



Université Mohamed Khider de Biskra  
Faculté des Sciences Exacte et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Agronomiques

## MÉMOIRE DE MASTER

Sciences de la Nature et de la Vie  
Sciences Agronomiques  
Production végétale

Réf. : .....

---

Présenté et soutenu par :

**Mlle. BENAÏSSA Sarra**

Le : mercredi 3 juillet 2019

### **Etude de la faculté suppressive d'un sol au *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* race 1, agent causal de *fusarium wilt* sur tomate.**

---

**Jury :**

M.	Drouai Salim	MCA	Université Biskra	Président
M.	Mhaoua Mohamed	MCA	Université Biskra	Examineur
M.	Djekiref Laala	MAA	Université Biskra	Rapporteur

**Année universitaire : 2018-2019**

## ملخص:

تتعرض الطماطم، كباقي النباتات، للفطريات الممرضة ذات الأصل الترابي التي تستهدف الجذور. العامل المسبب للذبول كبير في المردود. تعتمد الاستراتيجية التي ينادي بها البحث على طريقة تحكم متكاملة وغير مكلفة ومتوافقة مع المخاوف البيئية. أحد الأساليب المفضلة لهذه الاستراتيجية هو استخدام التربة القمعية. انطلاقاً من تربة مقاومة و باستعمال نوعين من أوساط الزرع، تم عزل مجموعة من أكثر من 20 جرثومة من أنواع مختلفة (1 بكتيريا، 11 فطريات و 1 أكتينوميست). تمت دراسة النشاط التثبيطي لكل جرثومة معزولة بالمواجهة المباشرة مع الفطر الطفيلي. النتائج المتحصل عليها تبين نسب تثبيط مهمة تتراوح بين 28.25% إلى 67.25% حسب نوع الجرثومة. في نفس الوقت تم تسجيل انخفاض ملحوظ في نسبة تبوغ الفطر الطفيلي في وجود الجراثيم المعزولة. من جهة أخرى، الكالسيوم، بشكل كاربونات الكالسيوم  $CaCO_3$ ، لم يسجل أي تأثير على نمو الفطر.

**الكلمات المفتاحية:** التربة المقاومة، *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*، النشاط التثبيطي، مكافحة البيولوجية.

## Résumé :

La tomate, comme le reste des plantes, reste une proie pour des champignons pathogènes d'origine tellurique s'attaquant à son système racinaire. Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*F.o.l.*), agent causal du Fusarium wilt, provoque des dégâts graves sur tomate pouvant faire chuter considérablement le rendement. La stratégie préconisée par la recherche est basée sur le développement d'une méthode de lutte intégrée, peu onéreuse et compatible avec les préoccupations environnementales. L'une des approches privilégiées de cette stratégie est l'utilisation de sols suppressifs. A partir d'un sol supposé résistant, on a isolé sur deux milieux de culture (PDA et YPG) une collection de plus de 20 isolats de nature différente (1 bactérie, 11 champignons et 1 actinomycète). L'activité antagoniste de chaque isolat obtenu vis-à-vis du *F.o.l.*, a été étudié *in-vitro* selon la méthode de confrontation directe. Les résultats obtenus montrent un pourcentage d'inhibition important qui varie de 28.25% à 67.25% selon les antagonistes testés. Parallèlement, des réductions importantes du taux de sporulation du *F.o.l* ont été notées. D'autre part, le calcium, sous forme de  $CaCO_3$ , n'a pas montré un effet antifongique sur le *F.o.l.*.

**Mots clés :** sols suppressifs, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, activité antagoniste, lutte biologique.

## Abstract:

Tomato, like the rest of the plants, remains a prey for pathogenic fungi of telluric origin attacking its root system. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (*F.o.l.*), the causal agent of Fusarium wilt, causes serious damage to tomato that can significantly reduce yield. The strategy advocated by the research is based on the development of an integrated control method, inexpensive and compatible with environmental concerns. One of the preferred approaches to this strategy is the use of suppressive soils. From a so-called resistant soil, a collection of more than 20 isolates of different nature (1 bacterium, 11 fungi and 1 actinomycete) was isolated on two culture media (PDA and YPG). The antagonistic activity of each isolate obtained with respect to *F.o.l* was studied *in-vitro* according to the direct confrontation method. The results obtained show a significant percentage of inhibition which varies from 28.25% to 67.25% depending on the antagonists tested. At the same time, significant reductions in the *F.o.l* sporulation rate have been noted. On the other hand, calcium, in the form of  $CaCO_3$  did not mount antifungal effect on *F.o.l.* ..

**Key words:** suppressive soils, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, antagonist activity, biological control.

## **Dédicace**

*Je dédie ce travail :*

*À mes très chers parents*

*en témoignage de l'amour, du respect et de la  
gratitude que je leur porte pour leur soutien et leur  
aide qu'ils m'ont apporté durant mes années*

*d'études. Qui m'ont toujours soutenue et encouragée à suivre les chemins que je désirais.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis par eux jour et nuit pour mon éducation et mon  
bien être.*

*Jamais je ne les remercierai assez de m'avoir donné le meilleur d'eux-mêmes.*

*À la mémoire de mon grand-Père que dieu repose son âme en paix*

*À ma très chère grand-mère que Dieu la garde*

*À mes très chers frères : Ahmed Mohamed Tareq et Abdel Aziz*

*À ma très chère et unique sœur Intissar pour sa tendresse son amour et sa présence.*

*À toutes mes amies qui sont toujours à mes côtés dans les bons et les mauvais moments.*

## **Remerciement**

*Nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :*

*A Allah le tout puissant qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui,*

*Nous tenons à adresser notre remerciement à notre directeur de mémoire*

***Mr. Djikiref Laala**, merci pour nous avoir accordé votre temps,*

*merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.*

*Nos Remerciements à **Mr. Droui** pour l'honneur qu'il*

*Nous fait en acceptant de présider le jury qui va juger ce travail.*

*Nous adressons nos remerciements à **Mr. Mehaoua**, pour avoir*

*Acceptée d'examiner ce travail.*

*Nous tenons à remercier les ingénieurs du laboratoire de département d'agronomie pour leur  
aide durant l'expérimentation.*

*Un grand merci à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou  
indirectement, à la réalisation de ce travail.*

## Table des matières

Liste des tableaux.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste d'abréviations.....	iii
Introduction.....	02

## Partie bibliographique

<b>I. La plante hôte.....</b>	<b>05</b>
I.1 Origine de la tomate .....	05
I.2. Description botanique du plant de la tomate.....	05
I.3. Classification.....	06
I.4. Production de la tomate dans le monde et en Algérie.....	06
I.5. Principaux bio-agresseurs de la tomate.....	07
<b>II. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i>, agent causal du Fusarium wilt.....</b>	<b>08</b>
II.1. Généralités sur le genre <i>Fusarium</i> .....	08
II.2. Généralités et classification de l'espèce <i>Fusarium oxysporum</i> .....	08
II.3. Pathogénicité, formes spéciales et races de <i>F. oxysporum</i> .....	09
II.4. Cycle de vie de <i>F. oxysporum</i> .....	10
<b>III. Pathologie.....</b>	<b>12</b>
III.1. Flétrissure fusarienne.....	12
III.2. Symptômes.....	12
III.2.1. Symptômes externes .....	12
III.2.1.1. Symptômes de flétrissement .....	12
III.2.1.2. Symptômes de jaunissement et nécrose.....	12
III.2.2. Symptômes annexes.....	13
III.2.3. Les symptômes internes.....	13
III.2.3.1. Mort de la plante.....	13

III.3. Taxonomie et les substances élaborées par le parasite.....	13
III.3.1. Toxines.....	13
III.3.2. Enzymes hydrolytiques.....	14
III.4. Mécanismes de défense de la tomate atteinte.....	15
III.4.1. Barrières mécaniques.....	14
III.4.2. Barrières biochimiques.....	15
III.4.2.1. Polyphénoloxydases.....	15
III.4.2.2. Phytoalexines.....	16
III.5. Moyens de lutte.....	16
III.5.1. Lutte culturale .....	16
III.5.2. Lutte génétique.....	16
III.5.3. Lutte agronomique.....	16
III.5.4. Lutte intégrée .....	16
III.5.4- Lutte physique.....	17
III.5.5. Lutte chimique.....	17
III.5.6. Lutte biologique.....	17
III.5.6.1 Définition de la lutte biologique.....	17
III.5.6.2. Sols suppressifs.....	18
III.5.6.3. Mode d'action des agents de lutte biologique .....	19
III.5.6.3.1. Antibiose.....	19
III.5.6.3.2. Hyper-parasitisme.....	19
III.5.6.3.3. Compétition pour les éléments nutritifs.....	19
III.5.6.3.4. Modification des propriétés de surface des feuilles de la plante.....	20
III.5.6.3.5. Stimulation des défenses de la plante hôte.....	20

## Matériels et méthodes

I. Origine et prélèvement des sols.....	23
II. Analyses physico-chimiques du sol.....	23
II.1. Mesure du pH.....	23
II.2. Mesure de la conductivité électrique (CE) .....	23
II.3. Dosage des éléments minéraux et du carbone organique.....	23
II.3.1. Dosage du carbone organique et de la matière organique.....	23
i. Principe.....	23
ii. Préparation des solutions.....	24
iii. Mode opératoire.....	24
II.3.2. Dosage du calcaire total.....	25
i. Principe.....	25
ii. Mode opératoire.....	25
II.3.3. Dosage de sodium et potassium.....	26
II.3.3.1. Préparation de la solution d'acétate de sodium.....	26
II.3.3.2. Préparation de la solution d'acétate l'ammonium.....	26
II.3.3.3. Préparation de l'échantillon.....	26
II.4. Dosage du Calcium et magnésium.....	28
i. Réactifs.....	28
ii. Mode opératoire.....	29
II.4.1. Dosage du calcium (Ca <sup>++</sup> ) .....	29
II.4.2. Dosage du calcium et magnésium.....	29
III. Isolement et identification de l'agent pathogène.....	30
IV. Isolement et identification des agents antagonistes.....	30
IV.1. L'incorporation directe du sol ( <i>soil plates</i> ) .....	30
IV.2. Les suspensions-dilutions ( <i>dilution plates</i> ).....	31

IV.3. Purification et conservation des isolats.....	32
V. Test de l'activité antagoniste <i>in vitro</i> .....	32
V.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture.....	32
V.2. Evaluation de pourcentage d'inhibition.....	33
VI. Effet de l'agent antagoniste sur la sporulation du <i>Fol</i> .....	33
VII. Effet du calcium sur la croissance mycélienne du <i>Fol</i> .....	34
VIII. Traitement statistique des données.....	34

### **Résultats et discussion**

I. Analyses physico-chimiques du sol.....	36
II. Isolement et identification de l'agent antagoniste .....	36
II.1. Etude macroscopique.....	37
III. La mise en évidence de l'activité antagoniste des souches isolées vis-à-vis le <i>F.o.l.</i> .....	41
IV. Effet des antagonistes sur la sporulation du <i>F.o.l.</i> .....	46
V. L'effet du calcium sur la croissance mycélienne du <i>F.o.l.</i> .....	46
Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	
Annexe.....	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Les plus gros producteurs mondiaux de tomate (FAO, 2017).....	06
<b>Tableau02</b> : Résultats des analyses physico-chimiques du sol testé.....	36
<b>Tableau 03</b> : Aspect et caractères macroscopiques des différents isolats antagonistes obtenus.....	37
<b>Tableau 04</b> : Résultats de l'effet des antagonistes sur la sporulation du <i>F.o.l</i> .....	46
<b>Tableau 05</b> : Pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne du <i>F.o.l</i> en présence de calcium à différentes concentrations.....	47

## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b> Cycle de vie du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .....	11
<b>Figure 02 :</b> Les symptômes de la flétrissure fusarienne ( <i>Fusarium wilt</i> ) (A) Jaunissement et flétrissement des folioles et des feuilles basses, (B) Coloration brun sombre visible en coupe longitudinale, Coloration brun sombre visible en coupe transversale.....	14
<b>Figure 03 :</b> Courbe d'étalonnage du sodium Na <sup>+</sup> .....	27
<b>Figure 04 :</b> Courbe d'étalonnage du potassium K <sup>+</sup> .....	28
<b>Figure 05 :</b> Méthode de suspension dilution.....	31
<b>Figure 06 :</b> Présentation schématique de la confrontation directe..	32
<b>Figure 07 :</b> Diagramme représentant les pourcentages moyens d'inhibition de la croissance du <i>F.o.l</i> en confrontation directe avec les antagonistes.....	41
<b>Figure 08 :</b> L'effet inhibiteur de la souche C10 sur la croissance mycélienne du <i>F.o.l</i> (vue de face à gauche et de verso à droite).....	42
<b>Figure 09 :</b> l'effet inhibiteur de la souche C3 (gauche) et la souche C5 (droite) sur la croissance mycélienne du <i>F.o.l</i> .....	43
<b>Figure 10 :</b> l'effet inhibiteur de la souche C1 (gauche) et la souche C6 (droit) sur la croissance mycélienne du <i>F.o.l</i> .....	43
<b>Figure 11:</b> Formation de nœuds entre les hyphes de l'agent pathogène ( <i>F.o.l</i> ) et ceux d'un isolat antagoniste .....	44

## Liste des abréviations

°C : Degré Celcius.

**cm** : centimètre.

**F.** : *Fusarium*.

**F.o.I.** : *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*

**FAO** : Food and Agriculture Organisation.

**fig.** : figure.

**g** : gramme.

**Jrs** : jour.

**Kg** : Kilogramme.

**Mg** : Milligramme.

**ml** : millilitre.

**Min** : minute.

**mm** : millimètre.

**PDA** : Potato Dextrose Agar.

**YPG** :Yeast-extract-Peptone-Glucose-Agar

**DT** : Croissance diamètre du témoin

**DPA** : Croissance diamètre mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste

**IC** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

**S** : Souche

**PIS** : Pourcentage d'inhibition de la sporulation.

# *Introduction*

La tomate est la culture la plus répandue dans le monde après celle de la pomme de terre, c'est le légume le plus consommé dans le monde (Blancard, 2009)

Elle occupe une place très importante du point de vue socioéconomique dans les pays méditerranéens et en particulier dans les pays du Maghreb tel que l'Algérie. La production reste inférieure comparée aux autres pays du pourtour méditerranéen, cela est dû en partie à des maladies cryptogamiques telle que la fusariose.

La fusariose Vasculaire de la tomate ou la flétrissure fusarienne due à *Fusariumoxysporum* f. sp. *Iycopersici* (Fol), elle est favorisée par les changements climatiques dont les conséquences sont l'augmentation de la température et l'humidité durant de longues périodes de l'année, ces facteurs accélèrent la croissance de l'agent causal de cette maladie (Blanchard, 2009).

Pour lutter contre cette maladie, diverses stratégies ont été adoptées, dont la lutte chimique consistant à utiliser des fongicides chimiques de synthèse. Cependant, l'utilisation de ces produits chimiques présente certains inconvénients, dont leur coût, les pollutions de l'environnement et des aliments et ses conséquences sur la vie humaine, et l'apparition de souches plus résistantes de ce agents pathogènes (Weller *et al.*, 2002 ; Abdel-Kader *et al.*, 2012)

De ce fait, l'orientation des recherches vers l'adoption de stratégies de lutte, qui se révéleraient plus efficaces et plus respectueuses de l'environnement, s'avérait incontournable. Parmi ces stratégies visées, il y a les sols suppressifs de la fusariose.

On sait que les sols naturellement résistants à la fusariose de nombreuses cultures sont présents dans de nombreuses régions du monde. La maladie ne se développe pas facilement dans ces sols, même si l'agent pathogène et l'hôte susceptible sont présents. Parmi les exemples les plus connus et les plus étudiés de sols suppressifs de la fusariose, on peut citer ceux de la région de Chateaufort en France et de la vallée de Salinas en Californie (Larkin *et al.*, 1993)

D'après quelques observations sur le terrain, la présence de maladie du Fusarium wilt dans certaines parcelles et son absence dans d'autres, situées dans la même zone, nous laisse émettre l'hypothèse de la présence de sols résistants au niveau des parcelles ou la maladie ne s'exprime pas où il existe de nombreuses éléments biotiques et/ou abiotiques du sol qui jouent un rôle dans la suppression de maladie du fusarium wilt. Ces derniers peuvent associer à une

inhibition de la germination des chlamydospores et à une réduction de la croissance saprophyte de l'agent pathogène.

La première partie de notre travail est consacrée à la description des données bibliographiques relatives à la plante hôte "la tomate" d'une manière générale, à l'agent pathogène "le *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*", à la maladie étudié dans ce travail et finalement à la lutte biologique et les sols suppressifs. La seconde partie est consacrée au travail expérimental et est basé sur les différentes techniques utilisées et d'une autre partie exposant, comparant et discutant les résultats obtenus.

Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion générale et la mise en évidence des perspectives de recherche.

# *Étude bibliographique*

## I.Plante hôte

### I.1-Origine de la tomate :

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) est originaire des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et en Moyen Orient. Plus récemment, la tomate sauvage a été introduite dans d'autres régions de l'Amérique du Sud et au Mexique.

Parmi les noms communs utilisés pour désigner la tomate en différentes langues on peut citer: tomate (Espagnol, Français), tomat (Indonésien), faanke'e (Chinois), tomati (Afrique de l'Ouest), tomatl (Nahuatl, langue indigène du Mexique), jitomate (espagnol mexicain), pomodoro (Italien), Nyanya (Swahili). (Naika *et al.*, 2005)

### I.2. Description botanique du plant de la tomate

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) est une plante herbacée, elle est généralement cultivée comme plante annuelle, elle peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres (Chaux et Foury, 1994).

Le terme tomate désigne aussi ce fruit charnu, qui est l'un des aliments les plus importants dans l'alimentation humaine et qui se consomme frais ou transformé.

Chez la tomate, le **système racinaire** est très puissant et ramifié sur les trente premiers centimètres. On dit que ce système racinaire est pivotant. **La tige** pousse jusqu'à une longueur de 2 m, elle est pleine et fortement poilue et glandulaire. Le port de croissance varie entre érigé et prostré. Les **fleurs** sont bisexuées, régulières. Elles poussent opposées aux feuilles ou entre elles en grappe et généralement elles sont de couleur jaune. Les pétales sont en partie soudés pour former une corolle étoilée. Les sépales sont verts. Les étamines sont jointes pour former un tube histaminique et le pistil est caché dans ce tube.

La tomate est cultivée pour ses fruits de formes et de couleurs variées selon les variétés. Le fruit est une baie charnue à placentation centrale. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. En général, la couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. Ils sont ronds et réguliers ou côtelés.

Les fruits contiennent de nombreuses graines, enveloppées d'un mucilage, qui renferment à maturité un embryon courbe et un albumen. Elles sont aplaties, petites, de forme plus ou moins lenticulaire, grisâtres ou beiges et velues (Naika *et al.*, 2005).

### I.3. Classification

Règne :Plantae

Division :Magnoliophyta

Classe :Magnoliopsida

Ordre :Solanales

Famille :Solanaceae

Genre :Lycopersicon

Espèce :*Lycopersicon esculentum* Mill(Naika *et al.*, 2005)

### I.4. Production de la tomate dans le monde et en Algérie

La tomate est la culture la plus répandue dans le monde après la pomme de terre (Arbaoui, 1984). Selon les statistiques de l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale de tomates s'élevait en 2017 à 182301395 tonnes pour une superficie de 4848384 d'hectares, soit un rendement moyen de 37,60 tonnes à l'hectare.

En Algérie, la production s'élevait en 2017 à 1286286 tonnes pour une superficie de 23977 hectares, soit un rendement de 53.6467 t/ha (tableau 01).

**Tableau 01** : Les plus gros producteurs mondiaux de tomate (FAO, 2017).

Pays	Production annuelle (T)
Chine	59626900
Inde	20708000
Turquie	12750000
Etats-unis d'Amérique	10910990
Egypte	7297108
Iran	6177290
Italie	6015868
Espagne	5163466

## I.5. Principaux bio-agresseurs de la tomate

Comme toutes les cultures, la tomate est sujette à l'attaque de plusieurs ravageurs et agents phyto-pathogènes appartenant à différents groupes d'organismes vivants. Ils constituent donc une menace importante pour cette culture, pouvant ainsi provoquer des pertes économiques considérables.

Les principaux ennemis de la culture de tomates sont :

- les insectes : les pucerons (*Aphidae*), les mouches blanches (*Bemisia tabaci*), les thrips (*Thripidae*), les papillons et les noctuelles (*Lepidoptera*), les acariens (*Tetranychus spp.*),
  - les nématodes de nodosité des racines (*Meloidogyne incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria*).
  - les maladies cryptogamiques : L'alternariose (*Alternaria solani*), le mildiou (*Phytophthora infestans*), la fusariose (*F. oxysporum* f.sp *lycopersici*), la verticilliose (*V. albo-atrum*, *V. dahliae*), l'antracnose (*Colletotrichum coccodes*), le mal blanc ou oïdium (*Leveillula taurica*).
  - les maladies bactériennes : Le chancre bactérien (*Clavibacter michiganense*), Le feu bactérien (*Xanthomonas axonopodisp* pv. *vesicatoria*), Le flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*).
  - les maladies virales : le virus de la mosaïque du tabac ou virus de la mosaïque de la tomate (TMV) et le virus de la mosaïque du concombre (CMV) (Naika *et al.*, 2005).

## II. *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, agent causal du Fusarium wilt

### II. 1. Généralités sur le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fuscus*, car ses spores sont en forme de fuseau. Ce genre a été introduit par Link en 1809. Comme tous les champignons du sol, il est caractérisé par un pouvoir d'adaptation aux conditions de l'environnement très varié grâce à sa capacité de changement de formes et de fonction.

La répartition du *Fusarium* est cosmopolite, c'est un champignon qui a été isolé dans le pôle nord et dans le sable des déserts. On le trouve également sur les terres cultivées et dans les régions chaudes tropicales. La température idéale de sa croissance est comprise entre 20 et 25°C. Le *Fusarium* vit soit en saprophyte sur les débris agricoles, participant ainsi à la biodégradation des produits industriels, soit en parasite, surtout des plantes, où il produit une pourriture des racines et une destruction des tissus. Ces infections peuvent poser des problèmes économiques considérables en cas de contamination importante des récoltes, d'autant plus que certaines espèces sont productrices de toxines potentiellement mortelles pour l'homme et les animaux (El-Banna *et al.*, 1984 ; Booth, 1971).

### II. 2. Généralités et classification de l'espèce *Fusarium oxysporum*

Dans le genre *Fusarium*, l'espèce *Fusarium oxysporum* est la plus répandue dans le monde. Elle peut être retrouvée dans la plupart des sols : arctiques (Kommedahl, *et al.*, 1988), tropicales, désertiques (Mandee *et al.*, 1995), cultivés ou non (Mc Mullen et Stack, 1984). Elle peut également être dispersée par les insectes (Gillespie et Menzies, 1993) et récupérée à partir d'algues marines (Granchinho *et al.*, 2002).

Le *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Emend. Snyder et Hansen, est un Deutéromycète, tellurique, appartient à la sous classe des hyphomycètes, à l'ordre des Moniliales et à la famille des tuberculariacées (Nelson *et al.*, 1983 ; Booth 1971).

Ce mycète prend, sur le milieu PDA (Potato Sucrose Agar) et à 25°C, un aspect blanc cotonneux devenant rugueux en culture plus âgée (Haware *et al.*, 1986). La pigmentation du mycélium au contact du milieu de culture est, la plupart du temps, blanchâtre pendant les premiers jours qui suivent l'isolement puis se pigmente, souvent de façon diffuse, dans la zone centrale, d'une couleur liée au vin (Tivoli, 1988).

Les isolats de *F. oxysporum* sont difficiles à distinguer de ceux de *F. solani* et *F. subglutinans*. Ils produisent des microconidies en fausses têtes sur de très longs

monophialides formée sur les hyphes tandis que *F. subglutinans* se distingue de *F. oxysporum* par l'absence de chlamydospores et par la production de microconidies sur des polyphialides. Cependant, les polyphialides sont difficiles à rencontrer chez certains isolats de *F. subglutinans*, et les chlamydospores sont parfois produites lentement chez certains isolats de *F. oxysporum* (Leslie et Summerell, 2006).

### II. 3. Pathogénicité, formes spéciales et races de *F. oxysporum*

Cette espèce inclut plus d'une centaine de formes spéciales et races qui sont chacune spécifique à une plante hôte ; souvent des espèces végétales d'intérêt horticole, maraîcher ou agronomique.

Le *F. oxysporum* inclut généralement des populations non pathogènes pour lesquelles aucune plante hôte n'a été identifiée à ce jour. Parmi cette population, on rencontre des parasites opportunistes et des agents antagonistes (Summerbell et Schroers, 2002). Cette espèce est présente dans la plupart des sols cultivés dans le monde (Odds *et al.*, 1998). Les espèces pathogènes de *F. oxysporum* causent des maladies importantes sur les cultures, en causant spécialement le flétrissement vasculaire (Di-Pietro, 1998 ; Tello et Lacasa, 1990). Cette maladie attaque plusieurs plantes pérennes et annuelles, aussi bien dans les zones tempérées que dans les zones tropicales leur causant un jaunissement et un flétrissement (Di-Pietro *et al.*, 2003 ; Di-Pietro, 1998).

Les souches qui ont une gamme d'hôte identique sont assignées dans un groupe intra-spécifique, nommé *forma specialis* (ou encore *formae speciales*) (Armstrong et Armstrong, 1981). Cette espèce comprend plus de 120 formes spéciales correspondant aux hôtes qu'elles infectent. Chacune de ces formes peut être divisée en races physiologiques et chaque race physiologique montre un modèle caractéristique de virulence sur des variétés différentielles dans la même espèce de plante hôte (Agrios, 2005 ; Armstrong et Armstrong, 1981).

Il existe trois différentes races de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Elles se distinguent entre elles par leur degré de virulence vis-à-vis des différents cultivars de tomate.

- **La race 1** a été initialement décrite en 1886 (Booth, 1971), la découverte d'un gène de résistance par Bohn et Tucker en 1939 (Elocy, 1972 ; Beckman *et al.*, 1988) et son introduction dans de nombreuses variétés de tomates a permis de limiter l'incidence de cette première race dite 1.

- **La race 2** est apparue pour la première fois en 1945 à l'Ohio aux U.S.A (Alexander et Tucker, 1945 ; Randall, 1980), puis au Maroc (Pecault et Laterrot, 1966), en Tunisie (Davet, 1967), au Moyen orient (Walker, 1971), aux Pays Bas (Hubbeling et Dimond, 1972), en Grande Bretagne (Gabe et Kright, 1973), en République de sud-africain (Holtz, 1976) et aussi en Italie en 1999 (Stravato, 1999).

- **La race 3** a été observée en Australie en 1978 (Grattidge et O'Brien, 1982) et a été successivement rapportée aux Etats unis : en Californie (Davis *et al.*, 1988), Floride (Volin et Jones, 1982), Géorgie (Chellemi *et al.*, 1992), Arkansas et Nord Carolina (Marlatt *et al.*, 1996) et au Tennessee (Bost, 2001). Elle a également été retrouvée au Mexique (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996) et au Brésil (Reis, 2005).

#### **II. 4. Cycle de vie de *F. oxysporum***

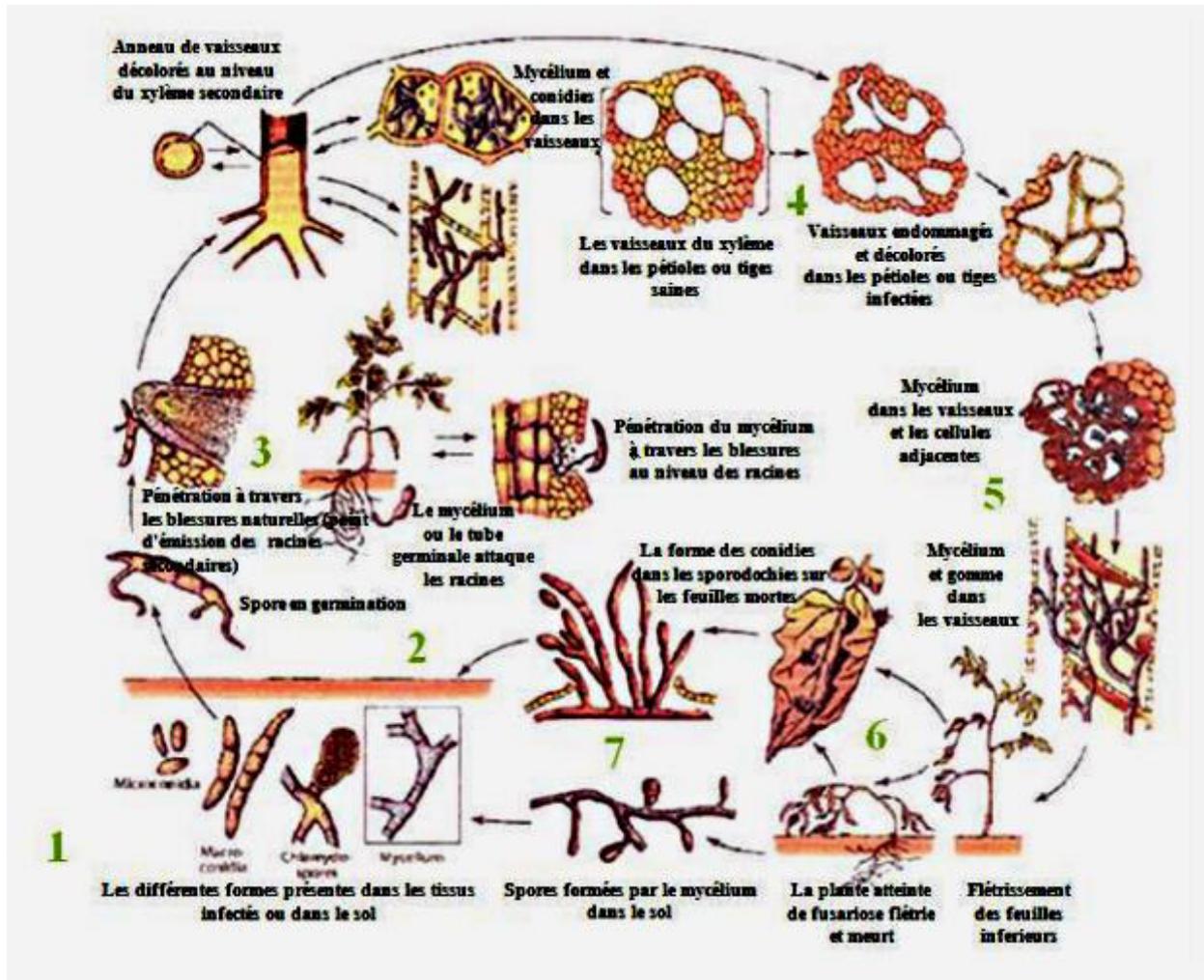
Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques.

Les isollements effectués indiquent qu'un gramme de sol peut renfermer près de  $10^5$  propagules, où les *F. oxysporum* représentent 80 à 90% de la population fusarienne totale de la rhizosphère (Correll *et al.*, 1986).

Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance (chlamydospores) en état de dormance (Booth, 1971). En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables le cycle se déroule comme suit (figure 01) :

- Les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent les racines au niveau des blessures ou des ouvertures naturelles ;
- Après pénétration dans la cellule épidermique, le mycélium se ramifie et colonise toutes les cellules avoisinantes ;
- Les hyphes mycéliens progressent à l'intérieur des cellules puis colonisent le cortex. Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des micro-conidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante ;
- A la surface des feuilles, se forment des organes fructifères appelés sporodochies qui produisent des macroconidies et qui vont à leur tour contaminer d'autres plantes

lorsqu'elles sont transportées par le vent, par l'eau ou bien par l'intermédiaire des insectes (El Mahjoub *et al.*, 1979).



**Figure 01.** Cycle de vie du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Agris, 2005).

- 1-Conidies, chlamydo-spores ou mycélium vivant dans le sol ;
- 2-Germination des spores ;
- 3-Pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines ;
- 4-Invasion des vaisseaux par les conidies et/ou mycélium ;
- 5-Production de gomme à l'intérieur des vaisseaux ;
- 6-Flétrissement et mort de la plante ;
- 7-Sporodochies ou mycélium produisant des conidies ;

### **III. Pathologie**

#### **III. 1. Flétrissure fusarienne**

La flétrissure fusarienne, causée par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, est une maladie terricole qui pénètre dans la plante par les racines. Le champignon monte par les tissus ligneux et émet des toxines qui causent le jaunissement, la flétrissure puis la mort de la plante. Les tissus ligneux des tiges atteintes ont une coloration brune.

Cette maladie est favorisée par une température, élevée du sol (environ 27°C), et est par conséquent peu répandue au Canada. Dans le sud de l'Ontario, le champignon ne survit pas plus que 2 ans où l'on a cessé de cultiver la tomate.

Les jeunes plants qui poussent en sol infesté peuvent contracter la maladie, sans qu'aucun symptôme n'apparaisse avant le repiquage. La maladie se transmet ainsi au champ (Henni, 1998).

#### **III. 2. Symptômes :**

Les symptômes de la fusariose vasculaire de la Tomate sont variables (figure 1). On peut observer des symptômes de flétrissement foliaires et de jaunissement, le brunissement des vaisseaux, et enfin la mort de la plante hôte (Messiaen, 1981).

#### **III. 2-1- Symptômes externes**

##### **III. 2.1.1. Symptômes de flétrissement**

La maladie présente souvent une évolution très rapide. Brusquement les parties du limbe attaquées flétrissent de façon irréversible comme par manque d'eau ; c'est le flétrissement rapide ou le « Quick wilt ». Dans ce cas, les feuilles sèches gardent leur chlorophylle, ce qui leur donne un aspect gris verdâtre (figure 02) (Laterrot, 1972).

##### **III. 2.1.2. Symptômes de jaunissement et nécrose :**

Il apparaît successivement des éclaircissements de nervures puis des jaunissements suivis de nécrose d'une partie ou de la totalité du limbe. Les feuilles sont en général atteintes de bas en haut, le sommet de la plante pouvant rester vivant alors que les feuilles de base sont déjà mortes (Messiaen, 1981 ; Gindrat, 1975). Souvent, les feuilles ne commencent à jaunir que d'un côté de la tige, ou alors les jeunes feuilles d'un côté du pétiole peuvent être atteintes.

Très fréquemment aussi, il arrive qu'un seul rameau soit atteint avant que le reste de la plante ne présente des symptômes de la maladie.

Au niveau de la tige, une dépression longitudinale large d'un centimètre environ part du collet puis remonte unilatéralement du côté correspondant à la racine malade. Les tissus à sa surface sont bruns (Bouhot, 1972).

### **III. 2.1.3. Symptômes annexes :**

Outre le brunissement des vaisseaux, des pétioles et de la tige, d'autres symptômes annexes accompagnent le flétrissement et le jaunissement.

L'épinastie qui se manifeste par l'inclinaison et courbure progressive vers le sol des pétioles et limbes des feuilles.

Le ralentissement de la croissance de la plante et la formation de bourrelets adventifs sur la tige (Laterrot, 1972).

### **III. 2-2- Les symptômes internes :**

Une coupe longitudinale au niveau de la tige des plantes atteintes, présente dans la partie ligneuse et adjacente au cortex extérieur vert, une coloration brun sombre des tissus conducteurs d'eau.

Des coupes transversales laissent voir également des tissus bruns foncés contenant souvent des fragments de mycélium (Gindrat, 1975).

### **III. 2-3- Mort de la plante :**

Naturellement une plante de tomate attaquée par *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici* après les premiers développements de la maladie, fini par se dessécher complètement aboutissant ainsi à la mort (Laterrot *et al.* , 1988).

### **III. 3- Taxonomie et les substances élaborées par le parasite :**

Deux substances importantes sont élaborées : les toxines et les enzymes hydrolytiques.

#### **III. 3.1- Toxines :**

Ce sont la lycomarasmine et l'acide fusarique (Gaumann, 1958 ; Tzeng et Deva, 1985). Ces substances sont responsables de l'augmentation de la perméabilité cellulaire qui provoque une transpiration accrue des plantes atteintes (Corbaz, 1990).

### III. 3.2- Enzymes hydrolytiques :

L'observation histologique des plantes infectées, montre que les parasites vasculaires sont capables de rompre la barrière de la protection constituée par les tissus superficiels et corticaux des racines et des tiges. Le cheminement inter et intracellulaire des hyphes prouve que ces champignons possèdent un arsenal enzymatique capable d'attaquer les membranes squelettiques, en particulier la cellulose et la pectine qui sont les deux constituants essentiels.

Gothoskar et ses collaborateurs en (1953) sont les premiers à avoir reproduit les symptômes de brunissement et d'obstruction des vaisseaux conducteurs ; des plantules sectionnées ont été trempées dans des solutions contenant des enzymes pectiques commerciaux.

Deux enzymes agissent sur la pectine, la pectine méthyl-estérase [PME], qui hydrolyse les groupes méthyles, et la polygalacturonase [PG], qui hydrolyse les liaisons glycosidiques.

Une activité cellulolytique a aussi été observée chez le parasite. Hussain et Dimonde en (1960) ont constaté la production de cellulase par le parasite sur des tiges de tomates infectées (Henni, 1998).



**Figure 02 :** Les symptômes de la flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*) (A) Jaunissement et flétrissement des folioles et des feuilles basses, (B) Coloration brun sombre visible en coupe longitudinale, (C) Coloration brun sombre visible en coupe transversale (Blancard, 2009).

### **III. 4. Mécanismes de défense de la tomate atteinte :**

La plante élabore une série de barrières mécaniques et biochimiques(Beckman, 1988).

#### **III. 4.1. Barrières mécaniques :**

Quand le parasite pénètre par les racines, un brunissement de quelques cellules du parenchyme ligneux voisin de la partie du vaisseau infecté apparaît. Cette réaction est suivie par la formation de thylles, sécrétion gommeuse permettant à la plante d'isoler l'agent pathogène, en obstruant le vaisseau envahi, avant que le filament mycélien ne produise des conidies.

Si cette réaction tarde à venir, l'infection par les conidies se généralise et se propage à plusieurs vaisseaux entraînant la mort de la plante par gommose, thyllose, et hyperauxinie générale. Les symptômes externes de la maladie reflètent le degré de l'invasion des vaisseaux vasculaires par les filaments mycéliens (El Mahjoub *et al.*, 1984).

#### **III. 4.2. Barrières biochimiques :**

Lorsque la plante est attaquée, elle va renforcer ses défenses en augmentant la production de phytoanticipines et en synthétisant d'autres composés antimicrobiens de faible poids moléculaire nommés "phytoalexines".

Parmi les exsudats de défense, les composés phénoliques et les terpénoïdes, notamment, ont des capacités antibactériennes et antifongiques élevées. Il a été découvert récemment que certains composés organiques volatiles libérés par les racines concourent aux mécanismes de défense (Henni, 1998).

En effet, deux substances biochimiques sont élaborées par la plante une fois que l'attaque du parasite a eu lieu :

##### **III. 4.2.1. Polyphénoloxydases**

Ce sont des enzymes à base de cuivre, elles sont activées en cas de blessures et interviennent dans l'oxydation des composés phénoliques de la plante et contribuent avec les cellules du parenchyme à la formation des thylles (Messiaen, 1981).

##### **III. 4.2.2. Phytoalexines**

Ces substances sont considérées comme des antibiotiques, leur rôle est de freiner la progression du parasite à l'intérieur des vaisseaux. Ride et Drysdale (1971) indiquent que dans le cas d'infection d'une plante de tomate, une relation s'établit dès les premiers jours de

l'agression entre la concentration de tomatine (substance inhibitrice) et le blocage de l'agent pathogène (Henni, 1998).

### **III. 5. Moyens de lutte**

Comme de nombreuses maladies parasitaires vasculaires, différentes méthodes de lutte existent pour lutter contre cette maladie, et qui restent généralement d'ordre préventif et assez limitées (Benhamou *et al.*, 1997).

#### **III. 5.1. Lutte culturale**

Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent la maladie, telles qu'un sol léger et acide, un manque d'azote et de calcium, des températures élevées supérieure à 28°C, un stress thermique et hydrique (excès d'eau) (Blancard, 1997).

#### **III. 5.2. Lutte génétique**

Il s'agit d'introduction de gènes de résistance au niveau des plantes qui deviennent plantes transgéniques. Ces gènes sont responsables de la synthèse de protéines éliminatrices du parasite. Cette technique est inefficace par le temps, d'où l'apparition de races plus virulentes et plus résistantes (Henni, 1998).

#### **III. 5.3. Lutte agronomique**

Appelée aussi lutte par rotation et compagnonnage. Elle consiste à stopper la culture de la plante qui héberge le parasite pendant plusieurs années, ce qui permet de rompre le cycle du pathogène d'où il ne trouve plus son hôte favorable (Henni, 1994). D'autre part, l'accompagnement de la culture de tomate par une autre culture dite plantes compagne participent dans la protection contre la maladie en secrétant des substances liant le fer du sol de façon à ce qu'il ne soit plus disponible aux parasites (MAOC, 2006).

#### **III. 5.4. Lutte intégrée**

C'est la combinaison de toutes les méthodes précédentes pour lutter contre les phytopathogènes à longue durée. Ces méthodes ne peuvent émerger que d'une meilleure connaissance des mécanismes fondamentaux qui sont à la base des interactions entre les plantes et leurs agents pathogènes (Corbaz, 1990).

#### **III. 5.5. Lutte physique**

Consiste à stériliser le sol avant toute transplantation par la chaleur ; la solarisation ou le traitement des racines avec de l'eau chaude entre 48 et 49°C pendant 30 secondes avant de

transplanter ou moins de 48 heures après (Anchisi *et al.*, 1985), mais généralement, la stérilisation ou la solarisation ne sont pas des solutions efficaces à long terme (Corbaz, 1990).

### III. 5.6. Lutte chimique :

C'est la méthode la plus utilisée à cause de son efficacité. Il s'agit en effet d'une désinfection du sol à l'aide de fongicides chimiques dont les plus utilisés le triazole et ces dérivés qui sont des composés très actifs grâce à leur noyau qui possède une activité pharmacologique, antibactérienne, antifongique et hypoglycémique. Cependant, ce moyen présente beaucoup d'effets néfastes sur l'environnement et la santé du consommateur. Ceci a conduit ces dernières années au remplacement des produits chimiques synthétiques par des bio-pesticides comme moyen de lutte biologique (Hamoir *et al.*, 2001).

### III. 5.7. Lutte biologique

Il s'agit d'un ensemble de procédés exploitant la relation de concurrence ou d'antagonisme existant entre le parasite et leurs ennemis naturels ou leurs produits de sécrétion. L'objectif est d'empêcher ou de minimiser les dommages ainsi que l'abondance des agents phytopathogènes sans nécessairement les détruire par la suite, en s'appuyant sur une stratégie de défense écologique et durable. Parmi les microorganismes expérimentés avec succès, à l'égard des maladies d'origine tellurique, les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* et les *Fusarium* non pathogènes qui occupent une place de choix (Benchabane, 2005). Ces derniers entrent en en compétition pour les nutriments et la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes (Alabouvette *et al.*, 2006).

#### III. 5.7.1. Définition de la lutte biologique

Le terme "lutte biologique" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures (Nordlund, 1996). La définition officielle par l'OILB (Organisation Internationale de la Lutte Biologique) stipule que la protection biologique est « l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs ». Le principe de la lutte biologique est basée sur l'exploitation par l'homme et à son profit d'une relation naturelle entre deux êtres vivants :

- la **cible** (de la protection) est un organisme indésirable, pathogène ou ravageur d'une plante cultivée, mauvaise herbe, etc.

- l'**agent** de protection (ou auxiliaire dans le cas des ravageurs) est un organisme différent, le plus souvent un parasite (ou parasitoïde), un prédateur ou un agent <pathogène du premier, qui le tue à plus ou moins brève échéance, éventuellement en s'en nourrissant, ou tout au moins qui limite son développement.

D'après la définition de Cook et Baker (1984), la lutte biologique consiste à réduire la densité d'un agent pathogène et/ou l'activité de celui-ci (= le potentiel infectieux) en mettant en œuvre un ou plusieurs organismes autres que l'homme.

### III. 5.7.2. Sols suppressifs

Les sols suppressifs sont reconnus depuis plus de 100 ans, et les mécanismes par lesquels la suppression de la maladie est provoquée font l'objet des études depuis près de quatre décennies.

Les sols résistants ont été décrits par Baker et Cook (1974) comme des sols dans lesquels la sévérité ou l'incidence d'une maladie restent limitées, malgré la présence de l'agent pathogène d'une plante hôte, et de conditions climatiques favorables au développement de la maladie. Cette notion a ensuite été élargie à l'ensemble des bioagresseurs telluriques, agents pathogènes fongiques et bactériens, mais aussi nématodes (Schneider, 1982 ; Cook et Baker, 1984; Schippers, 1992; Westphal et Becker, 2001).

Différents mécanismes peuvent conduire à la résistance des sols (Baker et Cook, 1974) : **(i)** l'agent pathogène ne s'établit pas ou ne survit pas, **(ii)** il s'établit mais cause peu ou pas de dégâts, ou **(iii)** il s'établit et cause des dégâts pendant une certaine période, mais ensuite la maladie est moins importante, bien que l'agent pathogène puisse persister dans le sol.

Le mécanisme de suppression du sol se fait par : l'antibiose, la compétition, le parasitisme et la prédation. La résistance aux maladies a conduit au concept de réceptivité des sols aux maladies (Linderman *et al.*, 1983 ; Alabouvette, 1990).

La notion de la réceptivité du sol à une maladie traduit tous les effets de l'environnement-sol, qui modulent l'activité de l'agent pathogène. Dans des conditions expérimentales fixées et en présence d'un inoculum déterminé, la gravité de la maladie est directement fonction de la réceptivité du sol. Concrètement, dans un sol très réceptif, qualifié de sensible, une faible densité d'inoculum suffit à provoquer des dégâts importants alors que dans un sol très peu réceptif, qualifié de résistant, la maladie ne se manifeste, pas même en présence d'une forte concentration d'inoculum.

### III. 5.7.3. Mode d'action des agents de lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'antagonisme, est une interaction directe entre deux microorganismes partageant la même niche écologique (Alabouvette et al, 2006).

#### III. 5.7.3.1. Antibiose

L'organisme antagoniste produit des métabolites secondaires toxiques pour l'agent pathogène cible. Ces métabolites, produits à faibles concentrations, peuvent inhiber la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents pathogènes. (Raaijmakers et al., 2002; Duffy et al., 2003).

#### III. 5.7.3.2. Hyperparasitisme

Dans le cas de l'hyperparasitisme, l'antagoniste est un parasite et reconnaît spécifiquement sa cible. Il pénètre dans ces cellules et entraîne sa destruction via la colonisation de ses organes.

*Coniothyrium minitans* est par exemple un champignon hyperparasite de *Sclerotinia sclerotiorum*, capable de produire des enzymes dégradant les parois cellulaires de l'agent pathogène, telles que des chitinases ou des -1-3 glucanases (Whipps and Gerlagh, 1992).

#### III. 5.7.3.3. Compétition pour les éléments nutritifs

Ceci est en relation également avec une occupation rapide du milieu. Elle a été mise en évidence tant dans la rhizosphère que sur le phylloplan. Dans les sols suppressifs où les agents pathogènes se développent mal, par opposition aux sols réceptifs où ils se multiplient rapidement, la biomasse est particulièrement dense. Pour déclencher la germination des chlamydospores de *Fusarium*, il faut des concentrations de nutriments beaucoup plus élevées que dans les sols réceptifs. La compétition pour le fer est un des mécanismes attribués à *Pseudomonas fluorescens*. Sur le phylloplan, les densités de levures atteignent 10<sup>4</sup> -10<sup>5</sup>/cm<sup>2</sup>.

La compétition pour les exsudats, le miellat ou les graines de pollen est active et serait en grande partie responsable de la diminution jusqu'à 50% des attaques des parasites nécrotrophes (Gravel, 2007 ; Benhamou et al., 2012).

#### III. 5.7.3.4. Modification des propriétés de surface des feuilles de la plante

Certaines bactéries possèdent la capacité de changer les caractéristiques de surface des feuilles des plantes. Ceci a pour conséquence de gêner le processus d'attachement et de

croissance des agents pathogènes sur les feuilles. Par exemple, certains micro-organismes comme *Pseudomonas* spp. sont capables de modifier la mouillabilité de la surface des feuilles et d'interférer ainsi avec le développement de certains agents pathogènes (Bunster *et al.*, 1989). *Bacillus brevis* entraîne l'extension et le dessèchement des gouttes d'eau sur les feuilles de choux chinois, diminuant les périodes d'humidité sur les feuilles et empêchent ainsi l'apparition de conditions favorables pour le développement de *B. cinerea* (Edwards and Seddon, 1992).

### III. 5.7.3.5. Stimulation des défenses de la plante hôte

Dans le cas d'une interaction entre un agent pathogène et une plante, une succession d'événements se met en place. Ceci commence par la reconnaissance des deux partenaires, suivie de la transduction de signaux émis à l'interface et qui vont conditionner la réponse finale, à savoir la mise en place de réactions de défense chez la plante (épaississement des parois végétales, production de molécules de défense...) qui s'opposent au développement de l'infection par l'agent pathogène. La résistance induite chez la plante est un mode d'action de certains agents de protection biologique (Kempe et Sequeira, 1983).

Les champignons et les bactéries sont capables de stimuler la croissance des plantes.

Les champignons ayant cette propriété sont appelés *Plant growth-promoting fungi*(PGPF) (Vos *et al.*, 2014), et les bactéries, *Plant growth-promoting rhizobacteria*(RGPR) (Beneduzi *et al.*, 2012 ; Almaghrabi *et al.*, 2013).

Les *Pseudomonas* produisent un arsenal antimicrobien, y compris le cyanure d'hydrogène (HCN), pyolutéorine, phénazines, pyrrolnitrine, sidérophores, lipopeptides cycliques, et le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), ainsi que des enzymes hydrolytiques, comme les protéases, cellulases, chitinases et glucanases. Cette diversité de composés antimicrobiens est considérée comme faisant partie d'une stratégie indirecte de promouvoir la croissance des plantes, ainsi que la capacité à induire une résistance systémique dans les plantes. En outre, les *Pseudomonas* présentent, non seulement des mécanismes indirects pour améliorer la santé des plantes, mais peuvent promouvoir directement la croissance en produisant des phytohormones (par exemple, l'indole-3-acétique, AAI). La sécrétion de composés organiques volatiles (COV) a également été montrée pour être responsable des activités favorisant la croissance des plantes. De ce fait le diméthylhexadécylamine volatile (DMHDA), émis par *Arthrobacter agilis*, est responsable de l'amélioration de la biomasse de

la chlorophylle et de la teneur en fer contenu chez certaines plantes (Trivedi et Pand, 2008 ; Rojas-Solís *et al.*, 2016).

On conclut que la lutte biologique contre les maladies fongiques par des agents microbiens semble être une excellente option, car les effets néfastes secondaires sur l'environnement peuvent être nulle ou minime. Aussi, l'avantage d'être en mesure d'exporter des produits à l'étranger sans restriction par rapport à l'utilisation de produits chimiques. L'inhibition des pathogènes par des souches bactériennes rhizosphériques est considérée comme un mécanisme indirect de favoriser de la croissance des plantes.

*Matériel*  
*et*  
*Méthodes*

## **I - Origine et prélèvement des sols**

Dans la commune de Meziraâ, wilaya de Biskra, un échantillonnage du sol dans la rhizosphère a été effectué en avril 2018. L'endroit a été choisi sur la base d'absence de symptômes de la fusariose de la tomate dans une zone où cette maladie existe aux alentours et sur la même variété "Sahara".

Au niveau d'une serre cultivée de tomate et à l'aide d'une tarière manuelle, 6 échantillons de sol ont été prélevés à trois niveaux différents (0-20 cm, 20-30 cm et 30-40 cm). L'échantillonnage est réalisé tel que décrit dans le « Manuel de laboratoire de pédologie » de Pauwels *et al.*, (1992). La méthode des prélèvements a été aléatoire. Les échantillons ont été recueillis dans des sacs en papier Kraft, soigneusement fermés. Par la suite, ils ont été bien mélangés en un seul échantillon et laissé à l'air libre pour séchage. Après, ils ont été nettoyés et débarrassés des éléments grossiers. Ultérieurement, on a passé au tamisage à 2 mm. Les échantillons ont été conservés à 4°C jusqu'au moment de leurs analyses.

## **II - Analyses physico-chimiques du sol**

### **II.1. Mesure du pH**

La mesure du pH de l'échantillon du sol passe d'abord par une préparation d'une suspension de sol (20 g de sol avec 100 ml d'eau distillée). Une agitation pendant 45 min a permis l'obtention d'une suspension homogène. La lecture de la valeur du pH est obtenue à l'aide d'un pH mètre (Aubert, 1978).

### **II.2. Mesure de la conductivité électrique (CE)**

Vingt grammes du sol étudié sont dilués dans 100 ml d'eau distillée. une agitation rigoureuse pendant 45 min, à l'aide d'un agitateur magnétique, nous a permis obtenir un homogénat du sol. La suspension est laissée se reposer pendant 15 min à une température ambiante. La conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre (Aubert, 1978).

### **II.3. Dosage des éléments minéraux et du carbone organique**

#### **II.3.1. Dosage du carbone organique et de la matière organique**

##### ***i. Principe :***

La matière organique est oxydée par un mélange de bichromate de potassium (en excès) et d'acide sulfurique (Dabin, 1981).

### **ii. Préparation des solutions**

- Solution bichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) à 8% : Dissoudre 49.04 g de ( $K_2Cr_2O_7$ ), séché à 200°C dans 1 litre d'eau distillée.
- Solution d'acide sulfurique concentré ( $H_2SO_4$ ) à 96%.
- Acide phosphorique ( $H_3PO_4$ ) à 86%.
- Indicateur à la diphénylamine : dissoudre 0.5 g dans un mélange de 20 ml d'eau distillée et de 100 ml d'acide sulfurique concentré. Diluer d'abord l'acide sulfurique dans l'eau sous jet d'eau (réaction exothermique puis y dissoudre l'indicateur).
- Sel de Mohr 1 N : dissoudre 278 g de sulfate de fer ( $F_2SO_4, 7H_2O$ ) dans 800 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée de 1000 ml, ajouter 5 ml de  $H_2SO_4$  concentré, puis compléter avec l'eau distillée jusqu'à 1L.

### **iii. Mode opératoire**

- Dans un bécher de 500 ml ; peser 1g de terre fine.
- Ajouter à l'aide d'une pipette avec poire 10 ml de  $K_2Cr_2O_7$ .
- Ajouter à l'aide d'une éprouvette 20 ml de  $H_2SO_4$  (attention réaction dangereuse : tenir le ballon loin du visage) et agiter doucement.
- Laisser le mélange refroidir pendant environ 30 min.
- Ajouter doucement 150 ml d'eau distillée et 10 ml d'acide phosphorique.
- Ajouter 01 ml d'indicateur.
- Titrer à l'aide de la solution de  $F_2SO_4$  jusqu'à l'obtention d'une couleur vert brillant. (Aubert, 1978).

Le taux du carbone est calculé selon la relation suivante :

$$C\% = (n' - n) / P * 1 * 0,3 / 0,77$$

Où :

C% : carbone organique

n' : volume de témoin (volume de titrage).

n : volume de l'échantillon.

P : poids de sol.

### **La matière organique**

Le taux de la matière organique est donné par la formule suivante :

$$MO\% = C\% * 1.72$$

### **II.3.2. Dosage du calcaire total**

Les taux du calcaire total des sols sont déterminés par la méthode volumétrique. L'opération s'accomplit en décomposant les carbonates de calcium par l'acide chlorhydrique (HCl) et en mesurant le volume de CO<sub>2</sub> dégagé à l'aide du calcimètre de Bernard.

#### **i. Principe :**

On décompose par un acide fort (acide chlorhydrique) le carbonate de calcium contenu dans l'échantillon de terre et on mesure le volume de gaz carbonique dégagé par la réaction à la température et à la pression atmosphérique :



#### **ii. Mode opératoire :**

- Peser 1g de terre tamisée à 2 mm dans un erlenmeyer.
- Préparer une solution d'acide chlorhydrique (HCl 50%)
- Remplir un tube avec de l'HCl et l'introduire avec précaution dans l'erlenmeyer.

- Boucher l'erenmeyer, mettre les niveaux liquides à zéro (même niveau dans le tube et dans l'ampoule) puis verser le tube d'HCl sur l'échantillon. Le dégagement gazeux commence. Lorsqu'il est terminé, le niveau ne change plus dans le tube.
- Mesurer le volume de CO<sub>2</sub> dégagé ; équilibrer les niveaux en abaissant l'ampoule afin que le liquide dans le même niveau dans l'ampoule et le tube.
- Les mêmes étapes ont été faites avec le CaCO<sub>3</sub> (0.3) pur.

Le taux de CaCO<sub>3</sub> est calculé selon la relation suivante :

$$\text{CaCO}_3 \% = \frac{V_1 * P_2 (0,3) * 100}{V_2 * P_1}$$

Où :

P<sub>1</sub> : prise d'essai en gramme.

P<sub>2</sub> : poids du carbonate de calcium.

P : poids de la prise d'essai de terre en gramme.

V<sub>1</sub> : volume de CO<sub>2</sub> dégagé par le carbonate de calcium contenu dans l'échantillon de sol.

V<sub>2</sub> : volume de CO<sub>2</sub> dégagé par le carbonate de calcium pur.

### **II.3.3. Dosage de sodium et potassium :**

Le sodium et le potassium ont été dosés selon la méthode de Rodier (2005) décrite au-dessous :

#### **II.3.3.1. Préparation de la solution d'acétate de sodium**

Peser 82.03g d'acétate de sodium dans un litre d'eau distillée +agitation dans un bécher d'un litre.

#### **II.3.3.2. Préparation de la solution d'acétate l'ammonium :**

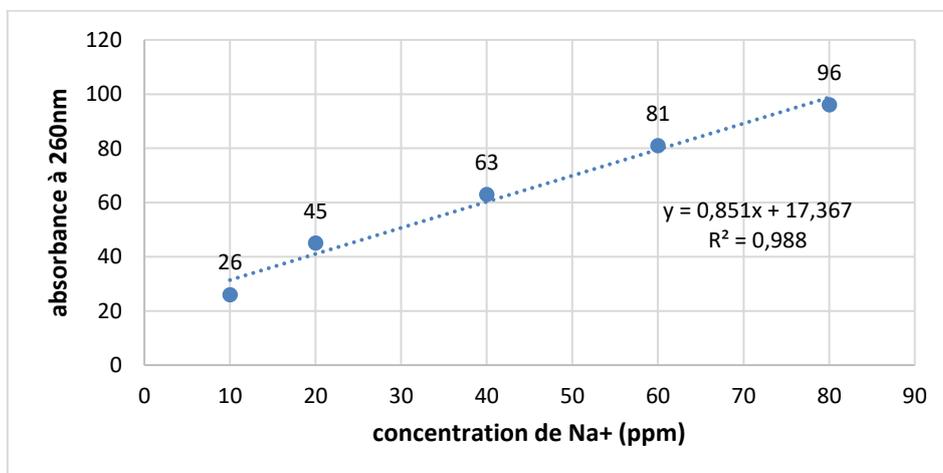
Peser 77.04g d'acétate d'ammonium dans un litre d'eau distillée +agitation.

#### **II.3.3.3. Préparation de l'échantillon :**

- Peser 5g du sol et le mettre dans des tubes de centrifugeuse +20ml d'éthanol et les poser dans la centrifugeuse 3000 tr/min pendant 5 min et jeter la solution (répétition 3 fois).
- Ajouter 50ml d'acétate de sodium (1N) et les mettre dans la centrifugeuse 3000 tr/min pendant 5 à 10 min
- Récupérer la solution pour les cations K, Mg, Ca échangeable. Laver à l'éthanol (3 fois) et jeter la solution.
- Peser 5g du sol.
- Ajouter (25ml, 25ml, 25ml) ou 50ml x3 d'acétate d'ammonium pour le dosage du sodium échangeable.

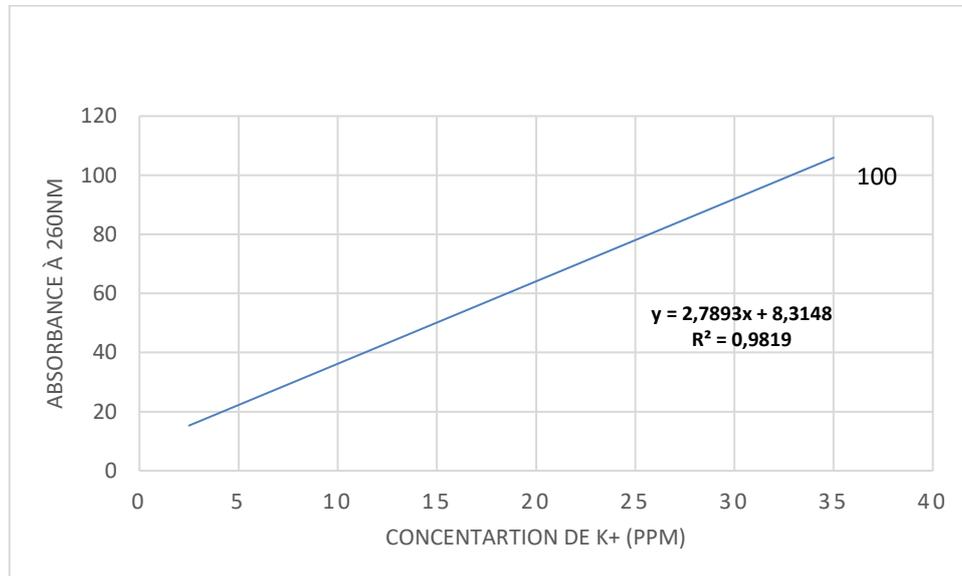
Le potassium et le sodium sont dosés par spectrophotomètre à flamme.

La concentration du sodium dans notre échantillon a été déterminée selon la courbe d'étalonnage mentionnée dans la figure suivante (figure 03) :



**Figure 03:** Courbe d'étalonnage du sodium Na<sup>+</sup>

La concentration du potassium dans notre échantillon a été déterminée selon la courbe d'étalonnage mentionné dans la figure suivante (figure 04) :



**Figure 04** : Courbe d'étalonnage du potassium K<sup>+</sup>

#### II.3.4. Dosage du Calcium et magnésium :

Le dosage du calcium et magnésium est réalisé par complexométrie selon (Calvet, 2003).

##### *i. Réactifs :*

- Solution tampon : 16.9g NH<sub>4</sub>Cl dans 142.5ml NH<sub>4</sub>OH concentré laissé refroidir complété à 250ml avec l'eau distillé
- EDTA :( 0.1N) : 2g EDAT + 0.05g MgCl<sub>2</sub> complété à 1l
- NET : 0.5g NET + 4.5g hydroxylamine hydrochlorure dans 100ml Ethanol 95%
- NaOH : 8g/100ml laisser refroidir (doucement)
- Calcon carboxylique : 0.2g calcon carboxylique +100g NaCl
- Diluer les eaux 10fois : 5ml échantillon +45ml H<sub>2</sub>O

## ii. Mode opératoire

### Témoin :

Prenant Bécher contient :

- 50 ml l'eau distillé
- 0.2 g calcon carboxylique +NaCl
- 2-3 ml NaOH
- titration avec la EDAT et changement la couleur rose –bleu

### II.3.4.1. Dosage du calcium ( $\text{Ca}^{++}$ )

- Prenant Bécher contient :
- 5 ml de l'échantillon + 45 ml  $\text{H}_2\text{O}$  (dilution  $\times 10$ )
- 2-3 ml NaOH
- 0.2g calcon carboxylique + NaCl
- Cette solution est placée au-dessus l'agitateur.
- Titration avec la EDAT et changement la couleur (rose –bleu)

### II.3.4.2. Dosage du calcium et magnésium

- Prenant bécher contient :
- 5ml échantillon + 45 ml  $\text{H}_2\text{O}$  (dilution  $\times 10$ )
- 4ml solution tampon (pH=10)
- 4 gouttes NET

Cette solution est placée au-dessus l'agitateur

- Titration avec la EDAT et changement la couleur (rose – bleu)

### ○ Expression des résultats :

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{V_1 - V_2 * N * 1000}{A} * D$$

$$[\text{Mg}^{2+} + \text{Ca}^{2+}] = \frac{V_1 - V_2 * N * 1000}{A} * D$$

$$\text{Mg}^{2+} = (\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}) - \text{Ca}^{2+}$$

Où :

V1 : volume de titration avec l'EDAT

V2 : volume de titration avec l'EDAT (Témoin)

N : normalité d'EDTA (0.01N)

D : facteur de dilution (x10)

A : prise de l'essai (50ml)

### III - Isolement et identification de l'agent pathogène :

La souche fongique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 1 (notée *F.o.l*) ; elle nous a été fournie aimablement par le laboratoire de mycologie de la station régionale de la protection des végétaux (SRPV) de Ghardaïa.

### IV - Isolement et identification des agents antagonistes

Pour obtenir les microorganismes à partir du sol, nous avons appliqué deux techniques :

#### IV.1. L'incorporation directe du sol (*soil plates*) :

Le principe consiste à incorporer le sol, préalablement séché et homogénéisé, directement dans le milieu de culture maintenu en surfusion.

Une faible quantité de terre (6mg) a été saupoudrée directement dans des boîtes Petri contenant le milieu PDA. Les cultures ont été ensuite mises en incubation à 21 C° (Davet et Rouxel, 1997).

#### IV.2. Les suspensions-dilutions (*dilution plates*)

Le principe de cette technique consiste à mettre une quantité de terre en suspension dans de l'eau distillée stérile, puis à incorporer les différentes dilutions de cette suspension dans le milieu d'isolement. Cette technique comprend plusieurs étapes, allant de la préparation des dilutions jusqu'à l'interprétation des résultats (Rapilly, 1968).

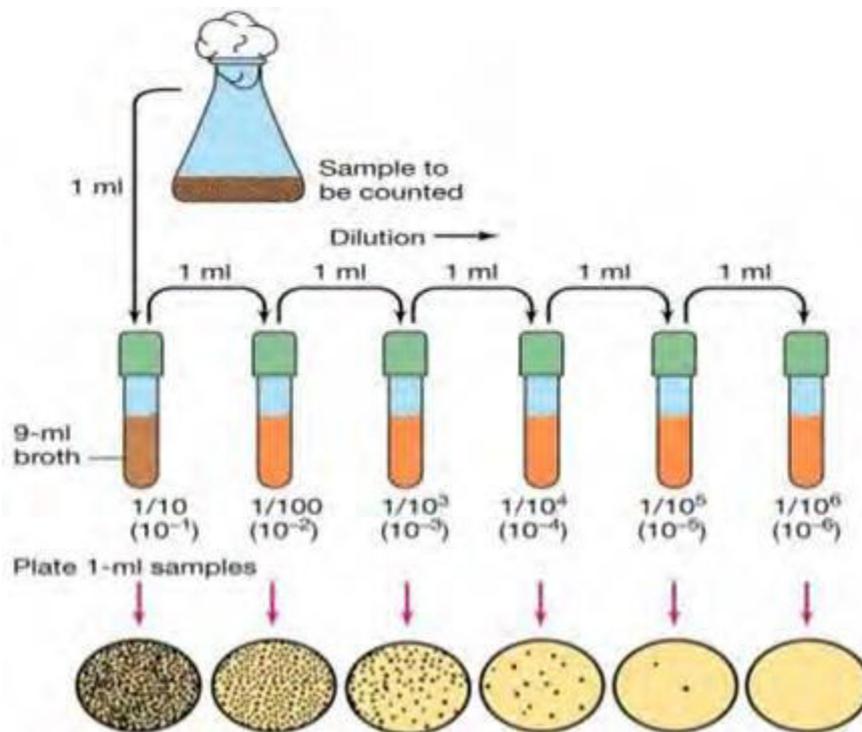
Le sol séché est mis en suspension dans de l'eau distillée stérile (1 g de sol dans 9 ml d'eau distillée stérile) pour obtenir une dilution de  $10^{-1}$ . Après agitation, des prélèvements successifs de 1 ml de cette suspension sont introduits dans des tubes contenant 9 ml d'eau distillée stérile (dilutions décimales) jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-6}$ . (figure 05)

Rappelons que cinq répétitions sont préparés à partir du même échantillon du sol (c'est-à-dire nous avons préparé cinq séries de dilutions).

Ensuite, un volume de 1 ml de la suspension  $10^{-1}$  est déposé dans une boîte de Petri contenant le milieu de (PDA) (Composition en Annexe 01), pour sélectionner les champignons, et le même volume de la dilution  $10^{-4}$  est étalé à la surface d'un milieu gélosé à la base de peptone et d'extrait de levure (YPG) (Composition en Annexe 01), pour sélectionner les champignons, les bactéries et les actinomycètes qui arrivent à pousser sur ce milieu.

Pour chaque dilution utilisée ( $10^{-1}$  et  $10^{-4}$ ) et pour chaque milieu de culture (PDA et YPG) 5 boîtes de Petri sont ensemencées.

Les boîtes sont ensuite mises en incubation à l'obscurité à  $24^{\circ}\text{C}$  jusqu'au développement apparent de colonies (Rapilly, 1968 ; Botton *et al.*, 1990).



**Figure 05 :** Méthode de suspension dilution.

### IV.3. Purification et conservation des isolats

Les microorganismes isolés sont d'abord purifiés par deux ou trois repiquages successifs mono-colonie sur des milieux de cultures PDA et YPG pour les champignons et pour les bactéries respectivement.

Une fois purifié, chaque isolat est désigné par un numéro de code. Pour les souches bactériennes, le numéro de code est précédé par la lettre B, suivi d'un numéro d'ordre.

La nomenclature des isolats de champignon commence par la lettre C, suivi d'un numéro d'ordre.

Des disques de gélose prélevés à l'aide d'un emporte-pièce, sur le pourtour de chaque boîte Petri purifiée, ont été transférés dans des tubes à essai contenant les milieux de cultures précédents. Ces derniers ont été ensuite conservés à  $-4^{\circ}\text{C}$ .

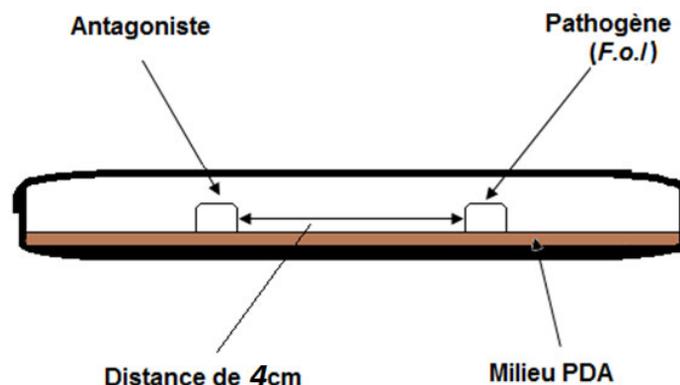
### V - Test de l'activité antagoniste *in vitro*

L'activité antagoniste *in vitro* de chaque micro-organisme isolé contre le *Fol* a été étudiée selon la méthode de confrontation par contact direct.

#### V.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture

Cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA, deux pastilles gélosées (6 mm de diamètre), l'une portant l'antagoniste à tester et l'autre le *Fol*. Ces pastilles sont repiquées en même temps et sont distantes de 4 cm selon l'axe de la boîte (figure 06). L'incubation est réalisée à la température  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 7 jours. Quatre répétition pour chaque combinaison de agent antagoniste/*Fol* ont été réalisées ; le témoin est constitué uniquement par repiquage du *Fol*. (Hibar *et al.*, 2007 ; Marwa *et al.*, 2014)

La comparaison se fait alors par rapport à une boîte témoin en absence d'antagoniste.



**Figure 06:**Présentation schématique de la confrontation directe.

## V.2. Evaluation de pourcentage d'inhibition :

La notation du diamètre moyen des colonies traitées a été réalisée tous les jours pendant 7 jours (Hmouni *et al.*, 1996).

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été estimé en se basant sur la formule suivante (Hibar *et al.*, 2007 ):

$$I(\%) = (1 - C_n/C_0) * 100$$

Avec :

$C_n$  : diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste choisi ;

$C_0$  : diamètre moyen des colonies témoins.

## VI - Effet de l'agent antagoniste sur la sporulation du *Fol*

Ce test est réalisé selon la technique décrite par Ibrahim *et al.* (1996). Elle consiste à prendre des fragments de 5 mm<sup>2</sup> à partir des boîtes de Petri où sont réalisées les confrontations directes. Les prélèvements sont effectués au 7<sup>ème</sup> jour, à une distance de 5 mm du front de confrontation pour les colonies du *Fol*, et de la périphérie pour les témoins. Les fragments sont mis dans des tubes contenant 5 ml d'eau distillée stérile et après agitation. Le comptage de conidies est effectué à l'aide d'une cellule de comptage ou de numération (cellule de Malassez).

La sporulation est exprimée en nombre de conidies par unité de volume (spores/ml).

Le pourcentage d'inhibition de la sporulation (PIS) par rapport au témoin est calculé selon la formule suivante :

$$PIS(\%) = (N_0 - N_c / N_0) * 100$$

Où :

$N_0$  : nombre de conidies estimé chez le témoin.

$N_c$  : nombre de conidies estimé en présence de l'antagoniste.

## VII - Effet du calcium sur la croissance mycélienne du *Fol*

Le calcium a été testé des concentrations croissantes de 12, 24, 36 et 48 mg Ca<sup>++</sup>/l.

Le carbonate du calcium a été directement incorporé au milieu de culture PDA stérile et maintenu en surfusion à 55C°. (Selmaoui et Douira, 2003 ; Zemmouri *et al.*, 2015)

Le milieu est coulé en boîtes de Petri de 90 mm de diamètre.

Un disque mycélien de 6 mm de diamètre prélevé sur une culture jeune de pathogène a été déposé au centre de chacune des boites de Petri contenant 15 ml de milieu de culture seul pour le témoin ou additionné de carbonate de calcium à différentes concentrations.

Les boîtes de Petri ainsi inoculées sont déposées dans un incubateur à l'obscurité à une température de 25C° pendant 7 jours. La croissance mycélienne a été estimée en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires des colonies du *F.o.l.*

Pour chaque concentration de carbonate de calcium, trois répétitions sont réalisées.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne *F.o.l* par rapport au témoin est calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = (1 - D_c/D_t) * 100$$

Où :

**D<sub>t</sub>**: diamètre du témoin sur le milieu de culture sans calcium.

**D<sub>c</sub>**: diamètre du champignon sur le milieu de culture additionné de carbonate de calcium.

## VIII - Traitement statistique des données

Le traitement statistique des résultats a été effectué à l'aide du logiciel 'XLSTAT' Un seul facteur a été pris en considération à savoir le facteur souche fongique, et une seule variable à savoir le diamètre de croissance des colonies. L'essai a été déroulé en randomisation totale.

---

*Résultats*  
*et*  
*Discussions*

---

## I. Analyses physico-chimiques du sol :

Les résultats des analyses physico-chimiques de notre échantillon du sol sont résumés dans le tableau suivant (tableau 02) :

**Tableau 02** : Résultats des analyses physico-chimiques du sol testé.

MO (%)	C (%)	CaCO <sub>3</sub> (%)	Ca <sup>++</sup> (ppm)	Mg <sup>+</sup> (ppm)	K <sup>+</sup> (ppm)	Na <sup>+</sup> (ppm)	PH	CE (ms/cm)
0.80	0.46	7.84	24	33.6	14.95	55.97	8.57	0.806

Les résultats de l'analyse du sol (Tableau 02) révèlent que la teneur en matière organique est très basse ; ce qui montre que ce sol est très pauvre en matière organique (MO) (inférieure à 1%) et par conséquent en Carbone.

En ce qui concerne le taux de calcaire total, la valeur 7.84% indique que le profil étudié est classé comme un sol modérément calcaire. Par ailleurs, les résultats de l'analyse du pH montrent que ce profil est fortement alcalin (8.57) (Baize, 1988). La mesure de la conductivité électrique (CE), facteur indiquant le degré de la salinité, est inférieur à 1 (CE<1) (0.806 ms/cm), ce qui signifie que la concentration en sel de ce sol est neutre (Aubert, 1978).

## II. Isolement et caractérisation des agents antagonistes

L'isolement des microorganismes, réalisé selon la méthode de suspension- dilution (*dilutions plates*) et de l'incorporation directe du sol (*soil plates*), nous a permis d'obtenir une collection de plus de 20 isolats différents (bactéries, champignons et actinomycètes). 13 d'entre eux seulement ont été purifiés.

La caractérisation des microorganismes isolés a été faite en examinant la pigmentation et la texture des colonies obtenues.

Ce résultat nous permet de conclure que les moisissures sont les microorganismes les plus représentatifs dans le profil du sol objet d'étude.

Les isolats obtenus ont subi une série de purification. Une fois purifié, chaque isolat est désigné par un numéro de code précédé par une lettre indiquant la nature microbiologique de l'isolat (C pour champignon, B pour bactérie et A pour actinomycète).

## II.1. Etude macroscopique

Les caractères macroscopiques des isolats sélectionnés ont été étudiés sur milieu PDA. Le tableau 03 récapitule l'aspect macroscopique des isolats purifiés : surface et consistance des colonies, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

**Tableau 03 :** Aspect et caractères macroscopiques des différents isolats antagonistes obtenus.

Code de l'isolat	Aspect macroscopique	Caractères macroscopiques
C1		Un aspect poudreux, duveteux velouté. Colonies de forme circulaire et ridé irrégulièrement. Couleur vert bleutée au centre, blanche à la bordure.
C3		Colonie laineuse blanchâtre, crème au centre et blanche à la périphérie.
C4		Colonie laineuse blanchâtre, Une surface bombée avec des rides partant du centre jusqu'à la marge.

C5		<p>Le mycélium est floconneux d'une couleur blanc rosé ; grisâtre à la périphérie.</p>
C6		<p>Colonies sous forme de points noirs ; elles présentent un mycélium rasant d'un aspect granuleux.</p>
C7		<p>Couleur vert-olive ; revers vert obscur, mycélium ras.</p>

C8		<p>Colonies présentant une texture initialement glabre puis duveteuses et enfin poudreuse. La couleur passe du gris olive au brun foncé avec une couleur clair à la bordure.</p>
C9		<p>Colonies aplaties, poudreuses de couleur brun pâle à brun rouille et une pigmentation jaune moutard. Mycélium ras.</p>
C10		<p>Colonies cotonneuses avec un mycélium aérien de couleur blanc beige à brun. Les hyphes présentent un port élevé. On note une croissance rapide sur le milieu utilisé ; la colonie envahit la boîte au bout du 2<sup>ème</sup> jour d'incubation.</p>

C11		<p>Les colonies sont duveteuses de couleur verdâtre devenant brun foncé à noire avec un verso foncé.</p>
A		<p>Les colonies présentent un aspect pâteux et après 7 jours d'incubation devient légèrement poudreux. Les colonies sont un peu surélevées. Cette élévation est en pic ou en dôme avec toujours des marges plates sinuées de couleur jaunâtre, blanchâtre et crème.</p>
B		<p>Colonies présentant un aspect pâteux avec une couleur noire au centre et blanchâtre à la bordure.</p>

### III. La mise en évidence de l'activité antagoniste des souches isolées :

L'activité antagoniste, *in vitro*, des souches sélectionnées vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* été étudiées selon la méthode de la confrontation par contacte directe.

L'activité antifongique des 13 souches de microorganismes isolés est révélée par le taux d'inhibition de celle-ci vis-à-vis de l'agent pathogène de la fusariose de la tomate (*F.o.l*).

Les mesures radiales quotidiennes de chaque colonie via le test d'antagonisme (y compris le diamètre du disque) permettent d'estimer l'effet inhibiteur de chaque souche antagoniste sur la croissance mycélienne du pathogène (figure 07).



**Figure 07 :** Diagramme représentant les pourcentages moyens d'inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en confrontation directe avec les antagonistes.

Les résultats obtenus, après une semaine d'incubation à 25C°, montrent que la croissance mycélienne du témoin du *F.o.l* est plus importante en comparaison à ceux obtenus avec les différentes confrontations (Pathogène –Antagoniste).

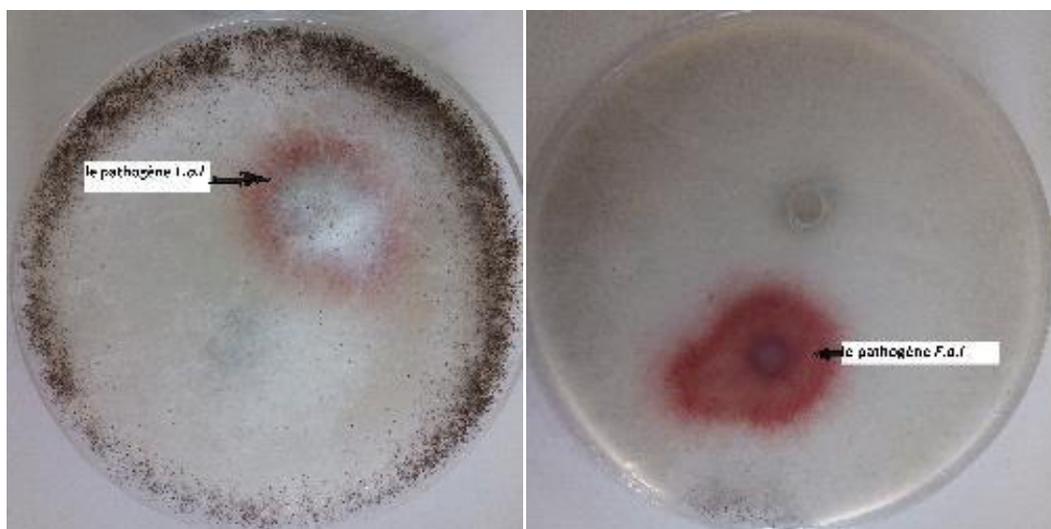
En effet, la croissance du pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* cultivé seul a été de 83 mm, par contre, en présence des antagonistes, la croissance de *F.o.l* varie entre 25.5

---

et 60 mm selon l'antagoniste (annexe 02), ce qui correspond à un taux d'inhibition compris entre 28.25 % et 67.25% avec C8 et C10 respectivement.

Même à des degrés variables et sans uniformité, toutes les souches testées ont montré une activité d'antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. La souche C10 apparaît comme la plus active avec un pourcentage d'inhibition élevé (67.25%) par rapport aux autres souches antagonistes testées.

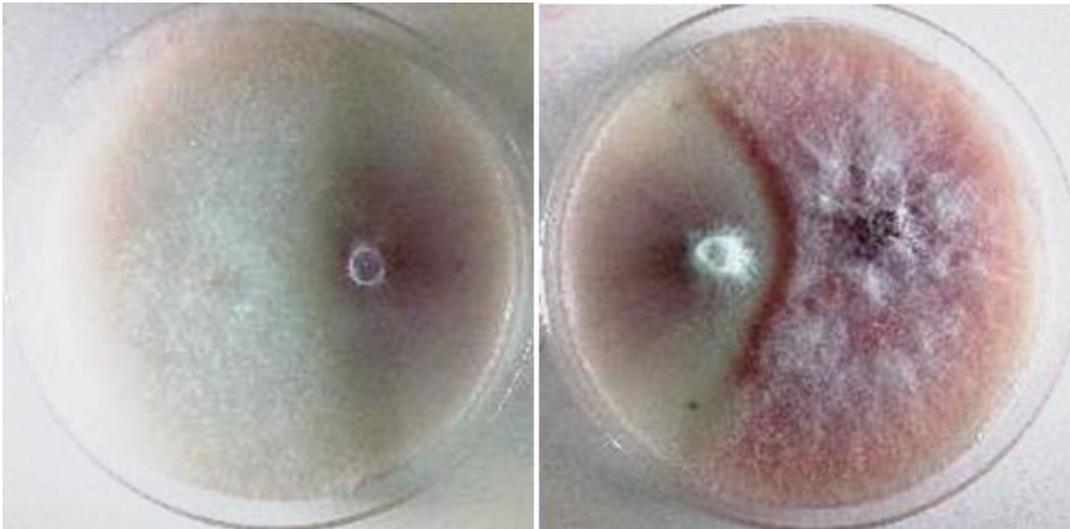
En effet, la boîte est presque totalement envahie par le mycélium de l'isolat antagoniste C10 alors que le pathogène occupe une surface réduite qui ne dépasse pas le 22.75 mm par rapport au témoin (figure 08).



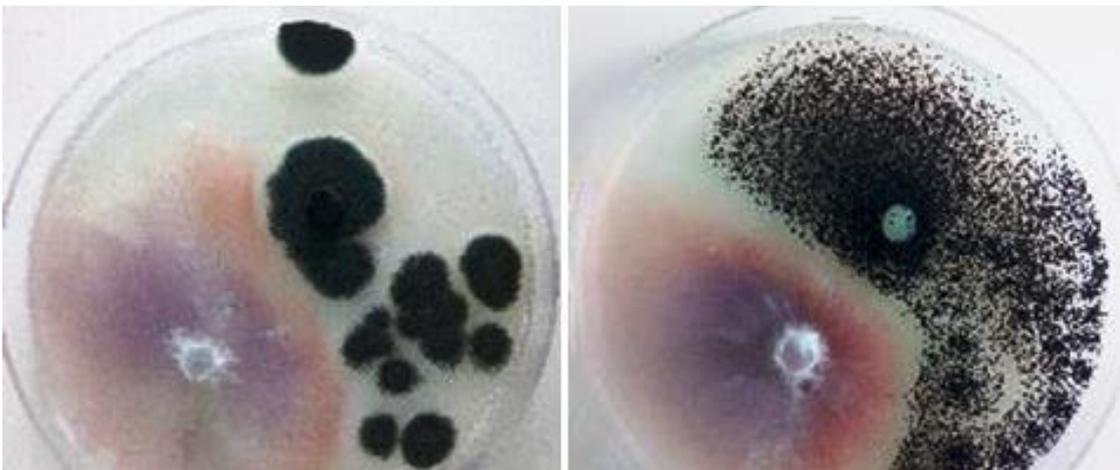
**Figure 08** : L'effet inhibiteur de la souche C10 sur la croissance mycélienne du *F.o.l*  
(Vue de face à gauche et de verso à droite).

Par ailleurs et d'après les taux d'inhibitions obtenus, les isolats (C1, C6, C5 et C3) ont montré une activité inhibitrice remarquable (46%, 45%, 39.75% et 38.87%) respectivement contre la souche pathogène et ceci par l'apparition d'une zone d'inhibition suivie par un arrêt de croissance du *F.o.l*.

Les figures 09 et 10 montrent quelques exemples de l'inhibition de la croissance du *F.o.l* par certains isolats testés.



**Figure 09** : l'effet inhibiteur de la souche C3 (gauche) et la souche C5 (droit) sur la croissance mycélienne du *F.o.l.*



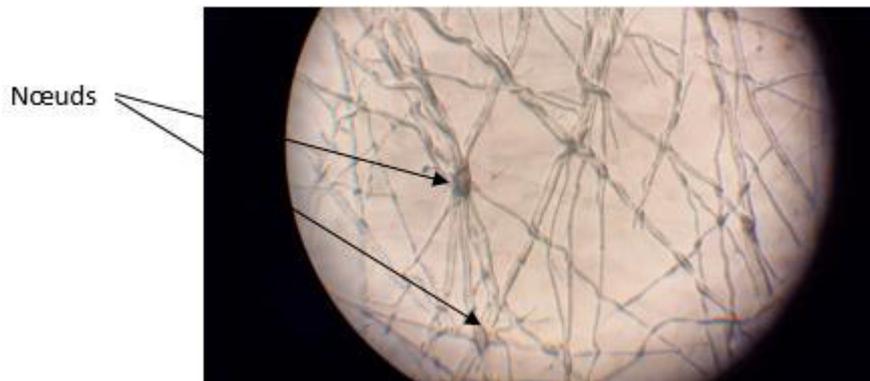
**Figure 10**: l'effet inhibiteur de la souche C1 (gauche) et la souche C6 (droit) sur la croissance mycélienne du *F.o.l.*

En revanche, les autres souches (C2, C7, C8 C9, C11, A, B) ont eu une action significativement moins importante que les isolats cités auparavant (taux d'inhibition inférieur à 36.75 %) (Annexe03).

Une confirmation de ces constats est obtenue par l'analyse statistique effectuée. En effet, l'analyse de la variance par ce test, avec un intervalle de confiance de 95%, montre des différences très significatives entre les diamètres des colonies testées et celui de la souche pathogène (Annexe 04). Ces résultats suggèrent des activités antagonistes très actives. Il est à noter que cette faculté diffère bien sûre d'un isolat à un autre. Le classement établi par le test de Newnan-Keuls (Annexe 04) nous permet de distinguer 9 groupes de classement. Il est clair

---

que la souche la C10 se démarque nettement dans le groupe F des autres isolats. Il est donc justifiable de considérer cette souche comme la plus active du groupe des isolats sélectionnés.



**Figure 11:** Formation de nœuds entre les hyphes de l'agent pathogène (*F.o.l*) et ceux d'un isolat antagoniste.

Les observations microscopiques effectuées à notre niveau montrent que le mécanisme d'action dans notre cas est probablement de nature mécanique. En effet la figure 11 présente des nœuds formés entre les hyphes mycéliens de la souche pathogène (*F.o.l*) et ceux d'un isolat antagoniste C10. On peut différencier les hyphes des deux souches belligérantes par l'épaisseur de chacune.

La différence entre les pourcentages d'inhibition de nos souches, suggère que le mode d'action et/ou le type de métabolite produit par les isolats peut varier, (Williams et Asher, 1996).

Plusieurs travaux ont été effectués, *in-vivo* et *in-vitro*, pour le bio-contrôle du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, et d'autres champignons phytopathogènes appartenant au même genre, en utilisant des micro-organismes antagonistes.

Benchabane *et al.* (2000) ont trouvé que certaines souches appartenant au groupe des *Pseudomonas fluorescens*, isolées en Algérie, possèdent des potentialités d'antagonisme appréciables *in-vitro* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Ils ont également observé que la bactérisation des semences et des plantules de tomate a induit l'inhibition, voire même l'annulation de l'expression des symptômes du *Fusarium wilt* chez la tomate.

Afin de contrôler la flétrissure de la tomate causée, par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, De cal *et al.* (1995) ont utilisé des champignons connus par leur production

---

d'enzymes lytiques. Certaines espèces de champignons (*Penicillium oxalicum*, *Penicillium purpurogenum* et *Aspergillus nidulans*) ont endommagé les hyphes du *F.o.l* *in-vitro* et réduit le nombre des micro-conidies dans le sol.

Larkin et Fravel (1998) ont testé plusieurs souches non pathogènes de *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp., *Pseudomonas fluorescens* et autres. Les isolats spécifiques non pathogènes de *F.oxysporum* et de *F.solani*, prélevés dans un sol supprimeurs de la fusariose, étaient les antagonistes les plus efficaces, permettant un contrôle significatif et cohérent de la maladie. Les isolats de *T.hamatum* et *P.fluorescens* ont également réduit de façon significative la fusariose par rapport aux témoins.

De même, la confrontation directe *in-vitro* avec *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* vis-à-vis de plusieurs souches appartenant aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas*, a donné des bons pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne du *F.o.l*. D'ailleurs, la bactérisation des graines, ainsi que la pré-inoculation des plantules, de tomate par les souches bactériennes récentes et avant l'ajout du champignon, ont pour la plupart montrées une diminution de la gravité de cette maladie (Bounoua, 2008).

L'envahissement du mycélium du *F.o.l* par certaines souches testées dans la confrontation directe dans notre test, peut être due à l'action myco-parasitaire de l'antagoniste sur le pathogène. Afin de mieux comprendre ce mode d'action, plusieurs travaux ont été réalisés.

En réalisant une confrontation directe, Benhamou et Chet (1997) ont noté l'envahissement du *Pythium ultimum*, un autre champignon tellurique, par *T. harzianum*, et ce au bout de quatre à cinq jours d'incubation. Hibar *et al.* (2005) ont également observé l'envahissement du mycélium de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* par ce même agent antagoniste.

Ces mêmes résultats ont été rapportés par les travaux de (Benhamou et Chet, 1996 ; Daami-Remadi, 2001; Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001) qui ont également noté l'envahissement du *T.harzianum* aux colonies de *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* et même une sporulation sur celles-ci, révélant ainsi son pouvoir hautement myco-parasitaire.

Des modifications structurales sur la morphologie des isolats de *Fusarium* sp. sont causés par le phénomène de mycoparasitisme exercé par l'agent antagoniste *Trichoderma* sp. Le

mycoparasitisme est mis en action par un enroulement des hyphes de l'antagoniste autour de ceux de son hôte. Ils sont fixés par des liaisons covalentes : les *appressoria*. La pénétration s'exerce à l'aide de crochets et de la formation de ces *appressoria* qui secrètent des chitinases et des  $\beta$ 1-3glucanases ; ces enzymes hydrolytiques dissolvent la paroi de l'hôte (Hibar *et al.*, 2005). Une lyse des membranes mycéliennes, suivie par une digestion des contenus plasmiques, traduit la force de pression occasionnée par l'enroulement du mycélium du *Trichoderma* sp autour du mycélium du *Fusarium* sp.(Howell *et al.*, 2003).

#### IV. Effet des antagonistes sur la sporulation du *F.o.l*

Les tests de confrontations directes ont servi également pour estimer l'inhibition de la sporulation du pathogène par les antagonistes testés. Parallèlement à la diminution de la croissance mycélienne du *F.o.l*, des réductions importantes de la sporulation, sous l'effet des isolats antagonistes testés, ont été observées. Les résultats de pourcentage d'inhibition de la sporulation (PIS) par rapport au témoin sont présentés dans le tableau suivant (tableau 04) :

**Tableau 04:** Résultats de l'effet des antagonistes sur la sporulation de *F.o.l*.

Isolat	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	B	A
PIS (%)	97.27	61.86	87.30	74.60	91.15	95.04	77.89	21.54	23.94	-	80.50	76.29	31.65

Il est à signaler que le comptage des spores concernant la souche C10 n'a pas été effectué du fait que le mycélium de cette dernière a envahi complètement la boîte.

#### V.L'effet du calcium sur la croissance mycélienne du *F.o.l*

Selon les résultats obtenus (tableau 05), il semble que le calcium, sous la forme chimique choisie ( $\text{CaCO}_3$ ), n'exerce aucun effet sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, et ceci pour les différentes concentrations testées (0% de taux d'inhibition).

---

**Tableau 05 :** pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de *F.o.l* en présence de calcium à différente concentration.

Concentration (mg/l)	12	24	36	48
I (%)	0.66	0	0	0

Le calcium, sous la forme chimique choisie ( $\text{CaCO}_3$ ) n'a pas montré un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne (0%) du *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Des résultats similaires ont été signalés par Selmaoui, et Douira (2003)). Ces derniers ont montré que le carbonate de calcium s'est montré inefficace quant à l'inhibition du développement mycélien de *Fusarium avenaceum*, *Alternaria alternata*, *Trichothecium roseum*, *Trichoderma harzianum* et *Penicillium expansum*, alors que le propionate de calcium, l'hydroxyde de calcium, le silicate de calcium, l'oxyde de calcium et le chlorure de calcium ont montré une toxicité importante vis-à-vis les champignons testés.

Donc, l'inefficacité du calcium vis-à-vis le *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* dans notre test peut être due à la forme chimique choisie (le carbonate de calcium) ou à la méthode utilisée.

Le test de l'effet de cet élément sur la sporulation n'a pas eu lieu.

# *Conclusion*



Au terme de cette étude, nous avons isolé une gamme variée de microorganismes contient des moisissures, des bactéries et des actinomycètes. Ces prélèvements ont été réalisés à partir un sol ne représente pas les symptômes typiques de la fusariose vasculaire de tomate dans la commune de Meziraâ, wilaya de Biskra.

Nous avons testé *in-vitro* le pouvoir antagoniste de chaque isolat obtenu vis-à-vis *fusariumoxysporum* f.sp. *lycopersici*, en utilisant la méthode de confrontation directe.

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antagoniste montrent un pourcentage d'inhibition varie de 28.25% à 67.25% selon les antagonistes testées.

Il y a de noter que l'action mycoparasitaire a été démontrée par quelques antagonistes testées contre le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Par ailleurs, nous avons également observé des réductions importantes de la sporulation du *F.o.l* sous l'effet des antagonistes testés.

L'effet du calcium, sous la forme chimique le carbonate de calcium sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* a été évalué *in vitro*. Les résultats obtenus montrent que le calcium avec différentes concentrations n'a été pas efficace contre le pathogène étudié.

En résumé, les résultats de cette modeste recherche nous ont permis de confirmer que les facteurs biotiques contribuent sous une forme ou une autre dans la suppression de fusariose vasculaire.

Enfin, ces résultats ouvrent des nouvelles perspectives pour élargir la zone d'étude et viser d'autres sols de tomate saines et contaminés afin d'isoler une gamme plus large de microorganismes et tester leur pouvoir antagoniste vis-à-vis le *F.o.l*.

Il est également important de faire des tests *in vivo* de l'effet de ces microorganismes sur l'expression de la maladie.

Aussi, des analyses de sol plus précises doit être pris en charge où la fusariose n'exprime pas pour étudier l'influence des facteurs abiotiques sur le pathogène et par conséquence sur l'expression de la fusariose vasculaire de tomate.

Il est aussi recommandé de pousser les recherches sur les mécanismes responsables de la résistance de sol face au *Fusarium wilt* pour mieux comprendre la stratégie des sols suppressifs.

*Références  
bibliographiques*

---

- Abdel-Kader, M. M., El-Mougy, N. S., et Lashin, M. D. A. 2012.** Different approaches of bio-control agents for controlling root rot incidence of some vegetables under greenhouse conditions. *International Journal of Agriculture and Forestry*, 2(1), 115-127.
- Agrios G.N., (2005).** Plant pathology, 5<sup>ème</sup> édition. Departement of Plant pathology University of Florida, Elsevier Academic Press.pp. 948.
- Alabouvette, C. 1990.** Biological control of *Fusarium* wilt pathogens in suppressive soils. In *Biological Control of Soil-Borne Plant Pathogens*, edited by Hornby, D. p. 27-43. CAB International. Wallingford.
- Alabouvette, C. Olivain, C. et Steinberg, C. 2006.** Biological control of plant diseases: the European situation. *European Journal of Plant Pathology*, 114: 329-341.
- Alexander, L.J., Tucker, C.M. 1945.** Physiology specialisation in the tomato wilt fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *J. Agr. Res.*70: 303-313.
- Almaghrabi, O. A., Massoud, S. I., et Abdelmoneim, T. S. 2013.** Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. *Saudi journal of biological sciences*, 20(1), 57-61.
- Anchisi, M. Gennari, M. Matta, A. 1985.** Retardation of *Fusarium* wilt symptoms in tomato by pre- and post-inoculation treatments on the roots and aerial parts of the host in hot water. *Physiological Plant Pathology*. 26: 175-183.
- Arbaoui, M. 1984.** Essai d'utilisation de la vibration électrique et manuelle pour l'élimination de la fécondité de la tomate *lycopersicum esculentum* non chauffée, thèse d'ingénieur en agronomie, INA.56 p.
- Armstrong G.M. et Armstrong J. K., 1981.** Formae specialis and races in *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. Pages 391- 399 In: *Fusarium Diseases. Biology and Taxonomy*. Nalson P.E., Tousoon T.A. and Cook R.J. eds Pennsylvania State University Park., 457pp.
- AUBERT G. 1978.** Méthodes d'analyse des sols. Éditions C.R.D.P., Marseille, 360 p.
- Baize, D. 1988.** Guide des analyses courantes en pédologie. Institut national de la recherche agronomique.
- Baker, K. F., and Cook, R. J. 1974.** *Biological Control of Plant Pathogens*. Edited by Freeman, W. H. American Phytopathology Society. San Fransisco, USA.
- Beckman, C.H., Muller, W.C., Verdier, P.A. 1988.** A system of defense in depth provided by vascular parenchyma cells of tomato in response to vascular infection with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, race 1. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 34: 227-239.
- Benchabane, M. 2005.** Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souche de *Pseudomonas* spp. *fluorescents*, thèse de Doctorat d'état .FSB6UTHB.Alger, p. 235.

- Benchabane, M., Bakour, R., Toua, D., & Boutekrabt, A. 2000.** Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. *EPPO Bulletin*, 30(2), 243-246.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., et Passaglia, L. M. 2012.** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1044-1051.
- Benhamou N, Chet I. 1996.** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology*, **86**: 405–416.
- Benhamou N., Rey P., Cherif M., Hockenhull J., Tirilly Y. 1997.** Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici*. *Phytopathology* **87**, p. 108–121.
- Benhamou, N., le Floch, G., Vallance, J., Gerbore, J., Grizard, D., et Rey, P. 2012.** *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiology*, 158(Pt 11), 2679-2694.
- Benhamou, N., Chet, I. 1996.** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology*, 86(4), 405-416.
- Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C. et Codon, A. C. 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology* 7 : 249-260.
- Blancard D. 2009.** Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition: Quæ. Paris. 691p.
- Blancard, D. 1997.** A Colour Atlas of Tomato Diseases : Observation, Identification and Control. Edition, New York. 2012 p.
- Booth C., 1971.** The genus *Fusarium*. Common wealth Mycological Institute. Kew. Surrey, england., 237P.
- Bost, S. C. 2001.** First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Tennessee. *Plant Dis.* 85: 802.
- Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier JJ, Vayssier Yet Veau P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. 2<sup>ième</sup> Ed. Masson. 426p.
- Bouhot, D., Rouxel, F., Louvet, J. 1972.** Premières observations de la fusariose vasculaire de la tomate en France. *Ann. Phytopath.* 4(2) : 187-191.
- Bounoua, M, D. 2008.** Essais d'utilisation des *Pseudomonas* spp. et *Bacillus* spp. dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* sur tomate et *Verticillium dahliae* sur l'olivier (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).
- Bunster, L., Fokkema, N.J., and Schippers, B. 1989.** Effect of surface-active *Pseudomonas* California. *Plant Dis.* 66: 165-167.

- Calvet, R. 2003.** Le sol: propriétés et fonctions (Vol. 2). France Agricole Editions.
- Chaux et Foury, 1994.** Les productions légumières : Légumineuses potagères Légumes fruits. Edition Lavoisier, Paris. pp. 125-153.
- Chellemi, D.O., Da,kers, H. A., & Crosier, B. 1992.** First report of *fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Northwest florida and Georgia. Plant disease, 76(8).
- Cook, Rl.J., and Barker, K.F. 1984.** The nature and practice of biological control of plant pathogens, APS Press, St. Paul, MN, p. 539.
- Corbaz, R. 1990.** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Edition Presse polytechnique et universitaire romande. Lausanne. 286 p.
- Correll, J.C., Puhalla, J.E., Schneider, R.W. 1986.** Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. Phytopathology 76: 396-400.
- Daami- Remadi M. 2001.** Lutte biologique contre les Fusarium spp. agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Mémoire de Diplôme d'Études Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Tunisie :École supérieure d'Horticulture et d'Élevage de Chott Mariem, 72 p.
- Daami-Remadi M, El Mahjoub M. 2001.** Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. l'INRAT, **74**: 167–186.
- Dabin, B. 1981.** Les matières organiques dans les sols tropicaux normalement drainés. Vol. XVIII, nOS, 196.
- Davet, P. 1967.** Les maladies des solanacées maraîchères en Tunisie. Annales I.N.R.A 40 (3) : 1-13.
- Davet P. et Rouxel F., (1997).** Détection et isolement des champignons du sol. INRA, Paris. P. 13.
- Davis, R.M. 1988.** A third race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* identified in California. Plant Dis. 66: 165-167.
- De Cal, A., Pascual, S., Larena, I., & Melgarejo, P. 1995.** *Biological control of Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Plant pathology*, 44(5), 909-917.
- Di Pietro, A., Madrid, M.P., Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., Roncero, M.I.G., 2003.** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molec. Plant Pathol.* **4** :315 – 325.
- Di-Pietro A., Garcia- Maceira F. L., Huertas- Gonzalez D., ruiz- Roldan M.c., Carcuel Z., Barbieri A.S. and Roncero I.G., 1998.** Endopolygalacturonase PG1 in different formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Applied and environmental microbiology.*, **64** : 1967-1971.
- Duffy, B., Schouten, A., and Raaijmakers, J.M. 2003.** Pathogen selfdefense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology*, 41(1), 501-538.
- Edwards, S.G., and Seddon, B. 1992.** *Bacillus brevis* as a biocontrol agent against *Botrytis*

*cinerea* on protected chinese cabbage, p. 267-271, in: Recent advances in *Botrytis* research. K. Verhoeff, N. E. Malathrakis and B. Williamson, eds. Pudoc Scientific Publishers, Wageningen, The Netherlands.

**El Mahjoub M., Bouzaidi A., Jouhri A., Hamrouni A., El Beji, 1979.** Influence de la salinité des eaux d'irrigation sur la sensibilité du tournesol au *Macrophomina phaseoli* (Mauubl.) Ashby. Ann. Phytopathol. 11 : 61-67.

**El Mahjoub M., Le Picard, D., Czaninski, Y. 1984.** Couche protectrice et appareil de transfert dans les cellules de contact du xylème primaire du Melon (*Cucumis melo* L.). C. R. Acad. Sc. 299 : 809 - 812.

**El-Banna, A.A., Scott, P.M., Lau, P.Y., Sakuma, T., Platt, H.W. and Campbell, V., 1984.** Formation of trichothecenes by *Fusarium solani* var. *coeruleum* and *Fusarium sambucinum* in Potatoes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47: 1169-1171.

**Elocy, M. 1972.** Raças fisiológicas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Wr) Snyder et Hansen que ocorrem em Santa Maria, RS. Agr. Subgr. 13 (2): 207-211.

**FAO.2017.** Food and Agriculture Organisation.2017.

**Gabe, H.L., Kright, B.C. 1973.** The occurrence of a second race of the tomato Fusarium wilt in the greenhouse. *Brit. Insectic Fungic.* 3: 334.

**Gaumann, E. 1958.** The mechanisms of fusaric acid injury. *Phytopathology*, 48(12), 670-686.

**Gillespie, D. R., and J. G. Menzies. 1993.** Fungus gnats vector *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Ann. Appl. Bio.* 123: 539-544.

**Gindrat, D. 1975.** La fusariose vasculaire de la tomate de plein champ en Suisse. *Revue suisse de viticulture arboriculture horticulture* 7 (2) : 69-72.

**Gothoskar, S. S., Scheffer, R. P., Walker, J. C., & Stahmann, M. A. 1953.** The role of pectic enzymes in Fusarium wilt of tomato. *Phytopathology*, 43(9), 535-536.

**Granchinho, S. C. R., Franz, C. M., Polishchuk, E., Cullen, W. R., Reimer, K. J. 2002.**

Transformation of arsenic (V) by the fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* isolated from the alga *Fucus gardneri*. *Appl. Organomet. Chem.* 16: 721-726.

**Gravel, V. 2007.** Lutte contre *Pythium ultimum* chez la tomate de serre: une approche microbienne. 138 p. Thèse (Ph. D), Faculté des Sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Université Laval, Québec.

**Hamoir, J. Goret, M. Mignon, B. Gustin, P. 2001.** Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophytoses. *Ann. Med. Vet.* (145) : 226-232.

**Haware M.P., Nene Y.L. and Mathur S ; B., 1986.** Seed borne disease of chickpea. Technical Bulletin from the Danish government institute of seed Pathology for Developing countries, Copenhagen Denmark., 1 : 14.

**Henni, J.E. 1998.** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran.171 p.

- Henni, JE. Boisson, C. Geiger, JP. 1994.** Variabilité de la morphologie chez *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Thèse de Doctorat en science de la nature (Phytopathologie), Phytopath medit. 51-58.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., & El Mahjoub, M. 2007.** Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Tropicultura*, 25(3), 146.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., & El Mahjoub, M. 2005.** Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 9(3), 163-171.
- Hmouni, A., M.R. Hajlaoui and A. Mlaiki. 1996.** Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures de tomate en Tunisie. OEPP /EPPO Bulletin, 26: 697-705.
- Holtz, G., 1976.** Race two of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in the Republic of South Africa. *Phytophylactica* 8: 87-88.
- Howell CR. 2003.** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* **87**, p. 4–10.
- Hubbeling, N. Dimond, A.E. 1972.** Resistance to *Fusarium* and *Verticillium* wilt in tomato. Melled. Ryksfac . landwet.Cenl.190 p.
- Hussain, A., & Dimond, A. E. 1960.** Role of cellulolytic enzymes in pathogenesis by *Fusariumoxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 50.
- Ibrahim, I. A. M., Ragab, M. M., Sahab, A. F. and Mougny, N. S. M. 1996.** Biocontrol of tomato root and wilt. *Egyptian Journal of Phytopathology* 24(1-2): 45-56.
- Kempe, J., & Sequeira, L. 1983.** Biological control of bacterial wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant disease*, 67(5), 499-503.
- Kommedahl, T., Abbas, H.K., Burnes, P.M., Mirocha, C.J. 1988.** Prevalence and l'alimentation, Université Laval, Québec.
- Larkin, R. P., & Fravel, D. R. 1998.** Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium wilt* of tomato. *Plant disease*, 82(9), 1022-1028.
- Larkin, R. P., Hopkins, D. L., & Martin, F. N., 1993.** Ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* in soils suppressive and conducive to *Fusarium* wilt of watermelon. *Phytopathology*, 83(10), 1105-1116.
- Laterrot, H., Blancard, D., Couteaudier, Y. 1988.** Les fusarioses de la tomate. PHM -Rev. Hort. 288 : 29-32.
- Latterot, H., 1972.** Sélection de tomates résistantes à *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*. *Phytopath. Medit.* 11 : 154-158.
- Leslie JF, Summerell BA 2006.**The *Fusarium* laboratory manual. Edition Blackwell, Iowa. 388 p.
- Linderman, R. G., Moore, L. W., Baker, K. F., and Cooksey, D. A. 1983.** Strategies for detecting and characterising systems of biological control of soil-borne plant pathogens. *Plant Disease* 67:1058-1064.

- Mandeel, Q.A., Abbas, J.A., Saeed, A.M. 1995.** Survey of *Fusarium* species in an arid environment of Bahrain: II. Spectrum of species on five isolation media. *Sydowia* 47:223-239.
- MAOC. Ministère de l'Agriculture de l'Ontario- Canada. 2006.** Profil de la culture des tomates de serre au Canada.
- Marlatt, M.L., Correll, J.C., Kaufmann, P. 1996.** Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. *Plant Dis.* 80: 1336-1342.
- Marwa, H., Rania, A. B. A., Hayfa, J. K., & Mejda, D. R. 2014.** Pouvoir antifongique des *Penicillium* sp. et des *Gliocladium* spp. contre *Alternaria solani* in vitro et sur fruits de tomate. *Tunis. J. Med. Plants Nat. Prod.* 2014; 12: 9-28.
- McMullen, M. P., and R. W. Stack. 1984.** The effects of surface mining and reclamation on *Fusarium* populations of grassland soils. *Reclamation and Revegetation Research* 2: 253-266.
- MESSIAEN, E. M., 1981:** Les variétés résistantes. Méthode de lutte contre les maladies et ennemis des plantes. INRA, Paris, 374 pp.
- Naika S ., De Jeude JVL., De Goffau M., Hilmi M. et Van Dam B. 2005.** La culture de la tomate (production, transformation et commercialisation) cinquième édition. Edition : Wageningen. Pays-Bas. 105 p.
- Nelson, P. E.; Toussoun, T. A. et Marasas, W. F. O., 1983.** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. London, PA: *Pennsylvania State Univ. Press*, 193p.
- Nordlund, D.A. 1996.** Biological control, integrated pest management and conceptual models. North America and Japan. *Phytopathology* 70: 1143-1147.
- Odds F.C., Van Gerven F. Espinel. Ingroff A., Barlett M.S., Ghannoun M.A., Lancaster M.V., Pfaller M ;A., Rex J.H., Rinaldi M.G. and Walsh T.J., 1998.** Evolution of possible correlations between antifungal susceptibilities of filamentous fungi in vitro and antifungal treatment outcomes in animal infection models. *Antimicrobiology Agents chemother.* 42 :282-288.
- Pecault, P., Laterrot, H. 1966.** Perspective sur la sélection de variétés de tomate résistantes aux maladies. *Genetica Agaria* 20 : 110-120.
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M., and De Souza, J.T. 2002.** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1), 537- 547.
- Randall, C.R. 1980.** Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and rot of green house and field-grown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70: 1143-1147.
- Rapilly, F. 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Epiphyties* Volume 19. Edition INRA, Paris. pp. 25-39.
- Reis, A., Costa, H., Boiteux, L.S., Lopes, C.A. 2005.** First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 30:426-428.
- Ride, J. P., Drysdale, R. B. 1971.** A chemical method for estimating *Fusarium oxysporum* f: *lycopersici* in infected tomato plants. *Physiol. Plant Patkol.* 1 : 409-420.

- Rodier J. 2005.** L'analyse de l'eau naturelle, eaux résiduaires, eau de mer, 8ème Edition, Dunod, Paris, 1384 p.
- Rojas-Solís, D., Hernández-Pacheco, C. E., & Santoyo, G. 2016.** Evaluation of *Bacillus* and *Pseudomonas* to colonize the rhizosphere and their effect on growth promotion in tomato (*Physalis ixocarpa* Brot. ex Horm.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 22(1).000
- Sanglier, J.J., Vayssier, Y., Veau, P. 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Edition Masson, Paris. 512 p.
- Schippers, B. 1992.** Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborne pathogens. In *Biological Control of Plant Diseases*, edited by Tjamos, E. C., Papavizas, G. C. and Cook, R. J. p. 21-34. Plenum Press. New York.
- Schneider, R. W. 1982.** *Suppressive Soils and Plant Disease*. American Phytopathological Society.
- Selmaoui, K., & Douira, A. 2003.** Effet in vitro des sels de calcium sur le développement et la colonisation des pommes en conservation par un complexe fongique. *Al Awamia*, 109-110.
- St Paul, Minnesota. Cook, R. J., and Baker, K. F. 1983.** *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota.
- Stravato, V.M. 1999.** First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 on tomato in Italy. *Plant Disease* 83:967.
- Summerbell R. C et Schroers H. J., 2002.** Analysis of phylogenetic relationship of cylindrocarpon *Lichenicola* and *Acremonium falciforme* to the *Fusarium solani* species complex and a review of similarities in the spectrum of opportunistic infection caused by these fungi. *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 2866-2875.
- Tello J. C. and Lacasa A., 1990.** *Fusarium oxysporum* en los cultivos intensivos del litoral these fungi. *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 2866-2875.
- Tivoli, B. 1988.** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. *Agronomie*, 8(3), 211-222.
- Trivedi, P. Pand, A. 2008.** In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugata*. *Microbiological Research* (163) : 329-336.
- Tzeng, D. D., Wakeman, R. J., & DeVay, J. E. 1985.** Relationships among *Verticillium* wilt development, leaf water potential, phenology, and lint yield in cotton. *Physiological plant pathology*, 26(1), 73-81.
- Valenzuela-Ureta, J. G., Lawn, D. A., Heisey, R. F., Zamudio-Guzman, V. 1996.** First report of *Fusarium* wilt race 3, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, of tomato in Mexico. *Plant Dis.* 80:105.
- Volin, R. B., Jones, J. P. 1982.** A new race of *Fusarium* wilt of tomato in Florida and sources of resistance. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 95:268-270.
- Vos, C. M., Yang, Y., De Coninck, B., et Cammue, B. P. A. 2014.** Fungal (-like) biocontrol organisms in tomato disease control. *Biological control*, 74, 65-81.
- Walker, J.C. 1971.** *Fusarium Wilt of tomato*. The American Phytopathological Society. 56 p.

- Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., et Thomashow, L. S. 2002.** Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens 1. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 309-348.
- Westphal, A., and Becker, J. O. 2001.** Components of soil suppressiveness against *Heterodera schachtii*. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 9-16.
- Whipps, J.M., and Gerlagh, M. 1992.** Biology of *Coniothyrium minitans* and its potential for use in disease biocontrol. *Mycological Research* 96: 897-907.
- Williams, G.E., Asher, M.J.C. 1996.** Selection of rhizobacteria for the control of *Pythiummultimum* and *Aphanomyces cochlioides* on sugar-beet seedlings. *Crop Prot.*, 15, pp.479-486.
- Z., Barbieri A.S. and Roncero I.G., 1998.** Endopolygalacturonase PG1 in different formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Applied and environmental microbiology.*, 64 : 1967-1971.
- Zemmouri, F., Selmaoui, K., Benkirane, R., Touhami, A. O., & Douira, A. 2015.** Effet de différents sels de calcium in vitro et in vivo sur le développement des champignons de post-récolte du melon. *JourCnal of Applied Biosciences*, 93, 8748-8759.

# ANNEXE



## Annexes

### Annexe 01 :

#### Milieus utilisés

##### 1. Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

200 g de pommes de terre

15 g glucose

20 g Agar-Agar

1000 ml Eau distillée

##### 2. Milieu YPG (Yeast-extract-Peptone-Glucose-Agar)

5 g Extrait de levure

5 g Peptone

20 g Glucose

1000 ml Eau distillée

PH : 6.8

### Annexe 02

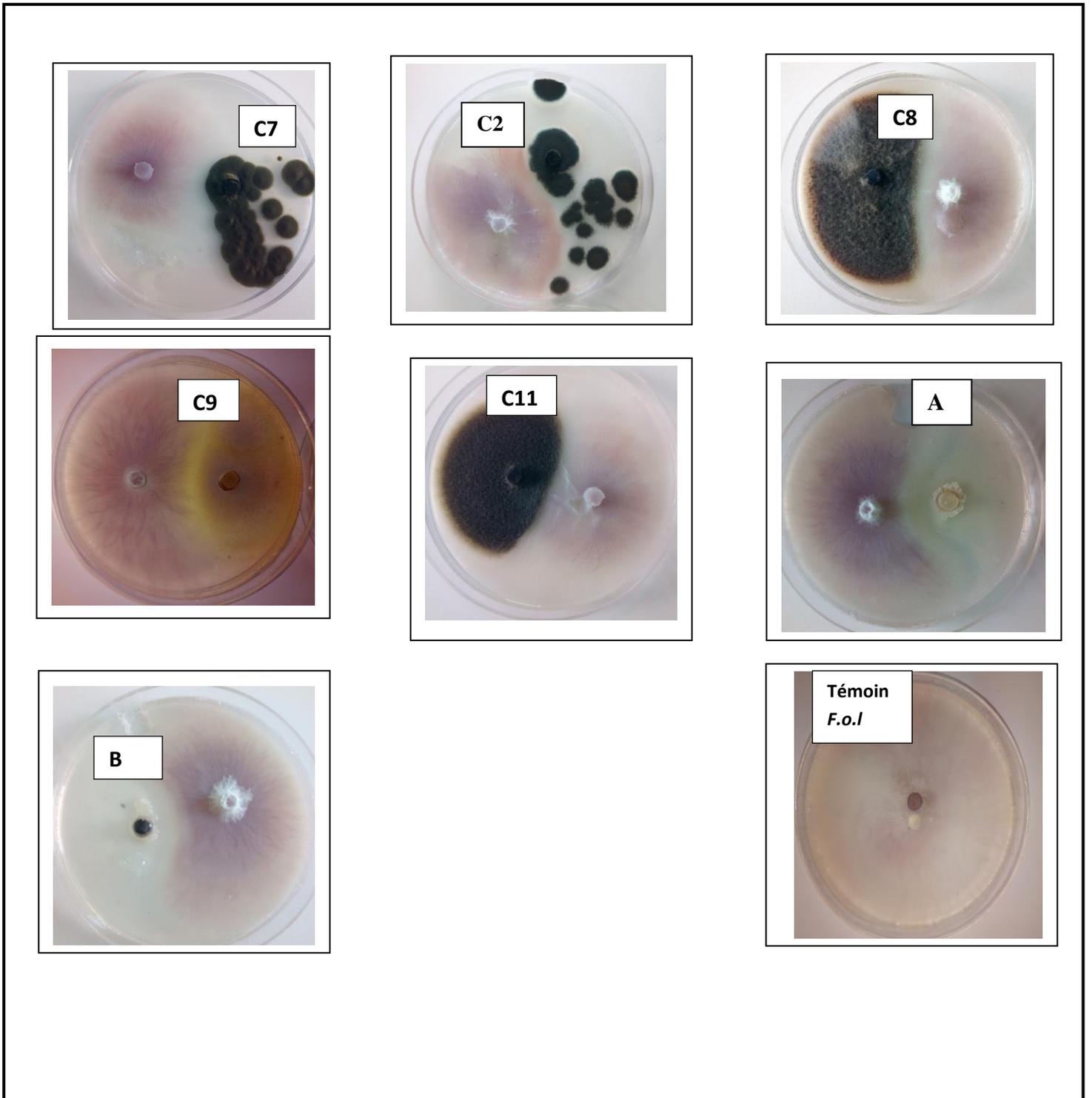
**Tableau :** Les moyens de la croissance mycélienne de *F.o.l* seul et en présence les antagonistes par la confrontation directe pendant 7 jours.

Souche jour	témoin	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>	C <sub>9</sub>	C <sub>10</sub>	C <sub>11</sub>	B	A
Jour 1	12	11	11,25	10	10	10,8	11	10	11,5	10	10,25	10,3	10,25	11
Jour 2	22,5	16,25	16,65	16	14	15,60	16,60	17	16	15,7	12,25	25	17	16
Jour 3	41,5	32	31	28,75	23,75	29	31	33	30	31	17	35	33,25	29,5
Jour 4	54	34,75	41,75	40,75	36,75	39	38	42,75	41	42	19	46	44	39,5
Jour 5	71,5	41,25	49	74,75	45	45,25	45	48,5	53	55,25	20,5	51	55	47
Jour 6	79,5	44	53	50,75	52,5	48,25	46	53	57	55,25	20,5	52	56,25	51,5
Jour 7	83	45	56	51	53,25	50,25	50	54	60	58,75	25,5	52,75	56,25	53,75

**Note :** Diamètre en mm

---

**Annexe 03 :**



**Figure :** Résultats de la confrontation directe après 7 jours.

## **Annexe 04**

**Tableau** : Analyse de la variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	97	109342,6775	1127,2441	36,6004	<b>&lt; 0,0001</b>
Erreur	273	8408,0500	30,7987		
Total corrigé	370	117750,7275			

**Tableau** : Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95% (Diamètre Témoin \_ isolats Antagonistes) :

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
témoin vs C10	39,8929	24,4080	3,3536	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C1	19,9643	12,2149	3,3127	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C6	19,0393	11,6490	3,2680	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C4	18,4107	11,2644	3,2187	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C5	17,9036	10,9541	3,1637	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C3	16,6036	10,1587	3,1017	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs Y	16,5607	10,1325	3,0309	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C7	15,1286	9,2563	2,9483	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C2	14,9857	9,1688	2,8497	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C9	13,7536	8,4150	2,7279	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C8	13,7071	8,3866	2,5691	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs S	13,4643	8,2380	2,3437	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui
témoin vs C11	12,9857	7,9452	1,9600	<b>&lt; 0,0001</b>	Oui

**Tableau** :Groupement par le test de Newman-Keuls

Modalité	Moyennes estimées	Groupes				
témoin	52,0000	A				
C11	39,0143		B			
S	38,5357		B	C		
C8	38,2929		B	C		
C9	38,2464		B	C		
C2	37,0143		B	C	D	
C7	36,8714		B	C	D	
Y	35,4393		B	C	D	E
C3	35,3964		B	C	D	E
C5	34,0964		B	C	D	E
C4	33,5893			C	D	E
C6	32,9607				D	E
C1	32,0357					E
C10	12,1071					F