

TP N°2 : Isolement des Champignons Phytopathogènes



Dr : SALAH Zahra

Université de Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des

Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de biologie

E-mail : imanebiozahra@gmail.com

Table des matières



Objectifs	3
I - TP N°2	4
1. Diagnostic des maladies dues aux champignons :	4
2. Examen Direct :	4
3. Isolement	5
3.1. <i>Ensemencement</i> :	5

Objectifs



1. Identifier et nommer différents champignons phytopathogènes.
2. Expliquer les étapes du processus d'isolement des champignons phytopathogènes.
3. Appliquer des techniques de laboratoire pour isoler des champignons phytopathogènes à partir d'échantillons de plantes infectées.
4. Comparer les caractéristiques morphologiques des colonies fongiques isolées pour identifier les espèces présentes.
5. Concevoir un rapport scientifique détaillant les méthodes et résultats de l'isolement des champignons phytopathogènes

TP N°2

I

1. Diagnostic des maladies dues aux champignons :

Le Postulat de Koch : En 1881, Robert Koch a énoncé un postulat décrivant les étapes nécessaires pour établir une relation causale entre une maladie et un microorganisme. Bien que ce postulat ait été initialement formulé pour des maladies des végétaux causées par des parasites pouvant être cultivés in vitro, son application stricte est particulièrement réservée aux cas complexes.

Les Étapes du Postulat de Koch appliquées à la Phytopathologie :

1. Présence et Absence : L'agent pathogène doit être présent chez les plantes malades et absent chez les plantes saines.
2. Isolation et Culture : L'agent doit pouvoir être isolé des plantes malades et cultivé en culture axénique.
3. Inoculation et Symptômes : Lorsque l'agent est inoculé à une plante saine, il doit induire les symptômes caractéristiques de la maladie.
4. Réisolement : L'agent initial doit pouvoir être réisolé à partir des plantes infectées expérimentalement.

2. Examen Direct :

Prélevez un échantillon (feuille, tige, fruit, racine ou sol) et observez-le à l'aide d'une loupe binoculaire. Notez toutes les différences d'aspect entre les échantillons malades et sains.

(Taches foliaires ; Chlorose ; Flétrissement ; Nécrose ; Pourritures ; Gales et Nodules ; Déformation des Organes ; Millepertuis ; Chutes de Feuilles Précoces et Ralentissement de la Croissance.



3. Isolement

3.1. Ensemencement :

1- Préparation des Échantillons :

Échantillons : Prendre des échantillons de feuilles, tiges, fruits ou racines de plantes malades et saines.

Lavage : Laver fréquemment les échantillons avec de l'eau distillée stérile deux fois.

Désinfection : Désinfecter les échantillons en utilisant de l'alcool à 70%, laisser agir pendant deux minutes.

Rinçage : Rincer les échantillons avec de l'eau distillée stérile.

Séchage : Sécher les échantillons avec du papier buvard stérile.

Découpage : Couper les échantillons en morceaux avec une lame ou un couteau stérile.

2- Incubation des Échantillons :

Feuilles, Tiges et Fruits :

Déposer les morceaux d'échantillons dans des boîtes de Pétri contenant trois rondelles de papier buvard stérile humidifiées avec de l'eau distillée stérile.

Incuber les boîtes à 22°C.

Racines :

Déposer les morceaux de racines sur un milieu d'agar.

Incuber à 28°C.

Après trois jours d'incubation :

- Coulez les milieux de culture PDAac et CDA dans des boîtes de Pétri.
- Laissez les milieux se solidifier.
- Transférez les morceaux de feuilles, tiges, fruits et racines sur les milieux solidifiés.
- Incubez les boîtes à 28°C pendant 3 à 5 jours.

Préparation et Incubation du Sol :

- Récupération et Séchage :
 - Récupérez le sol adhérent aux racines.
 - Séchez le sol à 30°C dans des fonds de boîtes de Pétri.
- Broyage et Dispersion :
 - Broyez le sol séché dans un mortier stérile.
 - Dispersez une quantité de sol (5 à 15 mg) dans des boîtes de Pétri stériles.
- Hydratation et Coulage des Milieux :
 - Ajoutez 1 à 2 gouttes d'eau distillée stérile au sol dispersé.
 - Coulez les milieux de culture PDAac, CDA et SGA dans les boîtes de Pétri.
 - Agitez doucement les boîtes de Pétri avant solidification.
 - Incubez les boîtes à 28°C pendant 5 jours.