés dans le tableau 26.

En effet, les valeurs obtenues au traitement avant plantation montrent une augmentation des poids aux concentrations bactériennes 44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml, elles sont de 17.8 g, 18 g et 18.2 g. Ces dernières sont suivies de celles des extraits aqueux (*Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea*) à la dose 167 mg/ml avec 17.92 g et 17.6 g.

Après plantation, nous remarquons que la moyenne des poids traités par *Bacillus sp.* est légèrement faible à ceux trouvés dans le traitement avant plantation. Aux concentrations 44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml, les poids enregistrés sont de l'ordre de 17.4 g, 17.6 g et 18.12 g. Chez *Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea*, ces valeurs sont approximativement similaires à celles du traitement avant plantation, et à celles des doses bactériennes (44.2 et 88.4 µl/ml) du même traitement, ils varient de 17.58 g et 17.3 g. Enfin, le témoin enregistre le poids le plus bas avec 16.53 g seulement.

Cependant, les poids de traitement combiné demeurent les plus élevés par rapport au témoin, et aux traitements cités antérieurement. Les moyennes marquées pour les doses de la solution bactérienne (44.2, 88.4 et 176.9 µl/ml) sont de l'ordre de 18 g, 18.2 g et 18.4 g. Dans le cas des traitements à base des extraits aqueux, nous notons une similarité des poids traités par *Bacillus sp.* et *Taxus baccata*. Par contre, à la dose 167 mg/ml, ces poids sont plus élevés à ceux de *Juniperus phoenicea*, avec des valeurs allant de 17.8 g à 18.1 g.

D'après le même tableau, nous relevons que les valeurs moyennes des poids des racines obtenues sont plus importantes au niveau du traitement combiné (avant et après plantation). En effet, les trois doses de bionématocide marquent une augmentation moyenne de 9 à 11%. En revanche, à la dose 167 mg/ml, le traitement avec l'extrait aqueux de l'if commun et de Genévrier aboutit à une augmentation négligeable de 7 à 9%.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

L'analyse de la variance de l'effet des différents traitements sur le poids frais du système racinaire de la pomme de terre montre une différence non significative entre ces traitements (Tableau 27). D'après le test de Dunett, tous les traitements présentent une différence non significative par rapport au témoin, excepté les traitements avant plantation et le traitement combiné aux concentrations bactériennes 88.4 et 176.9 $\mu\text{l/ml}$ (Annexe 7). La comparaison des traitements par rapport au témoin selon le test de Newman-Keul a révélé la présence d'un seul groupe homogène A (Tableau 28).

Tableau 26: Effet de différents traitements testés sur le poids frais du système racinaire de la pomme de terre.

Traitements et doses utilisés	Poids moyen des racines de pomme de terre (g)				
	<i>Taxus baccata</i>	<i>Juniperus phoenicea</i>	<i>Bacillus sp.</i>		
	Doses (mg/ml)		Doses ($\mu\text{l/ml}$)		
	167	167	88.4	44.2	176.9
Avant plantation	17.92	17.6	18	17.8	18.2
Après plantation	17.58	17.3	17.6	17.4	18.12
Avant et après plantation	18.1	17.8	18.2	18	18.4
Témoin	16.53				

*Chaque chiffre représente la moyenne de cinq répétitions

*Chaque traitement était accompagné par ses propres témoins (eau distillée). Le chiffre de témoin représente la moyenne générale des cinq témoins de chaque traitement.

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Tableau 27: Analyse de la variance de poids frais du système racinaire par plant de pomme de terre entre les différents traitements testés.

Source	DDL	Somme des carrés	Moyennes des carrés	F de Fisher	Pr > F
Traitement AVP	5	13,100	2,620	2,433	0,064
Traitement APP	5	6,171	1,234	1,036	0,419
Traitement AVP+APP	5	8,042	1,608	2,166	0,092
Résidus AVP	24	25,848	1,077		
Résidus APP	24	28,596	1,192		
Résidus AVP+APP	24	17,820	0,742		
Total AVP	29	38,948			
Total APP	29	34,767			
Total AVP+APP	29	25,862			

Tableau 28: Classement des groupes homogènes des moyennes de poids frais du système racinaire par plant de pomme de terre des différents traitements par rapport au Témoin (Test de Newman-Keuls).

Modalité	Moyennes estimées avant plantation (AVP)	Moyennes estimées après plantation (APP)	Moyennes estimées (AVP+APP)	Groupes homogènes
<i>Bacillus sp.</i> (176.9 µl/ml)	18,200	18,120	18,400	A
<i>Bacillus sp.</i> (88.4 µl/ml)	18,000	17,600	18,200	
<i>Taxusbaccata</i> (167 mg/ml)	17,920	17,580	18,100	
<i>Bacillus sp.</i> (44.2 µl/ml)	17,800	17,400	18,000	
<i>Juniperus phoenicea</i> (167 mg/ml)	17,600	17,300	17,800	
Témoin	16,200	16,600	16,800	



Figure 94: Traitement avant plantation
(Original)



Figure 95: Traitement après plantation
(Original)



Figure 96: Traitement combiné
(avant et après plantation) (Original)

2.2. Discussion

Les plantes sont des usines naturelles qui produisent des milliers de substances actives biochimiques. C'est le cas des huiles essentielles, et des métabolites secondaires (des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tannins...) qui peuvent satisfaire les besoins vitaux de l'être humain. Ils forment également des composés biopesticides protecteurs contre les différents pathogènes. Ces espèces de plantes appartiennent à plusieurs familles botaniques. Parmi les plus étudiées, nous citons: les *Meliaceae*, les *Rutaceae*, les *Asteraceae*, les *Labiaceae*, les *Piperaceae*, les *Liliaceae*, les *Apocynaceae*, les *Polygonaceae*, les *Lythraceae* et les *Annonaceae* (Paris et Schauenberg, 1977; Akhtar et Isman, 2004; Djian Caporalino et al., 2005; Wojdylo et al., 2007).

Il n'est plus à démontrer que sa grande superficie méditerranéenne (2.381.741 km²), et sa diversité bioclimatique (étages humide, sub-humide, sub-aride et aride) procurent à l'Algérie une richesse incontestable de son potentiel floristique en espèces arborées, et en plantes aromatiques et médicinales. Selon FAO (2012) et Sahi (2014), une superficie de 219 000 ha est majoritairement incluse pour le Genévrier, et 32 909 ha pour la cédraie en association, notamment avec l'If commun qui représentent les espèces de notre étude.

Le présent travail nous a permis d'étudier *in vitro* l'effet larvicide, et inhibiteur de deux extraits aqueux (*Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea*), et une suspension bactérienne (*Bacillus thuringiensis* et *B.sphaeriecus*) sur *Globodera pallida*. D'autre part, ce pouvoir est testé *in vivo* sur le développement des larves de ce nématode. L'activité nématocide dépend de la nature de l'extrait et la suspension utilisés, du temps d'exposition, et de différentes doses étudiées pendant notre expérimentation.

Dans notre étude, l'inactivité des nématodes s'explique par l'effet nématocide propre aux composés qui constituent ces extraits. En effet, les alcaloïdes, les diterpènes, les sesquiterpènes, les acides gras, les composés phénoliques, et les quinones possèdent des propriétés nématocides. Ces constituants existants dans les plantes étudiées, interviennent dans les mécanismes de défense contre les nématodes (Gommers, 1981; Chatterjee et al., 1982).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Cependant, l'efficacité de l'extrait foliaire de *Taxus baccata* sur la mortalité, et l'éclosion des larves de *Globodera pallida* est probablement attribuée à leur richesse en alcaloïdes (ditéropènes), et en flavonoïdes (monotéropènes et phénylpropanoïdes) en grande majorité. À ceux-ci s'ajoutent, les leuco-anthocyanes, les tanins, les tanins galliques, les coumarines, et les saponosides. En fait, les résultats du screening chimique effectué au cours de notre essai confirment la présence de ces constituants. Selon Couplan et Styner (1994), le feuillage et les graines de l'if contiennent plusieurs alcaloïdes, en particulier de la taxine qui s'est avérée très toxique.

En réalité, la composition de l'if est d'une grande complexité, elle renferme en particulier des taxoïdes (des taxus ditéropénoïdes), des ditéropènes cycliques, des acides banales (baccatines), et des acides β -aminés. C'est le cas de taxine, de taxol, et des cephalomamine. De plus, la présence d'azote dans les amides, et la plupart des esters fait qu'ils sont généralement considérés comme des pseudos -alcaloïdes (Bruneton, 2005).

D'après Patel et *al.*,(2011), les extraits alcooliques des feuilles de *Taxus baccata* diminuent l'hyperactivité bronchique, et l'infiltration des cellules inflammatoires dans les voies respiratoires. De plus, des chercheurs affirment l'activité antimicrobienne des extraits de l'écorce de cette plante contre des champignons, et certaines bactéries à gram négatif (Erdemoglu et Sener, 2001). En outre, plusieurs animaux ont été intoxiqué, ou morts suite à la consommation des taxoïdes isolés de différents composés de l'if (Bruneton, 2005).

Selon Augereau (2008), l'intérêt pour un extrait est proportionnel à son niveau d'activité. Pour cela, l'identification des produits actifs nécessite son éclatement en fractions moins complexes, en s'appuyant sur les propriétés physico- chimique de toutes ses molécules. Ainsi, Radulovic et *al.*(2010) montrent que l'analyse chromatographique de l'huile essentielle de l'if commun a permis d'identifier 62 constituants appartenant aux classes des téropénoïdes (monotéropénoïdes et ditéropénoïdes « alcaloïdes »), des volatiles de feuilles vertes, des dérivés des caroténoïdes, et du n-alkanes (hydrocarbures saturés).

En effet, les phénylpropanoïdes (flavonoïdes et les phénols simples), et les monotéropénoïdes (les alcaloïdes) induisent une mortalité de 100% des *Meloidogyne incognita*. Ils réduisent également les populations des larves de *Radopholus similis*, et inhibent leur éclosion. De plus, les flavonoïdes et les phénols jouent un rôle très important dans la défense, et la résistance des plantes contre les maladies et les ravageurs, particulièrement les nématodes (Wuyts et *al.*, 2006).

V. Effet nématicide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Sellami et al., (2010a) rapportent que des alcaloïdes existant dans les feuilles de l'armoise *Artemisia herba alba* (*Asteraceae*), et les flavonoïdes identifiés dans les feuilles de la sauge *Salvia officinalis* (*Lamiaceae*) possèdent une activité nématicide contre *Meloidogyne incognita* avec un taux de mortalité de 66.66% et 100% après 72 heures de traitement. De même, ces composés manifestent une inhibition de l'éclosion des larves de 62.79% et de 58.52% après 12 jours d'incubation. Dans une étude similaire, à une concentration de 100%, les extraits foliaires d'*Origanum floribundum*, de *Coriandrum sativum* et de *Ruta graveolens* provoquent 100% de mortalité de *Meloidogyne incognita*, et un taux d'inhibition avoisinant les 80% après la même période d'incubation (Sellami et al., 2010b).

En Algérie, de nombreux travaux réalisés ont permis l'identification des composés de *Juniperus phoenicea*. En effet, Bachir Raho et al. (2017) témoignent l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* provenant de l'ouest (Tiaret), contre certaines bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, et *Bacillus sp.*), et certains champignons (*Candida albicans*). De même, Ramdani et al. (2013) rapportent l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* de l'est du pays (Setif, M'sila, Menâa, Batna et Biskra). L'identification par CG-SM de cette huile montre une dominance des composants majeurs (les terpènes), c'est le cas de l' α -pinène (55.9%), terpinolène (13%), D3-carene (12.4%) et β - phellandrene (7.3%).

Toutefois, Bouzouita et al. (2008) attestent l'activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide (*Tribolium confusum*) de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* émanant de la Tunisie. L'analyse chromatographique révèle la présence des composés majoritaires, c'est le cas de l' α -pinène (monoterpène), de linalole (terpènes), et de germacrène (sesquiterpènes).

L'étude de Samoylenko et al. (2008) rapportent que les extraits de baies de *Juniperus procera* manifestent une activité antiparasite, et nématicide (*Caenorabditis elegans*). Cette toxicité est démontrée également sur les animaux (*artemia salina*) à cause de leurs richesses en diterpènes, notamment les abietanes, les pimaranes et les labdanes.

Le screening chimique effectué au cours de notre essai sur l'extrait aqueux de *Juniperus phoenicea* a montré une forte teneur en quinones combinée, en leuco-anthocyanes, en tanins, en tanins galliques, en coumarines, en saponosides, en flavonoïdes (monoterpènes et phenylepropanoïdes), et une proportion moyenne en alcaloïdes.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Il est intéressant de souligner que les composés comme les tanins, les saponines, et les phénols exposent une action nématocide (Sellami et *al.*, 2009). En effet, D'Addabbo et *al.* (2010) rapportent que les saponines isolées de la luzerne cultivée (*Medicago sativa*) provoquent 90% de mortalité des larves (L₂) de *Globodera rostochiensis* après 24 h de traitement.

De plus, Renco et Sassanelli, (2012) ont testé l'efficacité des tannins de châtaignier sur *Globodera rostochiensis* à différentes concentrations (allant de 0.32 à 20.48 g/l). Les résultats montrent une réduction hautement significative des œufs vivant (de 56% à 87%) vis-à-vis du témoin. A la dose de 20.48 g/l, l'éclosion des larves était de 5%. En 2014, ces mêmes auteurs rapportent que ces concentrations induisent une inhibition de l'éclosion (de 70 à 90%) de *Globodera pallida*, *in vitro*.

Cependant, l'efficacité de certains extraits aqueux des autres plantes appartenant à d'autres familles botaniques a été testée. En effet, Zambouri et Fatemy (2014) témoignent un pourcentage de mortalité des larves (L₂) de *G. rostochiensis* avoisinant 97%. Ce taux est enregistré après 24 h d'exposition des juvéniles aux extraits aqueux de cresson de fontaine (*Lepidium sativum*) et de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*). De même, le taux d'éclosion des *Globodera rostochiensis* était inférieur à 1% durant 7 semaines d'incubation dans les mêmes extraits.

En effet, les données de la présente étude infirment ceux obtenues par Valdes et *al.* (2011) qui ont trouvé que l'application (*in vitro*) de prétraitement des extraits de *brassicaceae* ; la moutarde blanche (*Sinapsis alba*), le colza (*Brassica napus*), et le radis chinois (*Raphanus sativus*) n'ont aucun pouvoir larvicide, ou inhibiteur sur *Globodera rostochiensis*.

En outre, nos résultats rejoignent ceux de Wood et *al.* (2014) qui ont montré que l'isothiocyanate d'allyle (glucosinolates hydrolysé) entraîne 100% de mortalité de *G. pallida* à une dose de 50 µl/l. Ce même composé inhibe l'éclosion à 99% après un prétraitement de 4 jours.

Dans une étude similaire, une formulation constituée des extraits de l'ail, de salicyaldéhyde, et de nonylphénols cause 100% de mortalité de *G. pallida* avec une DL50 de 43.6 µl/l. L'inhibition de l'éclosion aboutie à 100% à la dose de 1376 µl/l durant 8 semaines d'incubation au prétraitement. Le salicyaldéhyde était le constituant le plus toxique de la formulation avec une DL50 de 6.5µl/l, suivie des extraits de l'ail qui atteignent 50% de mortalité des larves à 983µl/l (Danquah et *al.*, 2011).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

En revanche, l'application de la suspension bactérienne (*Bacillus thuringiensis* et *B. sphaericus*) a montré une toxicité élevée vis-à-vis des larves (L₂) de *Globodera pallida*. De même, la réduction de l'éclosion des œufs était significative par rapport aux extraits aqueux utilisés. Ceci est probablement dû à l'effet nématocide produit par la synthèse des *Bacillus thuringiensis* aux protéines cristallines (cry et cyt toxines) (Wei et al., 2003). Selon Bravo et al., (2012), les protéines « cry » secrétés par *Bacillus thuringiensis* manifestent un effet insecticide et toxique trop élevé contre les larves de doryphore (coléoptère) de la pomme de terre (*Leptinotarsa decemlineata*) au regard des vers de la chrysomèle du maïs (*Diabrotica virgifera*).

D'après Kavitha et al., (2012), les endospores formées par la bactérie *Bacillus subtilis* produisent plusieurs antibiotiques lipopeptides (surfactins, iturins, et fengycins), et autres métabolites secondaire. Ces derniers expriment une activité antagoniste contre les bactéries, les champignons et les nématodes. Après 72h, une dose de 100% des souches de cette bactérie (Bs5 et Bbv 57.Bs 5) révèlent un effet larvicide (92.6 juvéniles/100 juvéniles), et ovicide (16.3 œufs éclos/ mass d'œuf) des nématodes à galles *Meloidogne incognita*.

Les résultats publiés par Kloepper et al.(2004) révèlent que les souches de *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasterii*, *B. cereus*, *B. pumilis*, *B. mycoides* et *B. sphaericus* manifestent une action fongicide (*Phytophthora infestans*),bactéricide(*Xanthomonas compestris*), virocide (virus de la mosaïc du comcombre CMV), insecticide (*Acalymma vittatum*, *Diabrotica undecimpunctata* et *Bemisia argentifolii*), et nématocide (*Meloidogyne sp.*) sur cultures maraichères, sous serre, ou en plein champs.

Récemment, Zhang et al. (2016) rapportent que les filtrats des deux souches bactériennes *Achromobacter xylosoxidans*, et *Bacillus cereus* provoquent une mortalité élevée (allant de 99.5% à 100%) de nématodes à kystes des céréales (*Heterodera filipjevi*). De plus, Ces mêmes bactéries entraînent une inhibition de l'éclosion des œufs de l'ordre de 58.9% à 83.1%.

Enfin, Wei et al. (2003) démontrent l'existence des BT protéines Crystal (Cry 6A, Cry 21A, Cry 5 B et Cry 14 A) qui contiennent des toxines nématocides végétales, et animales. En effet, ces protéines qui sont intégrées comme source de nourriture au nématode *Caenorhabditis elegans* interviennent dans l'intoxication de celui-ci, en créant un endommagement de leurs intestins. Les signes d'intoxication incluent la constriction, et l'amincissement des cellules intestinales.

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

In vivo, les résultats ont montré que le traitement combiné (avant et après plantation) est le plus efficace sur les kystes, et les femelles de *Globodera pallida*. Ceci est dû principalement au prétraitement des kystes par les solutions testées, associées à la couverture en plastique (mode préventif) d'une part, et le post-traitement de ces derniers par ces mêmes solutions (mode curatif) d'une autre part.

Ainsi, Danquah et al.(2011) affirment que les extraits des plantes contiennent une large variété de composés volatiles et non volatiles (alcaloïdes, phénols, diterpènes, sesquiterpènes, polyacétlène) qui possèdent une activité antimicrobienne, insecticide, nématocide et nématostatique.

De même, Valdes et al.(2011); indiquent que la fonction de la couverture en plastique est de garder les kystes pendant une longue période en présence des composés volatiles de plantes. A cet égard, Mezerket et Sellami (2013) déclarent que l'association de la couverture en plastique et de certains composés de l'origan *Origanum glandulosum* (tanins, saponosides et glucosides) provoque une diminution des populations de *Meloidogyne incognita* de 79% sur culture de tomate.

Toutefois, Renco et Sassanelli (2012) attestent que toutes les concentrations (100, 250 et 450 g/m²) des tanins de châtaignier réduisent significativement le nombre de kystes, des œufs, et des juvéniles de *Globodera rostochiensis* en pots. En 2014, ces mêmes auteurs témoignent l'efficacité de l'application de ces doses au semis, et après deux semaines de plantation (avant et après plantation). De même, les tanins diminuent significativement le pourcentage de reproduction (de 1.2 à 2.3%), et le nombre de kystes (de 7.5 à 11.4 kystes/100 g de sol) de *G. pallida* à la dose 450 g/m².

En effet, le mode d'action nématocide des extraits aqueux n'est pas bien connu. Différentes théories développées par des chercheurs montrent que le modèle le plus accepté est similaire à celui des insectes. Ils agissent soit par inhibition de l'acétylcholinestérase (en provoquant une interruption au niveau du système nerveux), soit par la sensibilité et la modification de la perméabilité de la cuticule à certains composants chimique de la plante (Oka et al., 2000; Abbaly et al., 2004).

V. Effet nématocide des extraits aqueux et de *Bacillus sp.* sur *Globodera pallida*

Par contre, l'efficacité élevée de la suspension bactérienne (*Bacillus turingiensis* et *B. sphaericus*) au traitement combiné par rapport aux extraits foliaires des plantes testées s'explique probablement par le mode d'action de ces deux nématocides. Certains scientifiques avancent par ailleurs, que le mécanisme d'action des protéines cry B.t sur les insectes, et les nématodes implique la solubilisation du cristal dans le mésogastre de l'insecte ce qui aboutit à une paralysie intestinale, et la mort de celui-ci (Schnepf et al., 1998).

Les essais effectués par Zhang et al., (2016) ont démontré que le traitement avec les suspensions bactériennes *Achromobacter xylooxidans*, et *Bacillus cereus* réduisent significativement le nombre de femelles blanches (*Heterodera filipjevi*) sur les racines du blé (75.9%), en pot (70.2%) , et en plein champ (51.1%). De même, un accroissement de rendements est enregistré de 13.2% à 15.9%. D'autres bactéries ont été appliquées au champ, c'est le cas de la bactérie *Pseudomonas fluorescens* qui a marqué une hausse de croissance, et de rendement couplés à une réduction des *Globodera sp.* dans le sol avec un facteur de reproduction égale à FR=1.38 (Umamaheswari et al., 2012).

Néanmoins, nos résultats ont révélé que les traitements testés n'ont pas stimulé la croissance des racines de pomme de terre. De plus, ils ne montrent aucune différence significative vis à vis du témoin, excepté le traitement préventif et combiné de la solution bactérienne (test de Dunett). Ceci est vraisemblablement causé aux conditions, et aux interactions biotiques et abiotiques durant lesquelles le test *in vivo* a été effectué.

Enfin, les extraits aqueux de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea*, ainsi que le traitement biologique à base des Bacilles présentent une activité nématocide remarquable. Cette action est prouvée sur les larves (L₂), les kystes, et les femelles de *Globodera pallida* au laboratoire, et en pots. De ce fait, les futures recherches doivent utiliser ces traitements sous différentes formes (extraits aqueux, huiles essentielles, engrais vert..). De même, il est nécessaire d'optimiser leurs efficacités sur d'autres espèces de nématodes, insectes, et agents pathogènes afin d'exploiter les potentialités de ces biopesticides comme alternatifs aux nématocides chimiques, et comme agent de gestion écologique des nématodes.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Conclusion générale et perspectives

Le nématode doré du genre *Globodera* est défini comme un organisme de quarantaine dans plusieurs pays du monde. Il occasionne de lourdes pertes économiques qui atteignent les 12% sur cultures maraichères, notamment sur culture de la pomme de terre. En Algérie, l'absence d'une cartographie complète de la distribution de ce nématode dans tout le pays avec le manque de recherches moléculaires sur les différentes espèces existantes, font de ce parasite une contrainte essentielle pour les agriculteurs. De même, la mauvaise gestion des nématicides pose de sérieux problème pour l'environnement, et la santé humaine. S'ajoutent à cela, la difficulté de contrôle de ce ravageur à cause de son extrême résistance aux conditions climatiques défavorables (froid et sécheresse), de sa grande variabilité physiologique, et du fait qu'il est tellurique.

De ce fait, l'objectif de cette présente thèse était de conduire une vaste enquête sur la répartition, le degré d'infestation, et la prévalence des *Globodera* dans quelques régions de production de pomme de terre répartis sur les quatre coins de l'Algérie (Nord, Est, Ouest et Sud). De plus, nous avons procédé à une caractérisation moléculaire de ces nématodes en utilisant la PCR spécifique, l'ITS rDNA, le *cytb* gène de mtDNA, et le séquençage pour les associations géographiques. Cette identification permet de tracer une cartographie des foyers de ces parasites dans les zones de production de pomme de terre. Enfin, nous avons essayé de découvrir de nouvelles voies de lutttes alternatives, qui consistent à exploiter les toxines bionématicides secrétées par des Bactéries à *Bacillus* (*Bacillus thuringiensis* et *B. sphaericus*), avec certaines plantes *Taxus baccata* (*Taxaceae*) et *Juniperus phoenicea* (*Cupressaceae*) contre les *Globodera pallida* afin de diminuer les effets causés par l'emploi des traitements chimiques.

En effet, les prospections effectuées à travers 30 sites représentés par 11 wilayas (Alger, Ain Defla, Blida, Bouira, Boumerdés, Chlef, Skikda, Tipaza, Tlemcen, Béchar et El Oued « Oued Souf ») montrent que les *Globodera* ont été trouvés dans 40% des régions étudiées avec 23.33 % au Nord à Mefteh 2, Lagata, Mandoura, H'rawa, Bousmail, Douaouda et Staoueli, et 16.67% au Sud du pays à Al Abadella, et Oued Souf « Trifaoui 1, Trifaoui 2, Hassi khelifa 1 et Hassi Khelifa 2 » avec une fréquence moyenne de 100%.

Par ailleurs, la densité moyenne de la population des régions Sud (9.8 kystes pleins /100cm³) était plus importante à celles du Nord (4.6 kystes pleins/100 cm³). La localité de Hassi Khalifa1 (Oued Souf) se place en tête de ces zones avec 13.4 kystes/100 cm³ contre 11.5 kystes/100 cm³ à Staoueli (Alger).

Conclusion générale et perspectives

Néanmoins, la région de Oued Souf au sud du pays était fortement infestée par les *Globodera* que celles du Nord. Les degrés d'infestations sont de 67,62 juvéniles et œufs par g de sol à Trifaoui1, et de 98,22 juvéniles et œufs par g de sol à Hassi Khelifa1. Autrement, nous avons noté des infestations de 10,7 juvéniles et œufs par g de sols dans la commune de Douaouda à la wilaya de Tipaza, et 43,7 juvéniles dans la commune de Staoueli à la wilaya d'Alger. Ces degrés indiquent que toutes les régions infestées ont dépassées le seuil de nuisibilité.

Toutefois, nous avons décelé l'absence de ce nématode dans certaines régions étudiées. C'est le cas des communes de la wilaya de Chlef (Oued Fodda, Oum Drou), d'Ain Defla (Mkhatria, Beni Neghlane, KhemisMeliana), de Bouira (Ain Bessam), de Skikda (El Harrouche), de Tlemcen (Sabra), d'Alger (Zeralda1, Zeralda 2 et Rouiba), de Boumerdés (Cap Jinet), de Blida (El Afroun, Mozaia, Meftah 1 et Meftah 3), et de Tipaza (Hajout et Bourkika).

La caractérisation des *Globodera spp.* en provenance de douze régions infestées du nord algérien (Staoueli, H'rawa, Mandoura, Lagata, Meftah 2, Bousmail, et Douaouda), et du Sud (Abadella et Oued Souf : Trifaoui 1, Trifaoui2, Hassi khelifa1, et Hassi khelifa 2) est établi selon les critères moléculaires. Les techniques PCR et le séquençage ont révélé la prédominance de deux espèces de nématode à kystes de la pomme de terre qui sont clairement séparées dans la répartition géographique: *Globodeara pallida* au nord, et *Globodera rostochiensis* au sud du pays. De plus, les résultats de BLAST ont indiqué l'existence de six séquences de l'ITS ADNr de *Globodera rostochiensis* (de KY513118 à KY513123), et huit nouvelles séquences de *cytb* gène de *Globodera pallida* (de KY513124 à KY513131). D'ailleurs, cette analyse ne dévoile aucune diversité intraspécifique de séquence, tandis qu'elles discernent des variations intraspécifiques à celles déposées à GenBank. En fait, la diversité moléculaire et la relation phylogénétique avec les populations européennes rejettent les suppositions concernant les différentes introductions des NKPT en Algérie.

Enfin, les données de cette première partie nous ont permis de réaliser, pour la première fois en Algérie, une cartographie sur une vaste dimension, concernant la distribution de *Globodera rostochiensis* et de *Globodera pallida* dans les trente localités étudiées (Nord, Sud, Est et Ouest), réparties à travers onze wilayas de l'Algérie.

Conclusion générale et perspectives

Les résultats obtenus de l'effet des extraits aqueux testés, ainsi que la suspension bactérienne à base de *Bacillus* ont révélé une activité nématocide sur les larves (L₂), et l'éclosion des œufs de *Globodera pallida*. Cette activité dépend de la dose, et du temps d'exposition. Par conséquent, le taux maximal de mortalité a été relevé dans la concentration la plus élevée, et durant la période d'exposition la plus longue.

Or, à une dose plus élevée (167 mg/ml), après 72 heures d'exposition dans l'extrait de *Juniperus phoenicea*, la mortalité des larves de *Globodera pallida* a atteint 86.51% avec une DL50 égale à 42.95 mg/ml. Pour *Taxus baccata*, ce taux arrive à 92.97% avec une DL50 égale à 30.2 mg/ml. Ce pourcentage s'élève pour les *Bacillus* à 96% avec une DL50 avoisinant 14.6 µl/ml à la dose optimale (100 µl/ml).

Cependant, les deux plantes testées, ainsi que la bactérie sont dotées d'un effet choc intéressant. Le TL50 le plus élevé est enregistré après 3 heures et 19 minutes seulement pour *Bacillus sp.*, suivie de celui de *Taxus baccata* après 7 heures et 56 minutes. L'extrait de *Juniperus phoenicea* provoque 50% de mortalité après 12 heures et 32 minutes.

Concernant l'éclosion, le taux d'inhibition le plus élevé a été noté à la dose bactérienne 100 µl/ml avec 77.32%. Il est succédé de celui de *Taxus baccata* avec 76.58%, et de *Juniperus phoenicea* avec 65.32% à la dose 167 mg/ml.

In vivo, les résultats montrent que la combinaison des deux traitements avant et après plantation est la plus efficace, suivie du traitement avant plantation, et du traitement après plantation. De plus, le traitement bionématocide à base de bactérie B.T a révélé une efficacité importante à raison de 176.9 µl/ml vis à vis de *Taxus baccata*, et de *Juniperus phoenicea* à la dose 167 mg/ml. Les taux de diminutions des kystes de *Bacillus sp.*, de *Taxus baccata* et de *Juniperus phoenicea* arrivent à 64%, 56% et 51.8%.

De plus, le traitement combiné contribue à la réduction du nombre moyen des femelles sur les racines de la pomme de terre. À la dose bactérienne 176.9 µl/ml, le pourcentage de réduction des femelles est marqué à 60.61%. Pour *Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea*, ces taux dépassent les 50% à la concentration 167 mg/ml.

En revanche, les résultats obtenus sur les valeurs moyennes du poids des racines ne révèlent aucune différence significative entre les traitements par rapport au témoin. Nous avons obtenu des augmentations négligeables au niveau du traitement combiné (avant et après plantation) avec le bionématocide allant de 9 à 11%. De même, les racines traitées par l'if commun et le Genévrier ont connu un accroissement pondéral de 7 à 9%.

Conclusion générale et perspectives

Par ailleurs, le screening chimique nous a permis de connaître les principaux métabolites existant dans *Taxus baccata*, et *Juniperus phoenicea*. Ces deux extraits sont constitués des leuco-anthocyanes, des tanins, des tanins galliques, des coumarines, des saponosides. Tandis que, les flavonoïdes et les alcaloïdes sont fortement représentés chez *Taxus baccata*. Par contre, nous avons noté la présence importante de quinones combinées dans l'extrait de *Juniperus phoenicea*. De ce fait, nous pouvons déduire que les extraits aqueux, et la suspension bactérienne utilisés peuvent être de bons candidats pour les formulations nématicides naturelles.

Ainsi, les futures gestions de nématodes dorés de la pomme de terre consistent à constituer des programmes rigoureux de réglementation, et d'enquêtes continues afin de connaître les différents foyers d'infestation. Les aires détectées nécessitent une mise en quarantaine pour un contrôle efficace. De plus, ces études devraient être accompagnées par une amélioration des techniques moléculaire (marqueurs moléculaires) pour une identification plus rapide, correcte, et facile de ces espèces. Elles permettent également de mettre en évidence les relations phylogénétiques de celles-ci avec d'autres espèces de *Globodera*. De même, il serait souhaitable d'organiser des journées de vulgarisation afin d'instruire les agriculteurs sur la biologie de ce bioagresseur. Ce genre de rencontre permet de les sensibiliser sur les dangers réels des nématodes dorés de la pomme de terre, et de monter les risques des dégâts occasionnés pour limiter sa propagation dans les parcelles saines.

Enfin, le développement d'une stratégie de lutte appropriée nécessite l'amélioration de la résistance variétale de la pomme de terre, et l'identification des rotations les plus efficaces. Cependant, l'utilisation ultérieure des nématicides chimiques devraient être minimisés au maximum. Elle doit être remplacée par des procédés alternatifs comme les applications naturelles à base de plantes (amendements organiques, extraits, ou huiles essentielles), et les agents de lutte biologique (les bactéries et les champignons) envisageables pour une culture sensible comme la pomme de terre. Il faut également développer une meilleure connaissance sur leur composition, et leur mode d'action nématicide. En conséquence, la stratégie de lutte intégrée formera un but majeur des futurs contrôles des *Globodera*, particulièrement *Globodera pallida*. Elle devrait bel et bien associer plusieurs méthodes de lutte pour un contrôle durable des populations de ce parasite, et de réduire leur impact économique pour une meilleure protection des plantes cultivées tout en respectant l'environnement.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) **Abblay L.E., Sequelveda R., Insunza V., 2004.** Evaluation of five nematode antagonistic plants used as manure to control *Xiphinema index* thorne et allen on *Vitis viniferain*. *Nematropica*. Vol.34, pp.45-52.
- 2) **Agence de Bassin Hydrographique Cheliff-Zahrez, 2003.** Atlas de Cheliff. Schéma Directeur d'Aménagement Hydraulique de la Wilaya de Chlef. Rapport de synthèse sur l'évaluation des ressources en eau et en sols; Synthèse Mission I, Chlef, Algérie, 51 p.
- 3) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2008.** Agence National de Développement de l'Investissement. Monographie de la wilaya de Chlef. Guichet unique décentralisé de Blida, pp. 3-17.
- 4) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Ain Defla: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 20 p.
- 5) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Béchar: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 18 p.
- 6) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Blida: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 24 p.
- 7) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Boumerdès: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 25 p.
- 8) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Bouira: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 20 p.
- 9) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Chlef: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 21 p.
- 10) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Skikda: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 27 p.
- 11) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Tipaza: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 17 p.
- 12) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2013.** La wilaya de Tlemcen: monographie, Ed. ANDI. Algérie, 24 p.
- 13) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2014.** Entretien avec Monsieur Salah El Affani Wali d'El Oued. 11p.
- 14) **Agence Nationale de Développement de l'Investissement (ANDI), 2014.** Entretien réalisé par l'ANDI avec Monsieur le Wali de Skikda, Janvier 2014 .8 p.
- 15) **Agrios G., 2005.** *Plant pathology*. 5^{ème} edition. Elsevier Academic Press, U.S.A, 922 p.
- 16) **Akhtar Y., Isman M.B., 2004.** Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *J. Appl. Ent.* Vol.128, pp.32-38.
- 17) **Augereau J.M, 2008.** Les plantes médicinales in: aux *origines des plantes: des plantes et des hommes*. Ed. fayard, Paris, 665 p.
- 18) **Bachir Raho G., Otsmane M., and Sebaa F., 2017.** Antimicrobial activity of essential oils of *Juniperus phoenicea* from north western Algeria. *Journal of medicinal botany*. Vol.1, pp. 01-07.
- 19) **Baize D., 2000.** *Guide des analyses en pédologie : choix, expression, présentation, interprétation*. Ed. INRA. Paris, 257p.
- 20) **Bakker J., Folkertsma R.T., Jeroen N.A.M., Voort R.V.D., de Boer J.M., and Gommers F.J., 1993.** Changing Concepts and Molecular Approaches in the Management of Virulence Genes in Potato Cyst Nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.* Vol. 31, pp.169-190.
- 21) **Baklawa M., Niere B., Holger H., et Massaoud S., 2015.** Characterisation of cereal cyst nematodes in Egypt based on morphometrics, RFLP and rDNA-ITS sequence analyses. *Nematology*. Vol.17, pp. 103-115.
- 22) **Baldwin J., 1988.** Identification of the Hetroderids in Nematode identification and Expert System Technology. Serie A. *Life science*. Vol.162, 386 p.

- 23) **Bates J.A., Taylor E.J., Gans P.T. and Thomas J.E., 2002.** Determination of Relative Proportions of *Globodera* Species in mixed Populations of Potato Cyst Nematode Using PCR Product Melting peak Analysis. *Mol. Plant Pathol.* Vol.3, pp.153-161.
- 24) **Behrens E., 1975.** *Globodera* Skarbilovich, 1959. Eine selbständige Gattung in der Unterfamilie *Heteroderinae* Skarbolovich, 1947 (Nematoda: *Heteroderidae*) In: *Vortragstagung zu Aktuellen Problemen der Phytonematologie*, Rostock, 29 May 1975, pp. 12-26.
- 25) **Bélaïr G., 2005.** Les nématodes, ces anguillules qui font suer les plantes par la racine. *Phytoprotection*. Vol. 86, pp.65-69.
- 26) **Blanchard, A. 2006.** Identification, *polymorphisme et évolution moléculaire de gènes du pouvoir pathogène chez le nématode à kyste de la pomme de terre Globodera pallida*. Thèse Doctorat en biologie. Université de renne 1. France, 232p.
- 27) **Block V.C., Paterson A., Holt A., et Phillips M.S., 2010.** Competition between *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Aspects of Applied Biology*. 3rd Symposium on Potato Cyst Nematodes. Vol.103, pp. 29-33.
- 28) **Boujard D., Anselme B., Culin C., et Raguénès-Nicol C., 2015.** *Biologie cellulaire et Moléculaire*. 2^{ème} Edition. Dunod. Paris, 489p.
- 29) **Bourget D., 2003.** *L'histoire, la culture et la diversité des pommes de terre*. Ed. Gulf stream. France, 68 p.
- 30) **Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni M.M., 2008.** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*. Vol. 10, pp. 119-125.
- 31) **Bravo A., Likitvivatanavong S., Gill S.S., and Soberón M., 2011.** *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem. Mol. Biol.* Vol. 41(7), pp. 423–431.
- 32) **Bravo A., Gómez I., Porta H., García-Gómez B.I., Rodriguez-Almazan C., Pardo L. and Soberón M., 2012.** Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity. *Microbial Biotechnology*. Vol 6, pp. 17–26.
- 33) **Brodie B.B., Evans K., et Franco J., 1993.** *Nematode Parasites of Potatoes in plant parasitic nematodes in temperate agriculture*. Ed. Cab International, London. Pp. 87-132.
- 34) **Brodie B.B., 1998a.** Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in Central and North America in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 317-331.
- 35) **Brodie B.B., 1998b.** Potato in plant and nematode interactions. *Agronomy*. N.36. USA. Pp. 567-594.
- 36) **Bruneton J., 2005.** *Plantes toxiques, végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. Ed. TEC et DOC. Paris, 618 p.
- 37) **Bruneton J. et Poupon E., 2016.** *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed. Lavoisier, TEC and DOC. Italy, 1487 p.
- 38) **Bulman S.R. and Marshall J.W., 1997.** Differentiation of Atistralasian Potato Cyst Nematode (PCN) Populations Using the Polymerase Chain Reaction (PCR). *N. Z. Crop Hort. Sci.* Vol. 25, pp.123-129.
- 39) **Burrows PR. et Jones M.G.K., 1993.** Cellular And Molecular Approaches to The Control of Plant Parasitic Nematodes in *temperate Agriculture*. Ed. Cab International, London, pp. 609-630.
- 40) **Castagnone-Sereno P., 2002.** Genetic variability in parthenogenetic root knot nematodes *Meloidogyne spp.* And their ability to overcome plant resistance genes. *Nematology*. Vol.4, pp.605-608.
- 41) **Castillo P., Nico A.I., Jimenez-Diaz R.M., 2003.** Solarisation of soil in piles for the control of *Meloidogyne incognita* in olive nurseries in southern Spain. *Plant pathology*, vol. 52, pp.770-778.
- 42) **Caubel G., Persson F. Et Rivoal R., 1980.** Les nématodes dans les rotations céréalières. *Perspectives Agricol.* Vol. 36. Pp. 31-48.
- 43) **Cavelier A., 1975.** *Cours photocopié de phytopharmacie*. INA. El HARRACH, Alger. Tome 1, 128 p.

- 44) **Cayrol J.C, Frankowski J.P., 1979.** Une méthode de lutte biologique contre les nématodes à galles des racines appartenant au genre *Meloidogyne*. Ed. P.M.H., *revue horticole*, N.273, pp.15-23.
- 45) **Cayrol J.C., Djian C., Panchaud-Mattei E., Fankowski J.P. And Pijarowski L. 1992.** *Les Nématodes Phytoparasites: Possibilités Actuelles et Perspectives*. Bull. Info. Zool. Vol.7, pp.56-62.
- 46) **Chatterjee A., Laskar S., et Ghoshmajumdar S., 1982.** Nematicidal principles from two species of *Lamiaceae*. *J. Nematol.* Vol.14, pp.118-120.
- 47) **Chauvin L., Caromel B., Kerlanm M.C., Rulliat E., Fournet S., Chauvin J.E., Grenier E., Ellissèche D., Mugniéry D., 2008.** *La lutte contre les nématodes à kyste de la pomme de terre Globodera rostochiensis et Globodera pallida*. Cahiers Agricultures. vol. 17, n° 4, Juillet-Août 2008, pp. 368-374.
- 48) **Chehat F., 2008.** *La Filière Pomme de terre Algérienne : Une Situation Précaire*. Journée d'étude sur la filière pomme de terre : Situation Actuelle et perspective. El Harrach. Algérie. pp. 1-13.
- 49) **Chitwood D.J., 2002.** Phytochemical based strategies for nematode control. *Ann. Rev. Phytopathol.* N.40, pp.49-221.
- 50) **Chunlong Z.,Yannong X., Ni X.,Chaoyan H., Lei S., Qihong H., Changqing W., Fuhua C.,2014.** Biological control effects of *Paecilomyces lilacinus* against cereal cyst nematode (CCN). *Plant protection*. Vol. 40,pp. 181-184.
- 51) **Couplan F. et Styner E., 1994.** *Guide des plantes sauvages : comestibles et toxiques*. Ed. Delachaux et Niestlet. Paris, 415 p.
- 52) **Coyne D.L., Nicol J.M. et Cole C.B., 2010.** *Les nématodes des plantes : un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire*. Ed. IITA. (International Institute of tropical agriculture), Nigeria, 93p.
- 53) **Crickmore N., Zeigler D. R., Feitelson J., Schnepf E., Van Rie J., Lereclus D.,Baum J. and Dean H.D., 1998.** Revision of the Nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, pp. 807–813.
- 54) **Cronin D., MoeNne-Loccoz Y.,Fenton A., Dunne C., Dowling DN. and O'gara F., 1997.** Role of 2,4-Diacetylphloroglucinol in the Interactions of the Biocontrol *Pseudomonas* Strain F113 with the Potato Cyst Nematode *Globodera rostochiensis*, *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 63, pp. 1357–1361.
- 55) **D'Addabbo T. , Carbonara T., Leonetti P., Radicci V., Tava A. , Avato P., 2010.** Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass from *Medicago sativa*. *Phytochem Rev.* Pp. 969-985.
- 56) **Dale M.F.B. et De Scurrah, 1998.** Breeding for resistance to the potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*: strategies, mechanisms and genetic resources in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp.167-195.
- 57) **Dandurand L.M. et Knudsen G.R., 2016.** Effect of the trap crop *Solanum sisymbriifolium* and two biocontrol fungi on reproduction of the potato cyst nematode, *Globodera pallida*. *Annals of Applied Biology*. Pp.1-10.
- 58) **Danquah W.B., Back M.A., Grove I.G., et Haydock P.P.J., 2011.** In vitro nematicidal activity of a garlic extract and salicylaldehyde on the potato cyst nematode *Globodera pallida*. *Nematology*. Vol.13, pp. 869-885.
- 59) **Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., and Posada D., 2012.** jModelTest 2: More Models, New Heuristics and Parallel Computing. *Nature Methods*. Vol. 9, 772 p.
- 60) **Davis K.G. et Williamson V.M., 2006.** Host specificity exhibited by population of endospores of *Pasteuria penetrans* to the juveniles and male cuticules of *Meloidogyne hapla*. *Nematology*. Vol.8, pp.475-476.

- 61) DeFauw SL., He Z., Larkin RP., Mansour SA., 2012. Sustainable Potato Production and Global Food Security in *Sustainable potato production: global case studies*. Ed. Springer. USA. Pp. 3-19.
- 62) De Guiran G., 1971. Le problème des *Meloidogyne* et autres nématodes sur cultures vivrières tabac, café et riz in *les nématodes des cultures*. Ed. Acta. Paris, pp.447-474.
- 63) Direction des Services Agricoles, 2008. Direction des Services Agricoles. Production de la pomme de terre dans la wilaya de Chlef.
- 64) Direction des Services Agricoles, 2014. Direction des Services Agricoles. Production de la pomme de terre dans la wilaya de Ain Defla.
- 65) Direction des Services Agricoles, 2016. *Données Statistiques sur la culture*, programme de consommation et situation de stockage de pomme de terre dans la wilaya de Tlemcen.
- 66) Djian-Caporalino C., 1991. *État actuel des connaissances sur les substances nématicides produites par des microorganismes et des végétaux supérieurs*. 3^{ème} Symposium sur les substances naturelles. Ed. Cécile et Cie, pp. 83-87.
- 67) Djian-Caporalino C., Bourdy G. , et Cayrol J.C. , 2001. Plantes nématicides et résistantes aux nématodes. In *Biopesticides d'origine végétale*. Ed. Tec and Doc. 323 p.
- 68) Djian-Caporalino C., Panchaud-Mattei E., 2002. La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites. *Revue horticole*. N. 392, pp.14-33.
- 69) Djian-Caporalino C., Bourdy G., et Cayrol J.C., 2005. *Nematicidal and nematode resistant plants in biopesticides of plant origin*. Ed. Lavoisier, Paris, 323 p.
- 70) Donn S., Griffiths B. S., Neilson R., and Daniel T.J. 2008. DNA Extraction from Soil Nematodes for Multi-sample Community Studies. *Appl. Soil Ecol*. Vol. 38, pp.20-26.
- 71) Dover G., 1982. Molecular Drive: A Cohesive Mode of Species Evolution. *Nature*. Vol. 299, pp.111-117.
- 72) Dwivedi S.K., Yadav U. and Enespa, 2015. Efficacy of Some Medicinal Plant Extracts, Oil and Microbial Antagonists Against *Fusarium spp.* Affecting Brinjal and Guava Crops. *Asian Journal of Plant Pathology*. Vol. 9, pp. 72-82.
- 73) Dyakov Yu.T., et Zinovyeva S.V., 2007a. *Plant parasite microorganisms in Comprehensive and Molecular Phytopathology*. Elsevier. UK. Pp. 19-47.
- 74) Dyakov Yu.T., et Zinovyeva S.V., 2007b. *Horizontal pathosystem: parasite attack factors; Biochemistry and molecular biology of plant parasite relation in Comprehensive and Molecular Phytopathology*. Elsevier. UK. Pp.139-159.
- 75) Ebrahimi N., Viaene N., Demeulemeester K. et Moens M., 2014. Observations on the life cycle of potato cyst nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* on early potato cultivars. *Nematology*. Vol.16, Pp. 937-952.
- 76) Eisenback J.D., 1998. Morphology and systematic in Plant and Nematode Interaction. *Agronomy*. N.36. USA. Pp. 37-64.
- 77) Eissa M.F.M., 1971. *The effect of partial soil sterilisation on plant parasitic nematodes and plant growth*. H. Veenman & Zonen N.V. Wageningen, 119 p.
- 78) El Allagui N., Bourijate M., Tahrouch S., Hatimi A., 2006. *Effet de cinq extraits végétaux sur Meloidogyne spp.de la tomate*. Biochimie internationale. Agadir, 09-12 Mai 2006. Biochimie, substance naturelles et environnement, pp.375-360.
- 79) El Bouyahiaoui R., 2016. *La revue de presse*. Ed .Institut Nationale de Recherche Agronomique Alger,pp. 24 p.
- 80) Elharas K., Daagare A., Mesfioui A. et Ouhssine M., 2013. Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. *Afrique Science*, Vol. 09, Pp.134 – 141
- 81) Erdemoglu N., Sener B., 2001. Antimicrobial activity of the heartwood of *Taxus baccata*. *Fitoterapia*. Vol. 72, Pp: 59-61.
- 82) Evans K., Franco J., et de Scurrah MM., 1975. Distribution of species of potato cyst nematodes in South America. *Nematologica*. Vol. 21, pp. 365-369.

- 83) **Evans K., Stone A.R., 1977.** A review of the distribution and biology of the potato cyst-nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. *Pans.* N. 23, pp.178–189.
- 84) **Evans K., 1982.** *Water use, calcium uptake and tolerance of cyst nematode attack in potatoes.* Potato Research. N. 25, pp.71-88.
- 85) **Evans K., 1983.** Hatching of potato cyst nematodes in root diffusates collected from twenty five potato cultivar. *Crop protection.* N. 2, pp. 97-103.
- 86) **Evans K., et Trudgill D.L., 1992.** Pest aspects of potato production. Part 1. *The nematode pests of potatoes in the potato crop*, 2nd Ed. Chapman and Hall, London, pp. 438-475.
- 87) **Evans K., Trudgill D.L., et Webster J.M., 1993.** *Plant parasitic nematode on temperate agriculture.* Ed. Cab International, London, 647 p.
- 88) **Evans k., et Haydock P.P.J., 2000.** Potato cyst nematode management: present and future. *Aspects of Applied Biology.* Vol.59, pp. 91-97.
- 89) **Everts K.L., Sardanelli S., Kratochvil R.J, Armentrout D.K., et Gallagher L.E., 2006.** Root knot and root lesion nematode suppression by cover crops, poultry litter and poultry litter compost. *Plant disease*, vol.90, pp.487-494.
- 90) **FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations), 2009.** *International year of the potato 2008: new light on a hidden treasure.* [http://www. Potato 2008. Org/en/events/ book. Html](http://www.Potato2008.Org/en/events/book.Html).
- 91) **FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations), 2012.** *L'état des ressources génétiques forestières mondiales. État actuel des ressources génétiques forestières en Algérie.* Rapport National Algérie, 58 p. [http// www.fao.org/3/a-i3825e0. pdf](http://www.fao.org/3/a-i3825e0.pdf).
- 92) **FAOSTAT, 2014.** [Http : //faostat. fao .org /site/567/default. aspx #ancor](Http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor).
- 93) **Fatemy F.et Evans K,1986.** Effects of *Globodera rostochiensis* and water stress on shoot and root growth and nutrient uptake of potatoes. *Revue Nematol .*Vol. 9, pp. 181-184.
- 94) **Fenwick D.W., 1940.** Methods for the Recovery and Counting of Cysts of *Heterodera schachtii* from Soil. *J. helminthol.*Vol. 18, pp. 155-172.
- 95) **Fleming CC., Mowat D.J. and Powers T.O., 1993.** Potato cyst nematode diagnostics using the polymerase chain reaction in Ebbles D., *Proceedings of plant health and the European single market symposium.* British Crop Protection Council, Farnham, UK. Pp. 349-354.
- 96) **Fleming CC., et Powers TO., 1998 a.** Potato cyst nematodes: species, pathotypes and virulence concepts in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control.* CAB International. UK. Pp. 51-57.
- 97) **Fleming CC. et Powers TO., 1998b.** Potato cyst nematode diagnostics: morphology,differential hosts and biochemical techniques in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control.* CAB International. UK. Pp. 91-114.
- 98) **Foot M.A., 1978.** *The ecology of Globodera pallida (Stone) Mulvey and Stone (Nematoda: Heteroderidae) at Pukekohe, New Zeland.* Phd thesis, Zoology Department, University of Auckland. New Zeland,113 p.
- 99) **Franco J., Oros R., Main G., et Ortuno N., 1998.** Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in South America in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control.* CAB International. UK. Pp. 239-269.
- 100) **Frezal P., 1954.** Importance et Répercussions de la Contamination de l'Algérie par le nématode Doré *Heterodera rostochiensis* Wooll. [Woll.]. *Comptes Rendus des Séances de l'Académie d'Agriculture*, France. Vol. 40, pp. 71-74.
- 101) **Fullaondo A., Barrena E., Viribay M., Barrena I., Salazar A., Ritter E., 1999.** Identification of Potato Cyst Nematode Species *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* by PCR Using Specific Primer Combinations. *Nematology.* Vol. 1, pp. 157-163.
- 102) **Giannakoua IO., Karpouzas DG., Prophetou-Athanasiadou D.,2004.** A novel non-chemical nematicide for the control of root-knot nematodes. *Applied Soil Ecology*, Vol. 26, pp. 69–79.
- 103) **Gill HK., Aujla IS., De Bellis L. and Luvisi A., 2017.** The role of soil solarisation in India: How an innoticed practice could support pest control. *Frontiers in Plant sciences.* Vol. 8, Pp. 1-14.

- 104) Glick BR., et Pasternak JJ., 1998. *Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA*. Second Edition. ASM Press. Washington, 683 p.
- 105) Golden A.M. et Ellington D.M.S., 1972. *Redescription of Heterodera rostochiensis (Nematoda: Heteroderidae) with a key and notes on closely related species*. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. N.39, pp. 64-78.
- 106) Gommers F.J., 1981. Biochemical interaction between nematodes and plants and their relevance to control. *Helminthological Abstracts*, Series B 50, pp. 9-21.
- 107) Greco N., Inserra., M. Brandonisio, Tirro., A. et De Marinis G., 1988. Life cycle of *Globodera rostochiensis* in Italy, *Nematol. Medit.* Vol. 16, pp. 69-73.
- 108) Greco N., Di Vito M., Parisi B., Ranalli P., Brandonisio A., et Catalano F., 2007. Resistance of new Italian potato breeding clones to cyst and root knot nematodes, *Nematol. Medit.* Vol. 35, pp. 69-73.
- 109) Grenier E., Fournet S., Petit E., et Anthoine G., 2010. A cyst nematode “species factory” called the Andes. *Nematology*. N. 12, pp. 163-169.
- 110) Griffiths B.S., Neilson S.D.R., Daniell T. J., 2006. Molecular sequencing and morphological analysis of a nematode community. *Applied soil Ecology*. Vol. 32, pp. 325-337.
- 111) **Guide illustré de la flore algérienne, 2009.** Wilaya d’Alger, Mairie de Paris, avec le soutien du ministère des affaires étrangères et européennes de la France.94 p.
- 112) Hall T.A., 1999. BioEdit: A User Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98NT. *Nucleic Acids Symp.* Ser. Vol. 41, pp.95-98.
- 113) Hancock M., 1996. *The relationship between removal date of trap crops and the control of potato cyst nematode (Globodera pallida)*. In Abstracts of Conference Papers, Posters and Demonstrations of the 13th Triennial Conference of the European Association for Potato Research, the Netherlands, Veldhoven, pp. 367-368.
- 114) Harranger J., 1971. Les nématodes des cultures maraîchères. In *Les nématodes des cultures* . Ed. A.C.T.A., Paris, pp.351-376.
- 115) Hawkes J.G., 1994. *Origins of Cultivated Potatoes and Species Relationships in Potato genetics*. Ed. J.E. Bradshaw and G.R.Mackay. CAB International .UK. Pp. 3-42.
- 116) Heaegeman A., Mantelin S., Jones J., Gheysen G., 2012. *Functional roles of effectors of plants parasitic nematodes*. *Gene*. Vol 492, pp.19-31.
- 117) Hlawa W., Kallel S., et Horrigue Raouani N., 2010. Effets des composantes de l’environnement et des pratiques culturales sur les communautés des nématodes associées à la culture de pomme de terre en Tunisie. *Nematol. Medit.* Vol.38, pp. 13-26.
- 118) Hockland S., 2002. *Potato cyst nematode, a technical overview for England and wales*. CSL, Sand Hutton, York, England, 19p.
- 119) Hockland S., 2010. Implementation of the new PCN Directive in England and Wales. 3rd Symposium on Potato Cyst Nematodes. *Aspects of Applied Biology*. Vol.103.Pp.17-21.
- 120) Holliday P., 1998. *A Dictionary of Plant Pathology*. Cambridge University Press. U.K. 536 p.
- 121) Hooper D.J et Evans K., 1993. *Extraction, identification and control of plant parasitic nematodes in plant parasitic nematodes in temperate agriculture*. Cab international, London, 648 p.
- 122) Howlett B.J., Brownlee A.G., Guest D.L, Adcock G.J. and McFadden G.I., 1992. The 5S Ribosomal RNA Genes Linked to Large and Small Subunit Ribosomal RNA Genes in the Oomycetes, *Phytophthora vignae*, *I. cinnamomii*, *P. megaspera* 1. sp. *glvcmnae* and *Saprolegnia Jerax*. *Curr. Genet.* Vol. 22, pp.455-461.
- 123) Hussey R.S., 1979. Biochemical systematic of nematodes: a review. *Helminthological Abstracts*. Serie B. N.48, pp. 141-148.
- 124) Huybens N., Mainil J. et Marlier D., 2009. Les techniques de biologie moléculaire d’analyse des populations bactériennes complexes. *Ann. Méd. Vét.* Vol.153, pp. 112-128.
- 125) Ijani A.S.M., Magabala R.B. and Nchimbi-Msolla S., 2000. Efficacy of Different Control Methods Applied Separately in a Combination in Managing Root-knot Nematodes (*Meloidogyne spp.*) in Common Beans. *Eur. J. Plant Pathol.* Vol. 106, pp.1-10.

- 126) **İmren M, Waeyenberge L, Viaene N., Elekcioğlu I.H., Dababat A., 2015.** Morphological and molecular identification of cereal cyst nematodes from the eastern Mediterranean region of Turkey. *Turk. J. Agric. For.* Vol. 39, pp. 91-98.
- 127) **Institut National de Protection des végétaux (INPV), 2009.** *Nématode à kystes de la Pomme de Terre Globodera rostochiensis et G. pallida*, Algérie, 4p.
- 128) **Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles (ITCMI), 2010.** Fiche techniques valorisée des cultures maraichères et Industrielles. *La culture de la pomme de terre*. Ed. ITCMI. Algérie, 10 p.
- 129) **Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles (ITCMI), 2013.** *La Culture de la Pomme de Terre: Production et Possibilités de Transformation*. Journée de la pomme de terre C. C. I. Dahra, Mostaganem, Algérie. 04 Décembre 2013, 10 p.
- 130) **Janssen G.J.W., Janssen R., Van Norel A., Verkerk-Bakker B. and Hoogedoom J., 1998.** Expression of Resistance of the Root-knot Nematodes *Meloidogyne hapla* and *M. Fallax* in wild *Solanum spp.* Under Field Conditions. *Eur. J. Plant Pathol.* Vol. 102, pp.869-865.
- 131) **Jones M.G.K And Northcote D.H., 1972.** *Nematode-induced syncytium–multinucleate transfer cell.* *Journal of Cell Science.* N. 10, pp.789–809.
- 132) **Jones, F.G.W., 1979.** *The problems of race-specificity in plant resistance breeding.* Proceedings of the 1979 British Crop Protection Conference Pests and diseases 10th British Insecticide and Fungicide Conference 19-22 November 1979, Brighton, UK. Vol. 3, pp. 741-752.
- 133) **Jones F.G.H. et Kempton R.A., 1982.** *Population dynamics, population models and integrated control in Southey J.F. ed., plant nematology.* Ministry of Agriculture, Fisheries and Food 3 rd edn, 2 nd imp. Her Majesty's Stationery Office, London, pp. 333-361.
- 134) **Joyce S.A., Reid A., Driver F., and Curran J., 1994.** Application of Polymerase Chain Reaction (PCR) Methods to Identification of Entomopathogenic Nematodes. P: 178-187 in M. Burnell, R.-U. Ehlers and j.P. Masson, eds. COST 812 Biotechnology: *Genetics of Entomopathogenic Nematode-Bacterium Complexes.* Proceedings of Symposium and Workshop, St. Patrick's College, Maynooth, County Kildare, Ireland, Luxembourg: *Euro. Commi.* Vol. 12, pp.178-187.
- 135) **Kaczmarek A., MacKenzie K., Kettle H., and Blok V.C., 2014.** Influence of soil temperature on *Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*. *Phytopathol. Mediterr.* Vol. 53, pp.396-405.
- 136) **Kadioglu I., Yanar Y., 2004.** Allelopathic effects of plant extracts against seed germination of some weeds. *Asian J.Plant Sci.* Vol.3, pp.472-475.
- 137) **Kaskavalci G., 2007.** Effects of soil solarization and organic amendment treatments for controlling *Meloidogyne incognita* in tomato cultivars in western *A natolia.* *Turk.J.Agric.For.* Vol. 31, pp.159-167.
- 138) **Katan J., 1987.** Soil solarization in: *CHET I.* Ed. Innovative Approaches to plant disease control. J. wiely and sons, New York, pp. 77-105.
- 139) **Katan J., 2000.** The methyl bromide issue: problems and potential solutions. *Journal of plant pathology*, vol.81, pp.153-159.
- 140) **Katoh K., and Standley D.M., 2013.** MAFFT Multiple Sequence Alignment 542 Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Mol. Bio. Evol.* Vol. 30, pp. 772-780.
- 141) **Kavitha P.G., Jonathan E.I. and Nakkeeran S., 2012.** Effects of crude antibiotic of *Bacillus subtilis* on hatching of eggs and mortality of juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Nematol. medit.* Vol. 40, pp. 203-206.
- 142) **Kerry B., 1988.** *Fungal Parasites of Cyst Nematodes. Agriculture, Ecosystems, and Environment.* Vol. 24, pp. 293-305.
- 143) **Kerry B. R., 2000.** Rhizosphere Interactions and the Exploitation of Microbial Agents For The Biological Control Of Plant-Parasitic Nematodes. *Annu. Rev. Phytopathol.* Vol.38, pp. 423–41.
- 144) **Khalfi O., Sahraoui N., Bentahar F., and Boutekedjiret C., 2008.** Chemical composition and insecticidal properties of *Origanum glandulosum* (Desf) essential oil from Algeria. *J.Sci . Food. Agri* 88, pp.1562-1566 .

- 145) **Khalighi-Sigaroodi F., Ahvazi M., Yazdani D., Kashefi M., 2012.** Cytotoxicity and Antioxidant Activity of Five Plant Species of Solanaceae Family from Iran. *Journal of Medicinal Plants*, vol.11, pp. 41-53.
- 146) **Khan M.W., 1993.** *Nematode Interactions*. CHAPMAN & HALL. India. 301 p.
- 147) **Kiani Z., Zafari D., Rezaee S., Arjmandian A., Gitti M. et Struik P.C., 2013.** Co-limitation of potato growth by Potato Cyst Nematode (*Globodera rostochiensis*) and *Rhizoctonia solani*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, vol. 46, pp. 2401–2408.
- 148) **Kiewnick S. Et Sikora R.A., 2006a.** Biological control of the root knot nematode *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* strains 251. *Biological control*, vol.38, pp.179-187.
- 149) **Kiewnick S. Et Sikora R.A., 2006b.** Evaluation of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 for the biological control of the northern root knot nematode *Meloidogyne hapla*. *Nematology*, vol.8, pp.69-78.
- 150) **Kleynhans K.P.N., 1998.** Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in Africa in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 347-351.
- 151) **Kloepper J.W., Ryu C.M. and Zhang S.A. 2004.** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus spp.* *Phytopathology*, vol. 94, pp. 1259-1266.
- 152) **Kumar D., Maurya N., Kumar P., Singh H., Kumar Addy S., 2014.** Assessment of germination and carnivorous activities of a nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides* in fungistatic and fungicidal soil environment. *Biological Control*, vol.82, pp. 76-85.
- 153) **Lebreton P., et Pérez de Paz P.L., 2001.** Définition du Genévrier de Phénicie (*Juniperus aggr.phoenicea*), reconsidéré à ses limites biogéographiques/Méditerranée orientale (crête et chypre) et Atlantique (iles Canaries). *Bull.Mens.Soc.Linn.Lyon*. Vol.70 (4), pp. 73-92.
- 154) **Lord J. S., Lazzeri L., Atkinson H.J. and Urwin P.E., 2011.** Biofumigation for Control of Pale Potato Cyst Nematodes: Activity of Brassica Leaf Extracts and Green Manures on *Globodera pallida* in Vitro and in Soil. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 59, pp. 7882–7890.
- 155) **Low J., 2015.** *Potato and sweet potato in Africa: Transforming the Value Chains for Food and Nutrition Security*. Ed. Cab International.U.K. 632p.
- 156) **Madani M.,Vovlas N., Castillo P., Subbotin S.A., Moens M., 2004.** Molecular Characterization of Cyst Nematode Species (*Heterodera spp.*) from the Mediterranean Basin Using RFLPs and Sequences of ITS-rDNA. *J. Phytopathol.* Vol. 15, pp. 229-234.
- 157) **Madani M., Subbotin S.A., Ward L.J., Li X., and De Boer S.H., 2010.** Molecular Characterization of Canadian Populations of Potato Cyst Nematodes, *Globodera rostochiensis* and *G. pallida* Using Ribosomal Nuclear RNA and *Cytochrome b* Genes. *Can. J. Plant Pathol.* Vol. 32, pp.252-263.
- 158) **Manzanilla-Lopez R.H., Esteves I., Powers S.J. et Kerry B.R., 2011.** Effects of crop plants on abundance of *Pochonia chlamydosporia* and other fungal parasites of root-knot and potato cyst nematodes. *Annals of Applied Biology*, pp. 1-12.
- 159) **Marks R.J. et Brodie B.B., 1998.** Introduction: Potato cyst nematodes - an international pest complex in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 1-4.
- 160) **Marks R.J. et Rojancovski E., 1998.** Potato Cyst Nematode (*Globodera* species) in central and Eastern Europe, the Balkans and the Baltic states in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 299-315.
- 161) **Marshall J.W.,1998.** Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in New Zealand and Australia in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 353-394.
- 162) **Mathiew C., Pieltain F., 1998.** *Analyse physique des sols: Méthodes choisies*. Ed. TEC &DOC.Paris, 275 p.
- 163) **Mathiew C., Pieltain F., 2003.** *Analyse chimique des sols: Méthodes choisies*. Ed. TEC &DOC. Paris, 387 p.

- 164) **Matveeva EM., Gruzdeva LI., Sysoeva MI., et Sherudilo EG., 2010.** Management practice for potato cyst nematode in the north west of Russia. 3rd Symposium on Potato Cyst nematodes. *Aspects of Applied Biology*. Vol.103,pp.67-72.
- 165) **McGregor I., 2007.** *The Fresh Potato Market in Potato Biology and Biotechnology: Advances and perspectives*. Ed. Elsevier. Italy, pp. 3- 44.
- 166) **McSorley R., 1998.** Population dynamics in plant and nematode interactions. *Agronomy*. N.36. USA. Pp.109 -133.
- 167) **McSorley R., 2003.** Adaptation of nematodes to environmental extremes. *Florida entomol.* Vol. 86, pp. 138-142.
- 168) **Meyer S.L.F., Huettel R.N., Liu X.Z., Humber R.A., Juba J. Et Nitao J.K., 2004.** Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode egg hatch and juvenile motility. *Nematology*, vol.6, pp.23-32.
- 169) **Mezerket A. et Sellami S., 2013.** *Effet de l'huile essentielle de Origanum glandulosum sur le développement de Meloidogyne incognita (Nematoda: Meloidogyinidae) sur tomate.* Communication affichée au Colloque International: 50 ans de formation et de recherche à l'ENSA Algérie, 22-24 avril 2013.
- 170) **Meziane D., 1991.** *Histoire de la pomme de terre.* Detitique, n. 25, 29 p.
- 171) **Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la Pêche, 2007.** *Index des produits phytosanitaires a usage agricole.* Ed. Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques, Ministère de l'agriculture et du développement rural, 252 p.
- 172) **Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la Pêche, 2014.** *Statistiques Agricoles: Superficies et Production,* Algérie. B: 64 p.
- 173) **Moxnes F., Hausken k., 2007.** The population dynamics of potato cyst nematodes. *Ecological modeling*, N. 207, pp. 339–348.
- 174) **Mugniéry D., 1982.** *Diversité régionales d'application de lutte intégrée en culture de pomme de terre en fonction de la variabilité des populations de nématodes à kystes.* INRA, Renne, Pp.629-644.
- 175) **Mugniéry D., 1984.** Les Nématodes de la Pomme de Terre. *J.Agronomy*. Vol. 3, pp. 45 –50.
- 176) **Mugniéry D. et Balandras C., 1984.** Examen des possibilités d'éradication du nématode à kyste, *G.pallida* Stone. *Agronomie*, Vol. 4, pp. 773-778.
- 177) **Mugniéry D. et Philips M.S., 2007.** *The Nematode Parasits of Potato in Potato Biology and Biotechnology: Advances and perspectives.* Ed. Elsevier. Italy, pp.569-594.
- 178) **Nakachia J.M et Jacqemont R., 1971.** L'analyse nématologique in *les nématodes des cultures.* Ed . ACIA et PNGPC. Paris, pp. 759-792.
- 179) **Nautiyal C.S, et Dion P., 2008.** *Soil Biology: Molecular Mechanisms of plant and Microbe Coexistence.* Springer. Vol.15, Berlin, 474 p.
- 180) **Naz I., Palomares-Rius E., Blok V., Saifullah, Ali S., et Ahmed M., 2012.** Prevalence, incidence and molecular identification of root-knot nematodes of tomato in Pakistan. *African journal of Biotechnology*. Vol 11, pp. 16546-16556.
- 181) **Norton D.C., 1978.** *Ecology of plant parasitic nematodes.* John Wiley & Sons. New York, U.S.A., 268 p.
- 182) **Norton D.C., 1989.** Abiotic soil factors and plant parasitic nematode communities. *J. Nematol.* Vol. 21, pp. 299 - 307.
- 183) **Observatoire des Filières Agricoles et Agroalimentaires (ONAFa), 2014.** *Mémento de la pomme de terre Algérienne.* Ed. Ministère de l'Agriculture et de Développement Rural, 15 p.
- 184) **OEPP/EPPO (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes), 1994.** *EPPO Distribution list.*1993-12, EPPO Secretariat, Paris. <http://archives.eppo.int/EPPO.Reporting/1994/Rse-9401.pdf>.
- 185) **OEPP/EPPO (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes), 2013.** *Globodera rostochiensis and Globodera pallida.* Bulletin OEPP/EPPO Vol. 43 (1), pp. 119–138.

- 186) OEPP/EPPO (Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes), 2016. *EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests*. (Version 2016-09), 17 p. <https://www.eppo.int/QUARANTINE/listA2.htm>.
- 187) Office Nationale de Météorologie (ONM), 2014. Relevé météorologiques de l'année 2013. Office National de Météorologie (ONM), Alger.
- 188) Office Nationale de Météorologie (ONM), 2015. Relevé météorologiques de l'année 2014. Office National de Météorologie (ONM), Alger.
- 189) Office Nationale de Météorologie (ONM), 2016. Relevé météorologiques de l'année 2015. Office National de Météorologie (ONM), Alger.
- 190) Office Nationale de Météorologie (ONM), 2017. Relevé météorologiques de l'année 2016. Office National de Météorologie (ONM), Alger.
- 191) O'flaherty S.M., Hirsch P.R. Et Kerry B.R., 2003. The influence of the root knot nematode *Meloidogyne incognita*, the nematicide aldicarb and the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* on heterotrophic bacteria in soil and the rhizosphere. *European journal of soil science*, vol.54, pp.759-766.
- 192) Oka Y., Nacar S., Putievsky E., Ravid U., Yaniv Z., et Spiegel Y., 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root knot nematode. *Phytopathologie*, vol.90, pp.710-715.
- 193) Olanya M., Nyankanga R., Ojiambo P., Lemaga B., Kakuhenzire R., et Fontem D., 2012. *Optimization of late Blight and Bacterial Wilt Management in Potato Production Systems in the Highland Tropics of Africa in Sustainable potato production: global case studies*. Ed. Springer .USA. Pp. 509-531.
- 194) Orui Y., 1996. Discrimination of the main *Pratylenchus* species (Nematoda:Pratylenchidae) in Japan by PCR-RFLP analysis. *Appl.Entomol. Zool.* Vol.31, Pp. 505-514.
- 195) Orui Y., 1998. Identification of Japanese Species of the Genus *Meloidogyne* (Nematoda: Meloidogynidae) by PCR-RFLP analysis. *Appl.Entomol. Zool.* Vol. 33, Pp. 43-51.
- 196) Orui y., et Mezukubo L., 1999. Discrimination of seven *Pratylenchus* species (Nematoda:Pratylenchidae) in Japan by PCR-RFLP analysis. *Appl. Entomol. Zool.* Vol. 34, Pp. 205-211.
- 197) Palomares-Rius J.E., Hedley P., Cock P. J.A., Morris J. A., Jonesand J. T. Et Blok V. C., 2015. *Gene expression changes in diapause or quiescent potato cyst nematode, Globodera pallida, eggs after hydration or exposure to tomato root diffusate*. PeerJ4, pp.1-23.
- 198) Paris F. et Schauenberg P., 1977. *Guide des plantes médicinales: analyse, description et utilisation de 400 plantes*. Paris, 396 p.
- 199) Patel PK., Patel KV. and Gandhi TR., 2011. *Evaluation of Effect of Taxus baccata Leaves Extract on Broncho-constriction and Bronchial Hypereactivity in Experimental Animals*, vol. 3, Issue 1, pp. 41-47.
- 200) Perry R.N et Wharton, 1985. Cold tolerance of hatching and unhatched second stage juveniles of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *International journal of parasitology*, vol. 15, N. 4, pp. 441-445.
- 201) Perry R.N., 1997. *Plant signals in nematode hatching and attraction*. In Fenoll C., G rundler F.M.W. and Ohl, S.A.(eds) *Cellular and Molacular Aspects of Plant Nematode Interactions*. Kluwer Academic Press, Dordrecht. Netherlands, pp. 38-50.
- 202) Perry R.N., 1998. The physiology and sensory perception of potato cyst nematodes *Globodera* species in *potato cyst nematode: biology, distribution and control*. Ed. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 27-49.
- 203) Perry R.N et Aumann N., 1998. *Behavior and sensory responses in Perry R.N. et Wright D.J. The physiology and Biochemistry of Free living and Plant parasitic nematodes*. CAB International, Wallingford, UK, pp.75-102.
- 204) Pharmacopée Russe, 1991. *Pharmacopée Russe*, 11 éditions, tome II. Moscou, 1250 p.
- 205) Philips M.S., 1994. Inheritance of Resistance to Nematodes in *Potato Genetics* Ed. J.E. Bradshaw and G.R.Mackay. CAB International .UK. pp. 319-337.

- 206) **Philips MS., et Trudgill DL., 1998.** Population modelling and integrated control options for potato cyst nematodes in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 153-163.
- 207) **Picard D., Sempere T., and Plantard O., 2007.** A Northward Colonisation of the Andes by the Potato Cyst nematode During Geological Times Suggests Multiple Host-shifts From Wild to Cultivated Potatoes. *Mol. Phylogenet. Evol.* Vol. 42, pp. 308-316.
- 208) **Plantard O., Picard D., Valette S., Scurrah M., Grenier E., et Mugniery D., 2008.** Origin and genetic diversity of Western European population of the potato cyst nematode (*Globodera pallida*) inferred from mitochondrial sequences and microsatellite *loci*. *Mol. Ecol.* Vol.17,pp.2208-2218.
- 209) **Powers T.O., Todd T.C., Bernell A.M., Murray P.C.B., Fleming C.C., Szalansky A.L., Adams B.A. and Harris T.S., 1997.** The rDNA internal transcribed spacer region as a taxonomic marker for nematodes. *Journal of Nematology*, vol. 29, pp. 441-450.
- 210) **Powers T.O., 2004.** Nematode Molecular Diagnostics: from bands to barcodes. *Annu. Rev. Phytopathol.* Vol. 42. Pp. 367–83.
- 211) **Pylypenko L.A., Philips M.S., and Blok V.C., 2008.** Characterisation of two Ukrainian populations of *Globodera pallida* in terms of their virulence and mtDNA, and the biological assessment of a new resistant cultivar Vales Everest. *Nematology*, vol. 10, pp.585-590.
- 212) **Radulović N., Blagojević P., Palić R. & Zlatković B., 2010.** Chemical Composition of the Essential Oil Hydrodistilled from Serbian *Taxus baccata* L. *Journal of essential oil research.* Vol. 22, pp. 458-461.
- 213) **Raman K.V., Golmirzaie A. M, Palacios M., et Tenorio J., 1994.** Inheritance of resistance to insects and mites in *Potato Genetics*. Ed. J.E. Bradshaw and G.R. Mackay. CAB. International. UK. Pp. 447-463.
- 214) **Ramdani M., Lograda T., Silini H., Zeraib A., Chalard P., Figueredo G., Bouchaala M. and Zerrar S., 2013.** Antibacterial Activity of Essential oils of *Juniperus phoenicea* from Eastern Algeria. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* Vol. 3 (11), pp. 022-028.
- 215) **Reddy P., 1983.** *Plant nematology*. Ed. Agri. Publ. Acad. India, 287 p.
- 216) **Reid A., Evans F., Mulholland V., Cole Y. and Pickup J., 2015.** High Throughput Diagnosis of Potato Cyst Nematodes in Soil Samples. *Protocol Plant Pathology Methods in Molecular Biology.* Vol. 1302, pp. 137-148.
- 217) **Reitz M., Rudolph K., Schroder I., Hoffmann-Hergarten S., Hallmann J., and Sikora R. A., 2000.** Lipopolysaccharides of *Rhizobium etli* Strain G12 Act in Potato Roots as an Inducing Agent of Systemic Resistance to Infection by the Cyst Nematode *Globodera pallida*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 66, No. 8, pp. 3515–3518.
- 218) **Renco M. et Sassanelli N., 2012.** Evaluation of effect of natural plant products against potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* patotype R01. *Acta phytotechnica et zootechnica 1*, pp. 19-22.
- 219) **Renco M. et Sassanelli N., 2014.** *Evaluation of nematicidal activity of hydrolysable tannins on the potato cyst nematode Globodera pallida.* V4 Parasitological Meeting – Parasites in the Heart of Europe, 25-31 May, Stará Lesná, Slovak Republic.
- 220) **Richardson Pn. and Grewal Ps., 1993.** *Nematode pesto of glass house crops and mush rooms in plant parasitic nematodes in temperate agriculture.* CAB International, London, 648 p.
- 221) **Ritter M., 1971.** Les nématodes et l'agriculture in *les nématodes des cultures*. Ed. A.C.T.A., Paris, pp. 7-66.
- 222) **Rivoal R., Valette S., Bekal S., Gauthier J.P., and Yahyaoui A., 2003.** Genetic and Phenotypic Diversity in the Gramineous Cyst Nematode Complex, Inferred from PCR- RFLP of Ribosomal DNA and Morphometric Analysis. *Eur. J. Plant Pathol.* Vol. 109, pp.227-241.
- 223) **Ronquist F. and Huelsenbeck J. P., 2003.** MRBAYES3: Bayesian Phylogenetic Inference under Mixed Models. *Bioinformatics.* Vol. 19, pp. 1572-1574.

- 224) **Sahi L., 2014.** *La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie in : marché des plantes aromatiques et médicinales: analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie.* Edit Ilbert I., Hoxha V., Sahi L., Courivaud A. et Chailan C., CIHEAM et France Agri Mer. Serie B. N.73(222P) étude et recherche, pp.101-140.
- 225) **Samoylenko V., Chuck Dunbar D., Abdul Gafur Md., Khan S.I., Ross S.A., Mossa J.S., El-Feraly F.S., Tekwani B.L., Bosselaers J. and Muhammad I., 2008.** Antiparasitic, Nematicidal and Antifouling Constituents from *Juniperus* Berries. *Phytother. Res.* Vol. 22, pp. 1570–1576.
- 226) **Sasanelli N., et Di Vito M., 1991.** The effect of *Tagetes spp.* Extracts on the hatching of Italian populations of *Globodera rostochiensis*. *Nematol. Med.* Vol .19, pp. 135-137.
- 227) **Schneider j. et Mugniéry M.,1971.** *Les nématodes parasites de la pomme de terre.* Pp:327-348 in les nématodes des cultures. Journées d'études et d'information ACTA- APNGPC, Paris, 3.4.5 Novembre 1971,828 p.
- 228) **Schnepf E., Crickmore N., Van rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D.R., and Dean D.H., 1998.** *Bacillus thuringiensis* and its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiology and molecular biology reviews.* Vol. 62, pp. 775–806.
- 229) **Scholte K., 2000.** Growth and development of plants with potential for use as trap crops for potato cyst nematodes and their effects on the numbers of juveniles in cysts. *Ann. appl. Biol.* Vol.137, pp. 031-042.
- 230) **Schots A., Gommers F.J. et Egberts E.,1992.** Quantitative ELISA for the detection of potato cyst nematodes in soil samples. *Fundamental and applied nematology.* Vol. 15, pp. 55-61.
- 231) **Scotto La Massesse, 1961.** *Aperçu sur les Problèmes Posés par les Nématodes Phytoparasites en Algérie.* Journée d'Étude et d'Information. Association de Coordination Technique Agricole, F. N. G. P. C., Paris, pp. 1-27.
- 232) **Scotto La Massesse J.C., 1986.** Influence des caractéristiques bio – écologiques des milieux sur la distribution des nématodes telluriques. *Bull. Rech. Agro.* Gembloux, N. 21, pp.225 – 272.
- 233) **Sellami S. et Mezerket A., 2006.** Nematicidal activity of some plant leaf extracts against *Meloidogyne incognita*. *Abstract of 9th Arab Congress of plant protection*, Damascus Syrie, 19-23 Nov.
- 234) **Sellami S., Mezerket A., et Dahmne T., 2009.** *Évaluation de l'efficacité de quelques huiles essentielles contre Meloidogyne incognita (Nematoda:Meloidogynidae).* Colloque international sur la gestion des risqué phytosanitaires. Marrakech, Maroc, 9-11 Novembre 2009.Vol.1, pp. 410- 418.
- 235) **Sellami S., Mezerket A., et Dahmne T., 2010a.** *Activité nematicide de quelques huiles essentielles contre Meloidogyne incognita.* *Nematol. medit.* Vol.38, pp. 195-201.
- 236) **Sellami S., Mezerket A., et Habes-Khali O., 2010b.** *Effet des extraits foliaires de quelques plantes contre les Meloidogyne.* Proceeding du Septième Congrès de l'association Marocaine de Protection des Plantes, Mai 2010, Rabat, Maroc, vol. 2, pp. 437-444.
- 237) **Siddiqui L.A., Oureshi S.A., Sultana V., Ehteshamul-Haque S., et Ghaffar A., 2000.** Biological control of root rot-knot disease complex of tomato. *Plant Soil.* 227, pp. 163–169.
- 238) **Siddiqui I.A., Shaukat S.S., 2004.** Systemic resistance in tomato induced by biocontrol bacteria against the root knot nematode *M.javanica* is independent of salicylic acid production. *J.Phytopathology*, vol.152, pp.48-54.
- 239) **Siddiqui M.A., 2005.** Management of plant parasitic nematode by soil solarization. *Plant.disease.* India, pp. 238-253.
- 240) **Singh H.P., Batish D.R., Setia N.,et Kohli R.K.,2005.** Herbicidal activity of volatile oils from *Eucalyptus citridora* against *Parthenium hysterophorus*. *Annals of applied biology*, vol.146, pp.89-94.
- 241) **Skantar A.M., Handoo Z.A., Carita L.K., Chittwood D.J., 2007.** Morphological and Molecular Identification of *Globodera pallida* Associated with Potato in Idaho. *Journal of Nematology.* Vol. 39, pp. 133-144.

- 242) Skantar A.M., Handoo Z.A., Zasada I.A., Ingham R.E., Carta L.K., and Chitwood D.J., 2011. Morphological and Molecular Characterization of *Globodera* Populations from Oregon and Idaho. *Phytopathology*. Vol. 101, pp. 480-491.
- 243) Smit A.L. et Vamerali T., 1998. The influence of potato cyst nematodes (*Globodera pallida*) and drought on rooting dynamic of potato (*Solanum tuberosum* L.). *European journal of Agronomy*. N.9, pp. 137-146.
- 244) Spears J.F., 1968. *The golden Nematode Handbook, Survey, Laboratory, Control, and Quarantine Procedures*. Handbook N.353, United States Department of Agriculture, United States Government printing Office, Washington, DC, 81p.
- 245) Stapleton J.J., 2000. Soil solarisation in various agricultural production systems. *Crop protection*, Vol. 19, pp. 837-841.
- 246) Starnes R.L., Liu C.L., et Maron P.G., 1993. History use and future of microbial insecticides. *Amer. Entomol.* Vol.39, pp.83-91.
- 247) Stoll G., 2002. Protection naturelle des végétaux en zone tropical. *Acta*. Ed. Margaf verlag, Allemagne, 386 p.
- 248) Stone A.R., 1972. *Heterodera pallida* n. sp. (Nematoda:Heteroderidae) a Second Species of Potato Cyst nematode. *Nematologica*. Vol. 18, pp.591 –606.
- 249) Stone A.R., 1973. *CIH Descriptions of Plant-Parasitic Nematodes No 15 and 16 Globodera pallida and Globodera rostochiensis*. CAB International, Wallingford (GB).
- 250) Storey R.M.J., 1984. The relationship between neutral lipid reserves and infectivity for hatched and dormant juveniles of *Globodera* spp. *Annals of Applied Biology*. Vol. 104. Pp. 511-520.
- 251) Storey R.M.J., 2007. *The Harvested Crop in Potato Biology and Biotechnology: Advances and perspectives*. Ed. Elsevier. Italy, pp. 441-470.
- 252) Subbotin S.A., Halford P.D., and Perry R.N., 1999. Identification of populations of potato cysts nematodes from Russia using protein electrophoresis, rDNA and RADPS. *Russian Journal of Nematology*. Vol. 7, pp.57-63.
- 253) Subbotin S.A., Halford P.D., Warry A. and Perry R.N., 2000. Variations in Ribosomal DNA Sequences and Phylogeny of *Globodera* parasitizing Solanaceous Plants. *Nematology*. Vol. 2, pp. 591-604.
- 254) Subbotin S.A, Vierstraete A., De Ley P., Rowe J., Waeyenberge L., Moens M., and Vanfleteren J. R., 2001. Phylogenetic Relationships within the Cyst Forming Nematodes (Nematoda, *Heteroderidae*) based on analysis of sequences from the ITS region of ribosomal DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* Vol. 21, pp. 1-16.
- 255) Subbotin S.A, Del Prado Vera IC., Mundo-Ocampo M., Baldwin J.G, 2011. Identification, phylogeny and phylogeography of circumfenestrate cyst nematodes (Nematoda: *Heteroderidae*) as inferred from analysis of ITS-rDNA. *Nematology*. Vol.13, pp. 805-824.
- 256) Swiezynski K.M., 1994. *Inheritance of Resistance to Viruses in Potato Genetics*, Ed. J.E. Bradshaw and G.R.Mackay. CAB International.UK. Pp: 339-363.
- 257) Szalanski A.L., Sui D.D., Harris T.S., and Powers T.O., 1997. Identification of cyst nematodes of agronomic and regulatory concern by PCR-RFLP of ITS1. *Journal of Nematology*, vol. 29, pp. 225-267.
- 258) Tagu D., 1999. *Principes des techniques de biologie moléculaires*. Ed. INRA. France.131 p.
- 259) Takemoto S., Kanzaki N., et Futai K., 2005. PCR-RFLP image analysis: a practical method for estimating isolate-specific allele frequency in a population consisting of two different strains of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchida: Aphelenchoididae). *Appl. Entomol. Zool.* Vol.40, pp. 529–535.
- 260) Tanaka R., Kikuchi T., Aikawa T. et Kanzaki N., 2012. Simple and quick methods for nematode DNA preparation. *Appl. Entomol. Zool.* Vol.47, pp. 291–294
- 261) Thiéry M., and Mugniéry D., 1996. Interspecific rDNA Restriction Fragment Length Polymorphism in *Globodera* species, Parasites of Solanaceous Plants. *Fund. Appl. Nematol.* Vol. 19, pp. 471-479.

- 262) Thomas W.K., Vida, J.I., Frisse L.N.I., Mundo M., and Baldwin J.C., 1997. DNA Sequences from Formalin Fixed Nematodes: Integrating Molecular and Morphological approaches to Taxonomy. *J. Nematol.* Vol. 29, pp.250-254.
- 263) Tirchi N., Troccoli A., Fanelli E., Mokabli A., Mouhouche F., De Luca F., 2016. Morphological and Molecular Identification of potato and cereal cyst nematode isolates from Algeria and their phylogenetic relationships with other populations from distant their geographical areas. *Eur. J. Plant. Pathol.* Vol. 146, pp. 861-880.
- 264) Toumi F., Waeyenberge L., Viaene N., Dababat A., Nicol J.M., Ogbonnaya F., et Moens M., 2013. Development of a species-specific PCR to detect the cereal cyst nematode, *Heterodera latipons*. *Nematology*, Vol 15, pp.709-717.
- 265) Treonis AM.et Wall DH., 2005. Soil nematodes and desiccation survival in the extreme arid environment of the Antarctic dry valleys. *Integr. Comp. Biol.* Vol. 45, pp. 741-750.
- 266) TrifonovaZ., Tsvetkov I., Bogatzevska N., et Batchvarova R., 2014. Efficiency of *Pseudomonas SPP.* For biocontrol of the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* (Woll.). *Bulgarian Journal of Agricultural Science.* Vol.20, pp. 666-669.
- 267) Trudgill DL., Evans K., et Philips MS., 1998. Potato cyst nematodes: damage mechanisms and tolerance in the potato in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 117-133.
- 268) Turner SJ., et Evans K., 1998. The origins, global distribution and biology of potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* (Woll.) and *Globodera pallida* Stone) in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp: 7-26.
- 269) Turner S.J and Rowe J.A., 2006. *Cyst nematodes*. Plant nematology. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 91-120.
- 270) Uehara T., Kushida A., Itou K., Narabu T., et Momota Y., 2005. Discrimination of three cyst-forming nematodes of the genus *Globodera* (Nematode: *Heteroderidae*) from Japan based on PCR-RFLP of ribosomal DNA. *Appl. Entomol. Zool.* Vol. 40, pp.537–543.
- 271) Umaerus V. et Umaerus M., 1994. *Inheritance of Resistance to Late Blight in Potato Genetics* Ed. J.E. Bradshaw and G.R.Mackay. CAB International .UK. Pp. 365-401.
- 272) Umamaheswari R., Somasekhar N., Manorama K. and Joseph TA., 2012. Eco-Friendly Management Of Potato Cyst Nematodes in The Nilgiris Of Tamil Nadu. *Potato J.* Vol. 39 (2), pp. 185-190
- 273) USDA (United States Department of Agriculture), 1986. *Clés de taxonomie des sols*, Mongr. techn. N. 13, Washington, 374 p.
- 274) Valdes Y., Viaene N., Perry R.N., et Moens M., 2011. Effect of the green manures *Sinapsis alba*, *Brassica napus* and *Raphanus sativus* on hatching of *Globodera rostochiensis*. *Nematology*. Vol. 13, pp. 965- 975.
- 275) Valkonen JP.T., 2007. Viruses: Economical Losses and Biotechnological Potentiel In *Potato Biology and Biotechnology: Advances and perspectives*. Ed. Elsevier. Italy,pp. 619- 641.
- 276) Valkonen JP.T, Kreuze J.F., et Ndunguru J., 2015. Disease Management, Especially Viruses In *Potato and Sweet Potato in Africa « Transforming the Value Chaine for Food and Nutrition Security »*. Ed .CAB International .UK. Pp. 339-349.
- 277) Vandamme V., Hoedekie A. et Viaene N., 2005. Long term efficacy of *Pochonia chlamydosporia* for management of *Meloidogyne javanica* in glasshouse crops. *Nematology*. Vol.7, pp.727-736.
- 278) Van der Wolf JM., et De Boer SH., 2007. *Bacterial Pathogens of Potato in Potato Biology and Biotechnology: Advances and perspectives*. Ed. Elsevier. Italy, pp. 595-600.
- 279) Van Riel HR., et Mulder A., 1998. Potato cyst nematodes (*Globodera species*) in Western Europe in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 271-297.
- 280) Veji P., Skupinová S., Sedlák P., Domkářová J.,2002. Identification of PCN species (*Globodera rostochiensis*, *G. pallida*) by using of ITS-1 region's polymorphism. *ROSTLINNÁ VÝROBA*.Vol. 48, pp. 486–489.

- 281) Verderjo-Lucasj.W., Sorribas F.T., Ornat C., Gallano M., 2003. Evaluating *Pochonia chlamydosporia* in a double-copping system of lettuce and tomato in plastic houses infested with *M.icognita*. *Plant pathology*, vol.52,pp.521-528.
- 282) Vrain T.C., Wakarchuk D.A., Levesque A.C., and Hamilton, R.I., 1992. Intraspecific rDNA Restriction Fragment Length Polymorphisms in the *Xiphinema americanum* group. *Fund. Appl. Nematol.* Vol. 15, pp.563-573.
- 283) Wang K.H., Mc Sorley R. et Gallaher R.N., 2003. Effect of *Crotalaria juncea* amendment on nematodes communities in soil with different agriculture histories. *Journal of nematology*, vol. 35 (3), pp. 294-301.
- 284) Wang K.H., Mcsorley R. et Kokali-Burelle N., 2006. Effects of cover cropping, solarization and soil fumigation on nematode communities. *Plant soil*, vol.286, pp. 229-243.
- 285) Weber D.C., 2013. *Biological control of Potato insect pests in Insect Pests of Potato: Global Perspectives on Biology and Management*. Elsevier, USA, pp. 399-437.
- 286) Wei J.-Z., Hale K., Carta L., Platzer E., Wong C., Fang S.-C., and Arioan R.V., 2003. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 100, pp. 2760–276.
- 287) Wendt K.R., Vrain T.C. and Webster, J. M., 1993. Separation of Three Species of *Ditylenchus* and Some Host Races of *D. dipsaci* by Restriction Fragment Length Polymorphism. *J. Nematol.* Vol. 25, pp. 555-563.
- 288) White T.J., Brunts T., Lee S. And Taylor J.,1990. Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*: Innis, M. A., Gelfand, D. H., Sninsky, J. J. And White, T. J., ed. San Diego, USA: Academ. Press. Inc., Pp.315–322.
- 289) Whitehead A.G., 1977. Vertical distribution of potato, beet and pea cyst nematodes in some heavily infested soils. *Plant Pathology*, vol. 26, pp. 85-90.
- 290) Whitehead A.G., Tite D.J., Fraser J.E. And French E.M., 1983. Effects of aldicarb and oxamyl in peaty loam soil on potato cyst-nematode *Globodera rostochiensis*, and on resistant and susceptible potatoes. *Journal of Agricultural Science*, vol. 95, pp. 213-217.
- 291) Whitehead A.G., 1998. *Sedentary endoparasits of roots and tubers Meloidogyne and Nacobbus in plant nematode control*. CAB International. London, pp.1 – 12.
- 292) Whitehead A.G., et Turner S.J., 1998. Management and regulatory control strategies for potato cyst nematodes (*Globodera rostochiensis* and *Globodera pallida*) in *Potato Cyst Nematodes: Biology, Distribution, and Control*. CAB International. UK. Pp. 135-152.
- 293) Williams T.D. et Siddiqi M.R., 1972. Heterodera avenae. Description of plant parasitic nematodes. Common weat Agric. Bureaux, Set.1, N. 2, Londres, 4p.
- 294) Winslow R.D. and Willis R.J., 1972. *Nematode Diseases of Potato in Economic Nematology*. Edited by John M. Webster. Academic press I. N. C., London, pp. 17- 48.
- 295) Wojdylo A., Oszmianski J., Czemyers R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*. Vol. 105, pp. 940-949.
- 296) Wolfgong R., 1991. *Maladies et ravageurs de la pomme de terre*. Ed. TH. MANN, France, pp. 131-134.
- 297) Wollenweber H.W., 1923. Krankheiten und Beschädigungen der Kartoffel. Arb. Forschungsinst. Kartoffelbau. Vol. 7, pp.1-56.
- 298) Wood C., Kenyon D., et Cooper J., 2014. *In vitro* hatching inhibition of *Globodera pallida* by isothiocyanates. 5th International Symposium of Biofumigation. *Aspects of applied Biology*, vol. 126, 6 p.
- 299) Wuyts N., Swennen R., Dewaele D., 2006. Effects of plant phenol propanoïd pathway products and selected terpenoids and alkaloids on the behaviour of the plant parasitic nematodes *Radopholus similis*, *Pratylenchus penetrans* et *Meloidogyne incognita*. *Nematology*, vol. 8, pp.89-101.
- 300) Yepsen R.B., 1984. The encyclopedia of natural insect and disease control. *Rev. Rodal Press*, Emmaus, Pa., pp. 267-271.

- 301) **Zanbouri B.P., et Fatemy S., 2014.** Two methods of evaluating bionematicide effects of *Mentha pulegium* and *Lepidium sativum* on hatching of *Globodera rostochiensis*. 5th International Symposium of Biofumigation. *Aspects of Applied Biology*, vol. 126, pp. 133-138.
- 302) **Zhanga J., Lia Y., Yuan H., Sun B., Li H., 2016.** Biological control of the cereal cyst nematode (*Heterodera filipjevi*) by *Achromobacter xylosoxidans* isolate 09X01 and *Bacillus cereus* isolate 09B18. *Biological Control*, vol. 92, pp.1-6.
- 303) **Zijlstra C., Lever A.E.M., Uenk B.J. and Van Silfhout C.H., 1995.** Differences between ITS regions of isolates of root-knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *M.hapla*. *Phytopathology*, vol. 85, pp.1231-1237.

ANNEXES

Annexe 1: Répartition de *Globodera* spp. dans le monde d'après OEPP (1994).

Pays	<i>G.rostochiensis</i>	<i>G.pallida</i>
1. EPPO region		
Algeria*	✓	✓
Austria	✓	✓
Belarus*	✓	
Belgium	✓	✓
Bulgaria	✓	
Cyprus	✓	✓
Czechoslovakia (former)	✓	
Denmark (+ Faroe Islands)	✓	✓ (Faroe Islands only)
Egypt*	✓	
Estonia*	✓	✓
Finland	✓	? (intercepted only)
France	✓	✓
Germany	✓	✓
Greece	✓ (mainland + Crete)	✓ (Crete only)
Hungary	✓ (three localities only)	
Iceland	✓	✓
Ireland	✓	✓
Italy	✓	✓
Latvia	✓	
Lebanon*	✓	
Lithuania*	✓	
Luxemburg	✓	✓
Malta	✓	✓ (isolated records)
Morocco	✓	
The Netherlands	✓	✓
Norway	✓	✓
Poland	✓	
Portugal (+ Madeira)	✓	✓
Russia (European)	✓	✓
Spain (+ Canary Islands)	✓	✓
Sweden	✓	✓
Switzerland	✓	✓
Tunisia	✓	✓
Ukraine*	✓	
UK	✓	✓
2. Asia		
Cyprus	✓	✓
India	✓ (Kerala–Nilgiri Hills)	✓
Japan	✓ (Hokkaido only)	? (unconfirmed)
Lebanon	✓	
Malaysia	? (unconfirmed)	? (unconfirmed)
Pakistan	✓	✓
The Philippines	✓	
Sri Lanka	✓	
Tajikistan	✓	

Suite de l'annexe 1

Pays	<i>G. rostochiensis</i>	<i>G. pallida</i>
3. Africa		
Algeria	✓	✓
Egypt	✓	
Libya	✓	? (unconfirmed)
Morocco	? (intercepted only)	
Sierra Leone	✓	
South Africa	✓	
Tunisia	✓	✓
4. North America		
Canada	✓ (only Newfoundland and Vancouver Island)	✓ (Newfoundland only)
Mexico	✓	
USA	✓ (New York–Long Island and several upstate locations)	
5. Central America and Caribbean		
Costa Rica	✓	
Panama	✓	
6. South America (throughout high Andean regions)		
Argentina	✓	✓
Bolivia	✓	✓
Chile	✓	✓
Colombia	✓	✓
Ecuador	✓	✓
Peru	✓	✓
Venezuela	✓	✓
7. Oceania		
Australia	✓ (two outbreaks)	
New Zealand	✓	✓
Norfolk Island	✓	
EPPO, European and Mediterranean Plant Protection Organization.		
* Potential members.		

Annexe 2: Quelques cultivars* de pomme de terre résistants à *Globodera rostochiensis* ou/et *Globodera pallida* d'après Whitehead et Turner (1998).

<i>G. rostochiensis</i> resistance			<i>G. pallida</i> resistance†
Accent	Franzi	Omega	Atréla
Adora	Fresco	Ovina	Benol
Agria	Fronika	Pansta	Berlina
Aguti	Gigant	Peconic	<u>Cromwell</u>
Aistes	Gitte	Penta	<u>Darwina</u>
Alcmaria	Gloria	Pentland Javelin	Elles
Alhamra	Granola	Pentland Meteor	Kaimai
Alleghany	Hampton	Picasso	<u>Karaka</u>
Amigo	Heidrune	Première	<u>Karika</u>
Aminca	Hertha	Prevalent	Kestrel
Anosta	Highlat Russet	Prigozhit 2	Maria Huanca
Ariadna	Hudson	Prigozhit 2	<u>Multa</u>
Astarte	Hydra	Prior	<u>Nadine</u>
Atica	Ilse	Procura	<u>Pansta</u>
Atlantic	Irga	Prominent	<u>Prevalent</u>
Aula	Islander	Provan	Producent
Aurora	Jewel	Provita	<u>Santé</u>
Ausonia	Junior	Rathlin	Senator
Belchip	Kanona	Rocket	Sierra
Beloruskil 3	Karaka	Rosa	Sovereign
Berber	Kestrel (p.r.)	Santé	Stroma
Bereginya	Kingston	Saturna	Valor
Brodie	Kristall	Saxon	
Buchan	Krostar	Scala	
Cardinal	Lada	Senator	
Cara	Lady Rosetta	Sherine	
Castile	Liseta	Shurminskii 2	
Ceres	Marijke	Simcoe	
Christa	Maris Anchor	Skirza	
Coastal Chip	Maris Court	Skutella	
Concorde	Maris Piper	Spekula	
Costella	Meta Prigozhit 2	Stemster	
Cultra	Minerva	Steuben	
Darwina	Miranda	Stina	
Diamant	Mondial	Stroma (p.r.)	
Donna	Morag (p.r.)	Taiga	
Dramant	Morene	Tarpan	
Dundrod	Multa	Torva	
Eden	Nadine	Tunika	
Element	Naroch	Ukama	
Elvira	Navan	Valor	
Esta	Nema Rus	Vikhola	
Fala	Nicola	Vil'nya	
Fianna	Nida	Wachtel	
Foka	Obelix	Xenia	

*Les cultivars soulignés sont aussi résistants ou partiellement résistants à *Globodera rostochiensis*. P.r. : partiellement résistants à *Globodera rostochiensis*. Les cultivars listés comme résistants à *Globodera pallida* sont d'habitude partiellement résistants à cette espèce.

Annexe 3: Tableau des nématicides homologués en Algérie (Ministère de l'agriculture et du développement rural et de la pêche, 2007).

Nom commerciale	Matière active	Concentration	formulation	Culture	Dose	Firme
Les fumiguants						
Telone II	Dichloropropène	1108 g/L	Concentré soluble	Nématodes: -des arbres fruitiers. -horticulture -Pépinière -Vigne.	-170l /ha -500l /ha	-Dow Agro Sciences
DDP Fumigant	1.3 Dichloropropène	92 %	Concentré émulsionnable	Nématodes à kyste: -des cultures maraichères. -Tabac. -plantes ornementale.	-170 l/ha	-phytoplus
Les systémiques						
Vydat	Oxamyl	240 g/l	Suspension concentré	Nématodes : -des agrumes -des bananes	-4 à 8l/ha -7.5 ml/plat	-Dupont de Nemours
Némathorine	Fosthiasate	10%	Granulé	Nématodes: -des cultures légumières -de pomme de terre.	-12 ou 30 kg/ha-Dar 21 j.	-Syngenta
le mocap	Ethoprophos	10%	granulé	Nématodes: - -de tomate; culture légumière et p. de terre.	-30 kg/ha	-Phytoplus
Mocap	Ethoprophos	10%	granulé	Nématodes: -des cultures maraichères sous serre et extra primeur -primeur.	-2*50 kg/ha -30-50g/pied	-Aventis
Nemacure	Phenamiphos	10%	Granulé	Nématodes: -bananiers. -Betteraves sucrières. -carotte, Concombre, p.terre,Tabac et tomate.	-30à 50g/pied -30à 40kg/ha -30kg/ha	-Bayer

Annexes

Nemacure 240 cs	Phenamiphos	240g/l	Suspension concentré	Nématodes: -cultures sous serre, tomate en plein champ; courgette et melon.	-20à40 l/ha	-Bayer
Vidate 10 g	Oxamyl	100 g/kg	Granulé dispersable	Nématodes: -des ails et oignons. -Agrumes -Bananes.	-30à50kg/ha -20à40kg/ha -50kg/ha	-Dupont de Nemours.
produits biologiques						
Sincocin	Acide gras : A.palmique, A. Oléique, A.	ppm	Liquide	Nématodes: -des cultures maraichères.	1 l/ha	-Agriculture sciences.
Sincocin	Linoléique, A. nucléique : ADN et ARN, vingtaine d'oligoéléments	0.56%+99.4%	Concentré soluble.	Nématodes: -des arbres fruitiers, de palmiers dattier, de vignes.	-2 l/ha	-Agrites/ Zerouki/ Agsci- Dallas.

Annexe 4: Réactifs et préparations des tests phyto-chimiques préliminaires

1-Les réactifs:

- l'éthanol, méthanol, et butanol
- l'acétate d'éthyle
- l'etherdiethylique
- le chloroforme
- l'hydroxyde de sodium (NAOH)
- l'acide chlorique (HCL)
- l'acide acétique (HCH₃COO)
- l'ammoniaque (NH₄OH)
- zinc métallique (ZN)
- Magnésium métallique (MG)
- chlorure de fer (FECL₃)
- hydroxyde de potassium (KOH)

2-les préparations:

- Acide chlorhydrique (2N): 10 ml HCL concentré + 60 ml eau distillée.
- Solution de F₂CL₃ 5%: 5 g Feol₃ + 95 ml HCL (2N).
- HCL (2N): 10 ml HCL concentré + 60 ml eau distillée.
- HCL (0.1 N): 1 ml HCL concentré + 10 ml eau distillée.
- NAOH (0.1 N): 0.4 g NaoH + 100 eau distillée.
- KOH 10%: 10 g KOH + 80 ml eau distillée.
- HCL 10%: 10 ml HCL + 80 ml eau distillée.
- NAOH 10%: 10 g NAOH + 90ml eau distillée.
- Ammoniaque (1/2): 50 ml eau distillée + 50 ml NH₄OH concentré.
- Propanol/acide chlorhydrique (1/1): 100 ml Propanol + 100 ml HCL.
- Acide chlorhydrique (1N): 1 ml HCL + 11ml H₂O.
- Acide sulfurique (2N): 1 ml H₂SO₄ + 18 ml H₂O.
- Réactif de stiasny: 2 volumes de formol + 1 volume de HCL 1N.
- Dragendroff: dissoudre 0.85g de nitrate de bismuth dans 40 ml d'eau distillée et 10 ml d'acide acétique.

Annexes

Annexe 5: Analyse de la variance de l'effet des différents traitements testés sur la mortalité des larves L₂.

Analyse de la variance (Variable 167 mg/ml et 100 µl/ml) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Traitement	2	175,600	87,800	51,647	< 0,0001
Résidus	12	20,400	1,700		
Total	14	196,000			

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT 72h /167 mg/ml et 100 µl/ml.

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :
Classement et regroupements des groupes homogènes:

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critiques	Significatif
<i>Bacillus vs juniperus</i>	8,200	9,944	2,668	< 0,0001	Oui
<i>Bacillus vs taxus</i>	2,600	3,153	2,179	0,008	Oui
<i>taxus vs juniperus</i>	5,600	6,791	2,179	< 0,0001	Oui

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	Moyenne estimée	Groupes
<i>Bacillus</i>	96,600	A		
<i>taxus</i>	94,000		B	
<i>juniperus</i>	88,400			C

Analyse de la variance (Variable 83.5 mg/ml et 50 µl/ml) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Traitement	2	1265,200	632,600	499,421	< 0,0001
Résidus	12	15,200	1,267		
Total	14	1280,400			

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT 72h /83.5 mg/ml et 50 µl/ml.

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :
Classement et regroupements des groupes homogènes:

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critiques	Significatif
<i>Bacillus vs juniperus</i>	22,400	31,469	2,668	< 0,0001	Oui
<i>Bacillus vs taxus</i>	13,000	18,263	2,179	< 0,0001	Oui
<i>taxus vs juniperus</i>	9,400	13,206	2,179	< 0,0001	Oui

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	Moyenne estimée	Groupes
<i>Bacillus</i>	89,600	A		
<i>taxus</i>	76,600		B	
<i>juniperus</i>	67,200			C

Annexes

Analyse de la variance (Variable 41.7 mg/ml et 25 µl/ml) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Traitement	2	578,133	289,067	163,623	< 0,0001
Résidus	12	21,200	1,767		
Total	14	599,333			

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT 72h /41.7 mg/ml et 25 µl/ml

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :

Classement et regroupements des groupes homogènes:

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critiques	Significatif
<i>Bacillus vs juniperus</i>	15,200	18,082	2,668	< 0,0001	Oui
<i>Bacillus vs taxus</i>	7,200	8,565	2,179	< 0,0001	Oui
<i>taxus vs juniperus</i>	8,000	9,517	2,179	< 0,0001	Oui

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	Moyenne estimée	Groupes
<i>Bacillus</i>	67,800	A		
<i>taxus</i>	60,600		B	
<i>juniperus</i>	52,600			C

Analyse de la variance (Variable 20.8mg/ml et 12.5 µl/ml) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Traitement	2	136,133	68,067	27,595	< 0,0001
Résidus	12	29,600	2,467		
Total	14	165,733			

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT 72h /20.8mg/ml et 12.5 µl/ml)

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :

Classement et regroupements des groupes homogènes:

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critiques	Significatif
<i>Bacillus vs juniperus</i>	7,200	7,248	2,179	< 0,0001	Oui
<i>Bacillus vs taxus</i>	2,200	2,215	2,179	0,047	Oui
<i>taxus vs juniperus</i>	5,000	5,034	2,179	0,000	Oui

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	Moyenne estimée	Groupes
<i>Bacillus</i>	48,600	A		
<i>taxus</i>	46,400		B	
<i>juniperus</i>	41,400			C

Annexes

Analyse de la variance (Variable 10.4 mg/ml et 6.25 µl/ml) :

Source	ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > F
Traitement	2	161,733	80,867	35,676	< 0,0001
Résidus	12	27,200	2,267		
Total	14	188,933			

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT 72h /10.4 mg/ml et 6.25 µl/ml

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :
Classement et regroupements des groupes homogènes:

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Différence critiques	Significatif
<i>Bacillus vs juniperus</i>	7,800	8,192	2,668	< 0,0001	Oui
<i>Bacillus vs taxus</i>	2,200	2,310	2,179	0,039	Oui
<i>taxus vs juniperus</i>	5,600	5,881	2,179	< 0,0001	Oui

Modalité	Moyenne estimée	Groupes	Moyenne estimée	Groupes
<i>Bacillus</i>	38,400	A		
<i>taxus</i>	36,200		B	
<i>juniperus</i>	30,600			C

Annexe 6: Analyse de la variance de l'effet des différents traitements testés sur l'éclosion des larves L₂ après 6 semaines d'incubation.

Analyse de la variance *Taxus baccata*:

Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95 % : PRD =exsudats racinaire de pomme de terre.

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
PRD vs Témoin eau	251,000	206,720	2,731	3,316	0,000	Oui
PRD vs S	180,000	148,246	2,731	3,316	0,000	Oui
PRD vs S/2	145,600	119,914	2,731	3,316	0,000	Oui
PRD vs S/4	118,000	97,183	2,731	3,316	0,000	Oui
PRD vs S/8	63,200	52,051	2,731	3,316	0,000	Oui
PRD vs S/16	12,600	10,377	2,731	3,316	0,000	Oui

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT :

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
PRD	269,000	A
S/16	256,400	B
S/8	205,800	C
S/4	151,000	D
S/2	123,400	E
S	89,000	F
Témoin eau	18,000	G

Analyse de la variance *Juniperus phoenicea* :

Test de Dunnett/Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95 % : PRD =exsudats racinaire de pomme de terre.

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
PRD vs Témoin eau	251,000	130,438	2,731	5,256	0,000	Oui
PRD vs S	137,200	71,299	2,731	5,256	0,000	Oui
PRD vs S/2	114,800	59,659	2,731	5,256	0,000	Oui
PRD vs S/4	86,200	44,796	2,731	5,256	0,000	Oui
PRD vs S/8	37,000	19,228	2,731	5,256	0,000	Oui
PRD vs S/16	2,800	1,455	2,731	5,256	0,512	Non

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT :

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
PRD	269,000	A
S/16	266,200	A
S/8	232,000	B
S/4	182,800	C
S/2	154,200	D
S	131,800	E
Témoin eau	18,000	F

Annexes

Analyse de la variance *Bacillus sp*

Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95 % : PRD =exsudats racinaire de pomme de terre.

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
PRD vs Témoin eau	251,000	94,370	2,731	7,265	0,000	Oui
PRD vs S	182,800	68,728	2,731	7,265	0,000	Oui
PRD vs S/2	148,400	55,795	2,731	7,265	0,000	Oui
PRD vs S/4	124,000	46,621	2,731	7,265	0,000	Oui
PRD vs S/8	71,400	26,845	2,731	7,265	0,000	Oui
PRD vs S/16	25,000	9,399	2,731	7,265	0,000	Oui

Tests de comparaisons multiples pour la variable TRAIT :

Test de Newman-Keuls / Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95 % :

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
PRD	269,000	A
S/16	256,400	B
S/8	205,800	C
S/4	151,000	D
S/2	123,400	E
S	89,000	F
Témoin eau	18,000	G

Modélisation de la variable traitement 167 mg/ml et 100 µl/ml

Test de comparaisons multiples pour la variable variété:

Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	131,800	A
<i>Taxus baccata</i>	89,000	B
<i>Bacillus sp</i>	86,200	B

Modélisation de la variable traitement 41.7 mg/ml et 25 µl/ml :

Test de comparaisons multiples pour la variable variété:

Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	154,200	A
<i>Taxus baccata</i>	123,400	B
<i>Bacillus sp</i>	120,600	B

Annexes

Modélisation de la variable traitement 41.7 mg/ml et 25 µl/ml:

Test de comparaisons multiples pour la variable variété: Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	182,800	A
<i>Taxus baccata</i>	151,000	B
<i>Bacillus sp</i>	145,000	C

Modélisation de la variable traitement 20.8mg/ml et 12.5 µl/ml :

Test de comparaisons multiples pour la variable variété: Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	232,000	A
<i>Taxus baccata</i>	205,800	B
<i>Bacillus sp</i>	197,600	C

Modélisation de la variable 10.4 mg/ml et 6.25 µl/ml :

Test de comparaisons multiples pour la variable variété: Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	266,200	A
<i>Taxus baccata</i>	256,400	B
<i>Bacillus sp</i>	244,000	C

Modélisation de la variable Témoin:

Test de comparaisons multiples pour la variable variété: Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	18,000	A
<i>Taxus baccata</i>	18,000	A
<i>Bacillus sp</i>	18,000	A

Modélisation de la variable PRD :

Test de comparaisons multiples pour la variable variété: Test de Newman-Keuls/Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance à 95%.

Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements
<i>Juniperus phoenicea</i>	269,000	A
<i>Taxus baccata</i>	269,000	A
<i>Bacillus sp</i>	269,000	A

Annexe 7: Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le développement de *Globodera pallida* sur pomme de terre.

1-Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le nombre de kystes dans le sol.

Analyse de la variance traitement AVP :

Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95 % : PRD =exsudats racinaire de pomme de terre, 2S=176.9, S=88.4 et S/2= 44.2 µl/ml.

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	18,800	21,196	2,695	2,391	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	18,600	20,971	2,695	2,391	0,000	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	18,400	20,745	2,695	2,391	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	17,800	20,069	2,695	2,391	0,000	Oui
TEM vs <i>Juniperus</i>	17,600	19,843	2,695	2,391	0,000	Oui

Analyse de la variance traitement APP :

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	20,600	20,200	2,695	2,749	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	20,200	19,808	2,695	2,749	0,000	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	19,600	19,219	2,695	2,749	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	19,400	19,023	2,695	2,749	0,000	Oui
TEM vs <i>Juniperus</i>	19,000	18,631	2,695	2,749	0,000	Oui

Analyse de la variance traitement AVP+APP :

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	20,400	28,827	2,695	1,907	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	20,200	28,544	2,695	1,907	0,000	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	19,600	27,696	2,695	1,907	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	19,200	27,131	2,695	1,907	0,000	Oui
TEM vs <i>Juniperus</i>	19,180	27,103	2,695	1,907	0,000	Oui

2- Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le nombre de femelles sur les racines de la pomme de terre

Analyse de la variance traitement AVP :

Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95 % : PRD =exsudats racinaire de pomme de terre.

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	19,000	21,969	2,695	2,331	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	18,200	21,044	2,695	2,331	0,000	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	18,000	20,812	2,695	2,331	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	17,000	19,656	2,695	2,331	0,000	Oui
TEM vs <i>Juniperus</i>	14,500	16,766	2,695	2,331	0,000	Oui

Analyse de la variance traitement APP :

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	17,600	17,484	2,695	2,713	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	16,200	16,093	2,695	2,713	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	16,000	15,894	2,695	2,713	0,000	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	14,200	14,106	2,695	2,713	0,000	Oui
TEM vs <i>Juniperus</i>	12,200	12,119	2,695	2,713	0,000	Oui

Analyse de la variance traitement AVP+APP :

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	20,800	24,831	2,695	2,258	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	20,400	24,354	2,695	2,258	0,000	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	19,200	22,921	2,695	2,258	0,000	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	18,000	21,489	2,695	2,258	0,000	Oui
TEM vs <i>Juniperus</i>	17,700	21,130	2,695	2,258	0,000	Oui

3- Effet de la suspension bactérienne et des extraits aqueux sur le poids frais du système racinaire:

Test de Dunnett / Comparaison des groupes avec le groupe de contrôle témoin avec un intervalle de confiance à 95 % : PRD =exsudats racinaire de pomme de terre, 2S=176.9, S=88.4 et S/2= 44.2 µl/ml.

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	-2,000	-3,047	2,695	1,769	0,023	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	-1,800	-2,742	2,695	1,769	0,045	Oui
TEM vs <i>Taxus</i>	-1,720	-2,621	2,695	1,769	0,059	Non
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	-1,600	-2,438	2,695	1,769	0,086	Non
TEM vs <i>Juniperus</i>	-1,400	-2,133	2,695	1,769	0,155	Non

Analyse de la variance traitement APP :

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	-1,520	-2,202	2,695	1,861	0,137	Non
TEM vs <i>Bacillus</i> S	-1,000	-1,449	2,695	1,861	0,473	Non
TEM vs <i>Taxus</i>	-0,980	-1,420	2,695	1,861	0,491	Non
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	-0,800	-1,159	2,695	1,861	0,668	Non
TEM vs <i>Juniperus</i>	-0,700	-1,014	2,695	1,861	0,765	Non

Analyse de la variance traitement AVP+APP :

Modalités	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Différence critique	Pr >Diff	Significatif
TEM vs <i>Bacillus</i> 2S	-1,600	-2,936	2,695	1,469	0,029	Oui
TEM vs <i>Bacillus</i> S	-1,400	-2,569	2,695	1,469	0,065	Non
TEM vs <i>Taxus</i>	-1,300	-2,385	2,695	1,469	0,095	Non
TEM vs <i>Bacillus</i> S/2	-1,200	-2,202	2,695	1,469	0,136	Non
TEM vs <i>Juniperus</i>	-1,000	-1,835	2,695	1,469	0,263	Non

RÉSUMÉS

Thème: Bioécologie des nématodes dorés de la pomme de terre du genre *Globodera* dans quelques régions de l'Algérie. Essais de mise au point de luttés alternatives à la lutte chimique.

Résumé : Le but de cette présente étude était d'évaluer la distribution géographique, le degré d'infestation, et la caractérisation moléculaire des nématodes dorés de la pomme de terre du genre *Globodera* (NKPT) en Algérie, y compris les régions sud du pays. Ce travail été accompagné par une analyse physico-chimique des sols de toutes les régions prospectées. Les NKPT ont été trouvés dans 40% des régions étudiées, avec un degré d'infestation plus élevé aux régions du sud, par rapport à celles du nord. Par contre les *Globodera spp.* étaient plus abondants aux zones nord du pays. L'identification moléculaire (la PCR spécifique, l'ITS ADNr, le gène *cytb* ADNmt et le séquençage) a montré que les *Globodera pallida* prédominent les régions Nord, alors que les *G.rostochiensis* prédominent les régions sud du pays. De plus, nous avons testé l'effet toxiques des extraits aqueux de deux plantes : *Taxus baccata* (*Taxaceae*) et *Juniperus phoenicea* (*Cupressaceae*), et d'un bionématicide à base de bactérie *Bacillus sp.* sur le nématode blanc de la pomme de terre *Globodera pallida*. *In vitro*, les résultats ont montré un pourcentage élevé de mortalité des larves qui dépasse 80% pour *Taxus baccata* et *Juniperus phoenicea*, et atteint 96% pour les *Bacillus*. De même, les résultats obtenus ont révélé que les extraits foliaires, et la suspension bactérienne testés provoquent une inhibition de l'éclosion des œufs. *In vivo*, l'application de ces extraits aqueux, et de la suspension bactérienne était plus efficace en traitement combiné sur le développement des *Globodera pallida* sur une culture de pomme de terre. Enfin, cette étude nous a permis de déterminer les métabolites secondaires (screening chimique) existants dans les feuilles des plantes étudiées.

Mots clés : Prévalence, analyse physico-chimique, caractérisation moléculaire, *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, toxicité, *Taxus baccata*, *Juniperus phoenicea*, *Bacillus sp.*, développement, screening chimique.

Title: Bioecology of potato golden nematode of the genus *Globodera* in some regions of Algeria. Control development trials alternative to chemical control.

Abstract: The aim of the present study was to evaluate the geographical distribution, infestation degree, and molecular characterization of potato cysts nematode (PCN) in Algeria, including the southern regions. This work was accompanied by the physico-chemical analysis of all regions prospected soils. PCNs were found in forty percent of localities sampled, with a high infestation degree in the southern potato production areas than those in the Northern regions. On the other hand, *Globodera spp.* was more abundant in the northern parts of the country. The molecular identification (specific PCR, ITS rDNA, *cytb* gene DNAm and sequencing) revealed that *Globodera pallida* occurred predominantly in the northern regions of Algeria, whereas *G. rostochiensis* occurred predominantly in the southern regions. Moreover, we proceeded to test the toxic effect of two plants aqueous extracts: *Taxus baccata* (*Taxaceae*), *Juniperus phoenicea* (*Cupressaceae*), and a bionematicidal bacterial basis *Bacillus sp.* on the white cyst nematode *Globodera pallida*. *In vitro*, the results show high juveniles mortality percentage which exceeds 80% for the both; *Taxus baccata* and *Juniperus phoenicea*, it reached 96% for *Bacillus*. Similarly, the results obtained showed that the aqueous extracts of tested plants and the bacterial suspension caused an inhibition of egg hatching. *In vivo*, the application of these aqueous extracts, and the bacterial suspension was more effective in combination treatment on nematodes development on a potato crop. Finally, this study allows us to determine the secondary metabolites (chemical screening) existing in leaves of the plants studied.

Key words: Prevalence, physico-chemical analysis, molecular characterization, *Globodera pallida*, *Globodera rostochiensis*, toxicity, *Taxus baccata*, *Juniperus phoenicea*, *Bacillus sp.*, development, chemical screening.

ملخص: دراسة البيئة الحيوية للديدان الخيطية الذهبية للبطاطا من جنس غلوبوديرا في بعض مناطق الجزائر. اختبار لتطوير مكافحة بديلة للمكافحة الكيميائية.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم التوزيع الجغرافي ودرجة الإصابة والوصف الجزيئي للديدان الخيطية الذهبية للبطاطا من جنس *Globodera* في الجزائر بما في ذلك المناطق الجنوبية من البلاد. رافق هذا العمل تحليل فيزيائي كيميائي للتربة في جميع المناطق التي تمت دراستها. تم العثور على *Globodera* في 40% من مناطق الدراسة، مع وجود درجة أعلى من الإصابة في الجنوب، مقارنة مع المناطق الشمالية. من ناحية أخرى *Globodera spp* كانت أكثر وفرة في الأجزاء الشمالية من البلاد. وقد أظهر التحديد الجزيئي (PCR ، و rDNA ITS ، و *cytb* mtDNA الجيني والتسلسل) أن *Globodera pallida* هي السائدة في المناطق الشمالية ، في حين أن *G.rostochiensis* هي السائدة في المناطق الجنوبية من البلاد. وبالإضافة إلى ذلك، فقد اختبرنا التأثير السام للمستخلصات المائية من نباتين: *Taxus baccata* (Taxaceae) ، *Juniperus phoenicea* (Cupressaceae)، و بيونيماتيسيد على أساس البكتيريا *Bacillus sp.* على الديدان الخيطية البيضاء للبطاطا *Globodera pallida*. في المخبر ، أظهرت النتائج ارتفاع نسبة الوفيات من اليرقات التي تجاوزت 80% ل *Taxus baccata* و *Juniperus phoenicea*، وبلغت 96% لعصيات *Bacillus sp.* وبالمثل، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المستخلصات الورقية والتعليق الجرثومي يسبب تثبيط الفقس. التجربة على الواقع أثبتت أن هذه المستخلصات المائية النباتية ، والتعليق البكتيري أكثر فعالية عند الجمع بين العلاج قبل الغرس و بعده على نمو الديدان الخيطية على البطاطا. وأخيرا، هذه الدراسة أخذت بعين الاعتبار العناصر الثانوية (التحليل الكيميائي) المتواجدة في أوراق النباتات المدروسة.

كلمات المفتاح: الانتشار، التحليل الفيزيائي والكيميائي ، التوصيف الجزيئي، *Globodera pallida* ، *rostochiensis* ، *Globodera* ، التأثير السمي ، *Taxus baccata* ، *Juniperus phoenicea* ، *Bacillus sp.* ، التنمية، التحليل الكيميائي.