

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences Agronomiques

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master Académique**

Filière : Sciences Agronomiques

Option : Phytopharmacie Appliquée

Thème

Contribution à l'étude de l'aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires et de *T. viride* à protéger les plantules de tomate variété (Super strain) contre *F. oxysporum* durant les premiers stades de leur développement

Membres de jury:

President: Dr Chahredine S.

Examinateur : Dr Rouibah M.

Encadreur : M^{me} Bouziane Z.

Présenté par:

- Boutebakh Fatima Zohra

Session: Juillet 2019

Numéro d'ordre :...

Travail réalisé dans le laboratoire de la faculté SNV –Université de Jijel



Remerciements

Tout d'abord je remercie le bon Dieu tout puissant de la bonne santé, la volonté et la patience qu'il a donné tout le long de la période de m'ons études.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances et gratitude à toutes les personnes qui ont apporté leur aimable contribution à ce travail par leurs remarques, leurs conseils, leurs encouragements et leurs compétences et en particulier :

***Mme Bouziane Z**, notre promotrice, non seulement pour l'aide très précieuse quelle m'apporté, mais aussi pour son enthousiasme communicatif, sa patience et sa totale disponibilité pour l'encadrement de ce travail.*

*Ainsi je remercie, **Dr Chahredine S** a l'Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel qui nous à fait honneur d'accepté de présider se travaille.*

*Ainsi je remercie, **Dr Rouibah M** a l'Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel qui nous à fait d'examiné notre travaille.*

*Un grand remerciement à **Mme Khen W** pour son aide et ses conseils.*

*Je remercie vivement **Mr Abad B** et **Boudocha S** et tous les personnels de l'exploitation de **l'EX DAS Abbas** pour l'aide qu'ils nous ont apportée.*

Nous tenons aussi à remercier :

*Tout le personnel de laboratoire de **Normalys** sans exception pour leur grand aide, soutien, patience et leur extrême gentillesse.*

J'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail, que ce soit de près ou de loin.



Dédicace

Je dédie l'apanage de cet écrit :

*Aux plus chères à mon cœur et lumière de mon âme, mes
parents, que je profite pour les remercier pour tout :*

Maman et papa,

*A mes très chères sœurs: **Saida, Ferouz, Samiha, Ahlam &
Khawla.***

*A mes frères **Abdellah & Amine.***

*A ma belle mère « **El-Zohra** » et mon beau père « **Saadi** ».*

A mes belles sœurs et mes beaux frères.

A ma chère promotrice.

*A tous mes amis et mes proches surtout **Hadjer et Somia.***



M^{lle} Boutebakh Fatima Zohra

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	La classification de tomate	4
2	La teneur de la tomate en éléments nutritifs « pour 100g »	5
3	La classification du <i>Fusarium oxysporum</i>	16
4	Les plus importantes formes spéciales de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
5	Quelques caractères de variété étudiée	45
6	Les symptômes de la fusariose	53

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Coupe longitudinale de la fleur de la tomate	6
2	Différents organes de la tomate	7
3	Cycle biologique de la tomate	9
4	L'espèce de <i>Fusarium</i> sous le microscope optique	17
5	Cycle biologique de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	19
6	Classification de CMA selon Schubler et al., (2001) modifiée par Walker et Schubler, 2004 ;Palenzuela et al.,(2008)	25
7	Ectomycorhize et endomycorhize	26
8	Germination d'une spore	28
9	Les différents signaux moléculaires synthétisés par les deux symbiotes durant 4 phases (1, 2, 3 et 4) de l'association	29
10	Actions des hyphes extra-radicalaires des champignons mycorhizogène sur l'apport en eau et nutriments à la plante	31
11	Observation microscopique des racines mycorhizées colorées au bleu trypan	31
12	Les cinq sections systématiques de <i>Trichoderma sp.</i> et quelques-unes des espèces y appartenant	38
13	Illustration des deux sections de <i>T. viride</i> parmi les cinq reconnus par Bissett (1991)	39
14	Modes d'actions de <i>Trichoderma</i>	41
15	Photomicrographies de <i>Trichoderma viride</i>	42
16	Mécanismes de mycoparasitisme exercés par les souches de <i>Trichoderma</i>	43
17	Préparation de l'inoculum de <i>Trichoderma viride</i>	46
18	Spores des CMA (A : <i>Glomus sp.</i> et B : <i>Acaulospora sp.</i>) sous microscope optique	46
19	La multiplication des CMA avec la plante de maïs (<i>Zea mays</i>)	47
20	Préparation de l'inoculum de <i>Fusarium oxysporum</i>	48
21	Les différentes étapes de préparation des graines (dès la désinfection jusqu'à la germination)	49

22	Témoin négatif sain	50
23	Témoin de CMA	51
24	Inoculation de <i>Trichoderma vivide</i>	51
25	Inoculation de <i>F. oxysporum</i>	52
26	Inoculation du poquet de traitement T6 par <i>T. viride</i>	52
27	Les étapes de ré-isolement de <i>Fusarium oxysporum</i>	55
28	Schéma de coloration des échantillons racinaires	56
29	Méthodes de tamisage et de filtration des spores de CMA	57
30	Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	59
31	Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	59
32	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection	60
33	Incidence de la maladie de fusariose	61
34	Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par <i>T. viride</i>	62
35	Amélioration des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt-deux (22) jours de traitement	63
36	Evaluation du poids frais et sec des deux parties végétatives des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement	63
37	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement	64
38	Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par les CMA	66
39	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement	67
40	Les résultats de ré-isolement du <i>F. oxysporum</i>	68
41	Aspect macroscopique et microscopique de <i>T. viride</i> après ré-isolement	69
42	Vérification de la présence des mycorhizes au niveau des racines	69
43	résultats de ré-isolement des spores des CMA	70

sommer

	page
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur la tomate	
I.1- Définition de la tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	3
I.2- L'origine de la tomate	3
I.3- Nomenclature	3
I.4- La classification variétale	4
I.4.1- Les variétés déterminées	4
I.4.2- Les variétés indéterminées	4
I.5- Classification botanique de la tomate	4
I.6- La composition biochimique de la tomate	4
I.7- Morphologie de la tomate	5
I.7.1- L'appareil végétatif	5
I.7.1.1- Racines	5
I.7.1.2- Tiges	5
I.7.1.3- Feuilles	6
I.7.2- L'appareil reproducteur	6
I.7.2.1- Fleurs	6
I.7.2.2- Fruits	6
I.7.2.3-Graines	7
I.8- le cycle biologique de la tomate	7
I.8.1- Germination	8
I.8.2- Croissance	8
I.8.3- Floraison	8

I.8.4- Fructification/maturation	8
I.9- Importance économique de la tomate	9
I.9.1- Dans le monde	9
I.9.2- En Algérie	9
I.10- Les maladies de la tomate	10
I.10.1- Les maladies cryptogamiques	10
I.10.1.1- Pourriture grise de la tomate	10
I.10.1.2- <i>Alternaria solani</i> (Alternariose)	10
I.10.1.3- Oïdium	11
I.10.1.4- Rhizoctone	11
I.10.1.5- Mildiou	11
I.10.1.6- Fusariose	12
I.10.2- Maladies virales	12
I.10.2.1- Virus de jaunissement et feuille en cuillère de la tomate (TYLC)	12
I.10.2.2- virus mosaïque de la tomate (ToMV)	12
I.10.2.3- Virus de la maladie bronzée de la tomate (TSWV)	12
I.10.3- Maladies bactériennes	13
I.10.3.1- La moucheture bactérienne	13
I.10.3.2- Le chancre bactérien	13
I.10.4- Les ravageurs	13
I.10.4.1- La mineuse	13
I.10.4.2- Les pucerons	14
Chapitre II : L'agent pathogène	
II.1- Définition du <i>Fusarium</i>	15
II.2- Taxonomie de <i>Fusarium</i>	15
II.3- Description morphologique	16
II.4- L'écologie de <i>F. oxysporium</i>	17
II.5- <i>Fusarium oxysporum</i> phytopathogènes	17
II.6- Le cycle de développement	18

II.7- Spécificité parasitaire	20
II.8- La fusariose causée par <i>F. oxysporum</i>	20
II.8.1- Fusariose des racines et du collet (pourriture des racines)	20
II.8.1.1- Cycle évolutif	21
II.8.2- Fusariose vasculaire	21
II.8.2.1- Symptômes	21
II.8.2.2- Cycle évolutif	22
II.9- Les méthodes de lutte contre <i>F. oxysporum</i>	22
II.9.1- La lutte chimique	22
II.9.2- La lutte culturale	22
II.9.3- La lutte biologique	23
Chapitre III : Les agents de biocontrol	
III.1- Les mycorhizes	24
III.1.1- Définition des mycorhizes	24
III.1.2- Classification classique	24
A) les Glominées	25
B) les Gigasporinées	25
III.1.3- Les différents types des mycorhizes	26
III.1.3.1- Les ectomycorhizes	26
III.1.3.2- Les endomycorhizes	26
III.1.3.3- Les ectendomycohizes	27
III.1.4- Ecologie des CMA	27
III.1.5- Les stades de contacts mycorhize-plante	27
III.1.5.1-Phase asymbiotique	27
III.1.5.2- Phase pré-symbiotique	28
III.1.5.2.1- Signaux émis par les végétaux	28
III.1.5.2.2- Signaux émis par les CMA	29
III.1.5.3- Phase symbiotique	29
III.1.6- Mécanismes d'action	30
III.1.6.1- Croissance et nutrition	30

III.1.6.2- Morphologie racinaire	31
III.1.6.3- Mécanismes de défense	32
III.1.6.3.1- Résistance aux stress abiotiques	32
III.1.6.3.2- Résistance aux stress biotiques	33
III.1.6.4- Interactions mycorhize – parasite	34
III.1.6.5- Microflore du sol	35
II.2- <i>Trichoderma</i>	36
III.2.1- Données sur le genre <i>Trichoderma</i>	36
III.2.2- Taxonomie de <i>Trichoderma</i>	36
III.2.3- Morphologie de <i>T. viride</i>	38
III.2.4- Emploi de <i>Trichoderma</i>	39
III.2.4.1- Les promesses de l'antagonisme dans le sol	39
III.2.4.2- L'antagonisme de <i>Trichoderma</i> hors du sol	39
III.2.4.3- Stimulation de la croissance de la plante	40
III.2.4.4- Induction de la résistance systémique	40
III.2.4.5- Effets de la colonisation des racines sur le métabolisme de la plante (effet bénéfique)	41
III.2.5- Mode d'action	42
III.2.6- Mycoparasitisme et enzymes lytiques	42
III.2.6.1- La Stimulation	42
III.2.6.2- La Reconnaissance et l'Enroulement	42
III.2.6.3- La pénétration et la lyse	43
III.2.7- Antibiose et métabolites secondaires	43
III.2.8- Compétition pour les nutriments et l'espace	44
Partie II : Matériels et méthodes	
1- Matériels biologiques utilisés	45
1.1- Matériel végétal	45
1.2- L'agent antagoniste	45
1.2.1- La préparation de l'inoculum de <i>Trichoderma viride</i>	45
1.3- Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)	46

1.3.1- La préparation de l'inoculum de CMA	46
1.4- L'agent pathogène	47
1.4.1- Multiplication du <i>F. oxysporum</i>	47
1.5- Mise en place de l'expérience	48
1.5.1- Désinfection et pré-germination des graines de tomate (Super strain)	48
1.5.2- La préparation du sol	49
1.5.3- Le dispositif expérimental de l'essai	50
1.6- Mode d'inoculation	50
1.6.1- L'inoculation des CMA	51
1.6.2- L'inoculation de <i>Trichoderma viride</i>	51
1.6.3- L'inoculation de <i>F. oxysporum</i>	51
1.6.4- Test de combinaison	52
1.6.5- Traitement	52
1.7- La collecte des données	52
1.7.1- Mesure des paramètres de croissance des plants de tomate (Super Strain)	53
1.7.2- La vérification de la présence de l'agent pathogène, de <i>Trichoderma</i> et des CMA	54
1.7.2.1- Le ré-isolement de <i>F. oxysporum</i>	54
1.7.2.2- Le ré-isolement de <i>Trichoderma viride</i>	55
1.7.2.3- La vérification de la présence des CMA	55
1.7.2.4- Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne	55
1.7.2.5- Les paramètres d'évaluation	56
1.7.2.6- Extraction des spores de CMA à partir du sol	57
Partie III : Résultats et discussion	
I- Développement de la maladie après quinze jours d'infection	58
I.1- Effets de <i>F. oxysporum</i> sur le développement des plantules de tomate (Super strain)	58
I.1.1- Effet sur la hauteur et poids des plants de tomate (Super strain) inoculés	58

I.1.2- Effet de <i>F. oxysporum</i> sur les pourcentages de la matière sèche et en eau	60
I.1.3- L'incidence de la maladie de <i>F.oxysporum</i>	60
II.1- Réduction de la maladie après traitement par <i>T. viride</i>	61
II.1.1- Effet de <i>T.viride</i> sur l'incidence de la maladie	61
II.1.2- Effets de <i>T.viride</i> sur les paramètres de croissance (longueur et le poids frais et sec) des plantules de tomate (Super strain)	62
II.1.3- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par <i>T. viride</i>	64
II.2- Effet des CMA sur le développement des plantules de tomate	64
II.2.1- Estimation des paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain) mycorhizés	64
II.2.2- Estimation des paramètres d'inoculation mycorhizienne des plantes de tomate	65
II.2.3- Effets des CMA sur l'incidence de la maladie	66
II.2.4- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par CMA	66
II.3- Les tests de vérification de la présence de l'agent pathogène, de <i>Trichoderma</i> et des CMA	67
II.3.1- Test de ré-isolement de <i>F. oxysporum</i>	67
II.3.2- Test de ré-isolement de <i>Trichoderma viride</i>	68
II.3.3- Vérification de la présence des CMA	69
II.3.4- Test de ré-isolement des spores des CMA	70
III- Discussion	71
Conclusion et perspectives	74
Références bibliographiques	76
Annexe	
Liste des annexes	

Liste des abréviations

ATP : Adénosine triphosphate.

°C : Degré Celsius.

CMA : Champignons mycorhizes arbusculaires.

E(%) : Pourcentage en eau.

F(%) : Fréquence de la mycorhization.

FOL : *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*.

FORL : *F. oxysporum* f. sp. *Radicis. Lycopersici*.

Ha : Hectare.

I(%) : Intensité globale de la mycorhization.

KOH : Hydroxyde de potassium.

Max : Maximum.

Min : Minimum.

MS(%) : Pourcentage en matière sèche.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

PCR : Poluymérase chain reaction ; amplification en chaîne par polymérase.

PDA : Potato Dextrose Agar.

PH : Potentiel hydrogène.

PPA : Pré-Pénétration apparatus.

Qx : Quinto.

SAU : Superficie agricole utile.

USA : États-Unis d'Amérique.

UI : Unité internationale.

Introduction

Introduction

La tomate (*Solanum lycopersicum*) fait partie de la grande famille des solanacées à côtés de la pomme de terre, de l'aubergine, du poivron et du piment. Considérée comme premier légume après la pomme de terre et deuxième ressource alimentaire mondiale après les céréales. Elle est adaptée à des conditions de culture très variés et destinée à la consommation en frais ou à la transformation industrielle (**Causse et al., 2000**). Elle est l'objet des nombreuses recherches scientifiques servant comme plante modèle en génétique. Elle a donné naissance à la première variété génétiquement transformée autorisée à la consommation commercialisée aux États-Unis dans les années 1990 (**Anonyme, 2010**).

Dès la levée et pratiquement jusqu'à récolte, la majorité des cultures maraîchères tel que, la tomate est confrontée à des nombreuses contraintes d'ordres biotique et abiotique. Parmi les contraintes biotiques, la pression des parasites constituent la contrainte majeure entraînant une réduction des rendements. Toutefois, la production de tomate sous serre reste toujours freinée par certaines maladies dont la fusariose des racines et du collet (*Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*) qui cause d'importantes pertes dans les cultures hors sols. Il est capable d'envahir l'ensemble vasculaire de la plante provoquant ainsi son obstruction et par la suite l'affaiblissement de la plante qui finit par mourir (**Ozbay et Newman, 2004**).

En Algérie, cette maladie rapportée pour la première fois par **Bouznad et al., (1990)**, est considérée parmi les maladies les plus importantes sur les légumineuses telles que le pois chiche où des prospections réalisées dans les différentes régions du pays, ont révélé la forte présence de cette maladie.

Par ailleurs, l'utilisation intensive et systématique des pesticides pose des problèmes environnementaux (pollution des nappes, présence des résidus dans les sols et les végétaux) et affectent aussi la santé humaine et animal. Le développement d'une agriculture durable exige l'usage des méthodes de protection des plantes alternatives respectueuses de l'homme et de l'environnement. La lutte biologique, basée sur l'utilisation des organismes naturels antagonistes des agents phytopathogènes, pourrait constituer une solution prometteuse.

Cette stratégie préventive consiste à stimuler les défenses naturelles des plantes par mycorhization et par l'utilisation des isolats du genre *Trichoderma*. Le *Trichoderma* et les CMA semblent réduire l'incidence ou la sévérité des effets causés par certains champignons phytopathogènes racinaires tels

que *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora* et *Pythium* (**Whipps, 2004; Kubicek et al., 2003**)

Ces dernières années la lutte biologique par l'utilisation d'agents antagonistes fongiques, bactériens, et d'autre part, l'application des mycorhizes sur les plantes renforcent le système de défense chez cette dernière. En outre, cette stratégie a été envisagée contre le *Fusarium oxysporum*. Par conséquent, la lutte biologique pourrait offrir des potentialités pour la suppression de la fusariose en plein champ, particulièrement lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec des cultivars partiellement résistants et un choix adéquat de la date de semis (**Landa et al., 2004**).

C'est dans cette optique que s'inscrit la présente étude dont l'objectif est d'identifier une méthode efficace de lutte biologique qui constitue une alternative suscitant plus d'espoir dans la lutte contre les pathogènes du sol. De façon spécifique, il s'agit d'évaluer: l'effet des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) sur *F. oxysporum*; l'effet de *Trichoderma* sur cet agent pathogène ; les effets combinés des CMA et de *Trichoderma viride* sur *F. oxysporum*. Ainsi, notre travail est composé de trois parties, la première partie porte sur l'étude bibliographique de la plante hôte (la tomate), l'agent pathogène *F. oxysporum* et les agents de biocontrol.

La deuxième partie représente la partie expérimentale qui comprend : matériels et méthodes, la troisième partie représente les résultats et discussions et enfin terminé par une conclusion et perspectives.

Partie I:
Synthèse bibliographique

Chapitre I: Généralités sur la tomate



I.1- Définition de la tomate (*Solanum lycopersicum*)

La tomate est une plante herbacée de la famille des solanacées, cultivée pour son fruit. Le terme désigne à la fois la plante et le fruit charnu qui, bien qu'il soit biologiquement un fruit, est considéré comme un des légumes les plus importants dans l'alimentation humaine (**Nguyen et Schwartz, 1998**). La tomate est un aliment diététique riche en eau et pauvre en calories. Le fruit renferme aussi beaucoup d'éléments minéraux et des vitamines, dont la plus importante en quantité est la vitamine C (**Nguyen et Schwartz, 1998**).

I.2- L'origine de la tomate

La tomate est originaire d'Amérique du Sud et c'est au Mexique qu'elle a été cultivée en premier, puis a été introduite par les Espagnols au 16^{ème} siècle en Espagne et en Italie. A partir de la fin du 18^{ème} siècle, la tomate a été considérée comme un légume (avant c'était une plante ornementale), et quelques milliers des variétés ont été créées dans le passé. De nos jours, nous ne pouvons trouver couramment que quelques dizaines des variétés chez les semenciers, et une dizaine des variétés sous forme de plantons. Lors de l'achat des graines, les informations sur la maturité du légume, sur la résistance aux maladies ou la culture en pleine terre ou sous serre sont généralement indiquées sur l'emballage. Bien souvent, ces informations utiles font défaut lors de l'achat de plantons.

La tomate (*Solanum lycopersicum*) appartient à la famille des Solanaceae, à laquelle appartiennent également le piment, le poivron, l'aubergine et la pomme de terre (**Pitrat et Foury, 2004**).

I.3- Nomenclature

En 1753, le botaniste **Suédois Linnaeus** l'a nommée *Solanum lycopersicum*, mais 15 ans plus tard Philippe Miller a remplacé le nom donné par Linnaeus, par *Lycopersicon esculentum*. Bien les taxonomistes aient récemment réintroduits son nom original *Solanum lycopersicum* (**Heiser et Anderson, 1999**).

Le nom du genre *Lycopersicon* est un composite gréco- latin, il signifie «pêche de loup». Le nom *esculentum* vient du latin, il signifie «comestible». Cette comestible ne concerne ni le feuillage, ni les jeunes fruits verts, qui contiennent des alcaloïdes toxiques (tomatine et solanine). Ces alcaloïdes disparaissent des fruits au cours de leur développement (**Pitrat et Foury, 2004**).

I.4- La classification variétale

I.4.1- Les variétés déterminées

Dans ce groupe, on trouve des variétés dont la tige émet un nombre donné de bouquets à fleurs. Mais cette tige principale est terminée par un bouquet à fleurs, comme d'ailleurs les rameaux anticipés, il en résulte que faute de bourgeon terminal la croissance de la tige s'arrête d'elle-même. Elles sont utilisées généralement lors de la culture en plein champs (**Laumonnier, 1979**).

I.4.2- Les variétés indéterminées

Ces variétés présentent une tige principale poussant avec régularité et formant un bouquet à fleurs toutes les trois feuilles généralement. Il en résulte que la production des fruits est prolongée. On peut l'arrêter par un pincement du bourgeon terminal à la hauteur souhaitée. Ce groupe se caractérise par un rendement important qui s'étale sur une longue période (**Laumonnier, 1979**).

I.5- Classification botanique de la tomate

Cronquist (1981), Gausson et al. (1982), rappellent que la tomate appartient à la classification suivante (tableau 1) :

Tableau 1 : La classification de tomate (**Cronquist, 1981; Gausson et al., 1982**)

Règne	Plantae
Sous règne	Trachenobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Solanum ou Lycopersicum</i>

I.6- La composition biochimique de la tomate

La tomate est le fruit le plus cultivé et le plus consommé parmi les plantes horticoles dans le monde. Pour sa richesse dans la composition de ces fruits, elle consiste la principale source de nourriture dans plusieurs pays (Tableau 2) (**Anonyme, 1999**).

Tableau 2 : La teneur de la tomate en éléments nutritifs « pour 100g » (**Anonyme, 1999**)

Eléments	Teneur
Vitamine A	600 U.I
Vitamine C	601 mg
Vitamine B ₁	0.06 mg
Vitamine B ₂	0.04 mg
Niacine	0.5 mg
Calcium	7 mg
Sodium	8 mg
Fer	0.6 mg
Potassium	207 mg
Glucides	4 mg
Protéines	1 mg
Eau	94 mg

I.7- Morphologie de la tomate

I.7.1- L'appareil végétatif

I.7.1.1- Racines

Forte racines pivotantes qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité des racines latérales et adventices (**Naika et al., 2005**).

I.7.1.2- Tiges

Elles sont vertes, épaisses aux entre-nœuds. Elles disposent de deux types des poils blanchâtres : des poils simples et des poils glanduleux qui contiennent une huile essentielle, qui donne l'odeur de la tomate et la coloration verte. Elles portent les feuilles, les fleurs et les fruits. Une tige peut porter des nombreuses ramifications (appelées axillaires) et a une croissance indéterminée ou déterminée selon les variétés (**Kolev, 1976**).

I.7.1.3- Feuilles

Les feuilles sont composées de (5 à 10) folioles principales. Elles ont une disposition alternée sur la tige, longues de (10 à 25) cm et d'un certain nombre de petites folioles intercalaires ovales, un peu dentées sur les bords. Elles sont souvent repliées en forme de cuillères ou même à bords roulés en dessus (**Judd et al., 2002**).

I.7.2- L'appareil reproducteur

I.7.2.1- Fleurs

Les fleurs de la tomate sont des organes bisexués. Elles sont hermaphrodites et auto fécondes et regroupées sur le même pédoncule en bouquet lâche en inflorescence formant des grappes plus ou moins bifurquées de (3 à 8) fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides. Le tube du calice est court et velu, comporte 5 sépales, il est persistant après la fécondation et subsiste au sommet du fruit. Androcée comporte 5 étamines latérales, les anthères allongées forment un cône resserré autour du pistil ; celui-ci est constitué de deux carpelles soudés formant un ovaire super biloculaire à 2 loges et à placenta central (**Judd et al., 2002**) (figure 1).

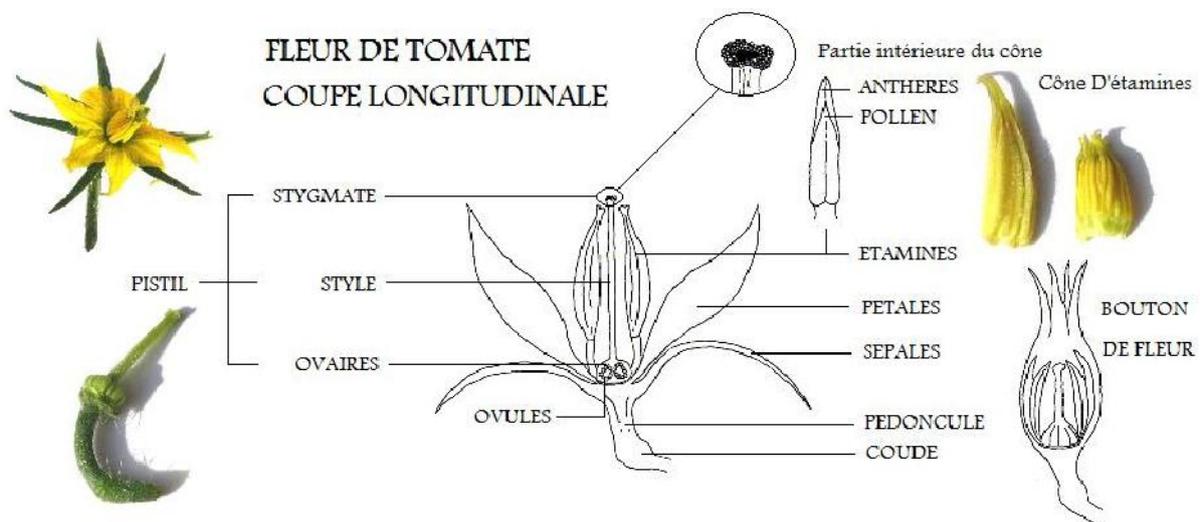


Figure 1 : Coupe longitudinale de la fleur de la tomate (**Rac, 2010**)

I.7.2.2- Fruits

Le fruit est une baie plus ou moins grosse, avec épiderme lisse brillant de forme variable (sphérique, oblongue, allongée), et des couleurs variées (blanche, rose, rouge, jaune, orange, verte, noire) selon les variétés. La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges. Le placenta

constitue la partie centrale du fruit et est à l'origine des tissus parenchymateux. Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendants des variétés (**Shankara et al., 2005**).

I.7.2.3-Graines

Les graines sont nombreuses, réparties dans des loges remplies de gel en forme de rein ou de poire, poilues, beiges, de (3 à 5) mm de long et de (2 à 4) mm de large. Elles sont recouvertes d'un mucilage, L'embryon est enroulé dans l'albumen. Le poids de mille graines est en moyenne de 3 g. Le cycle de la graine, est variable selon les variétés et les conditions de culture, il est en moyenne de (3.5 à 4) mois (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) (**Naika et al., 2005**) (figure 2).

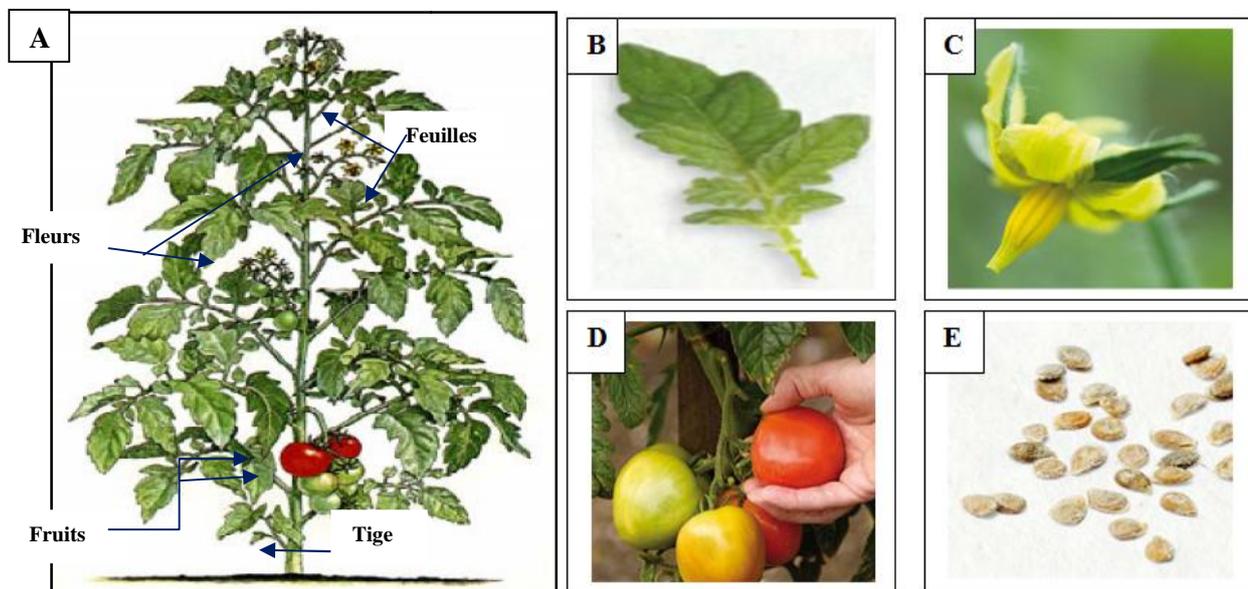


Figure 2: Différents organes de la tomate

A : la plante entier **B:** les feuilles **C :** la fleur **D:** les fruits **E :** les graines (**Shankara et al., 2005**)

I.8- le cycle biologique de la tomate

Un cycle végétatif complet de la tomate est comprend 4 phases principales il est différent d'une variété à l'autre et selon les conditions de culture, il s'étendu en général en moyenne de 3.5 à 4.5 mois (**Claude et Yves, 1999**), ces phases sont les suivantes (figure 3) :

I.8.1- Germination

La graine de tomate peut, si les conditions sont favorables. Germer immédiatement après sa dissémination et ne nécessite pas d'étape de vernalisation (culture de tomate). La germination est épigée dans de bonnes conditions (25 °C), le stade de cotylédons étalés est atteint en une douzaine des jours (**Dégrément, 2009**).

I.8.2- Croissance

La croissance est sympodiale, chaque sympode étant constitué de 3 feuilles et d'une inflorescence. Elle se poursuit ainsi de façon indéfinie, la croissance est dite indéterminée. Des ramifications, elles aussi à croissance indéterminée, partent de l'aisselle de feuille, mais on les supprime en culture.

Ainsi la tomate, plante herbacée cultivée comme plante annuelle, serait en fait une plante pérenne si elle n'était pas sensible au gel (**Claude et Yves, 1999**).

I.8.3- Floraison

La croissance continue. Deux et demi mois environ le semis, la première inflorescence apparaît. Les autres inflorescences vont apparaître au-dessus de la première, avec entre chaque inflorescence, un nombre variable des feuilles : d'une à quatre. La floraison s'échelonne donc de base en haut. La floraison dure 1 mois à 1 mois et demi, c'est-à-dire de deux mois et demi à trois et demi- quatre mois après le semis (**Dégrément, 2009**).

I.8.4- Fructification/maturation

Elle débute durant la phase de floraison. Elle commence par la nouaison des fruits de l'inflorescence de base et se poursuit par les inflorescences supérieures au fur et à mesure de l'apparition des inflorescences et de la fécondation des fleurs.

Les fleurs se développent, grossissent et après avoir atteint leur taille définitive, ils commencent par perdre leur coloration verte au profit du jaune puis au rouge de plus en plus accentué. Cette phase dure environ deux mois, soit de quatre à six mois après le semis.

La durée du cycle végétatif complet de la tomate est de 4 à 5 mois environ pour les semis direct en pleine terre et de 5 à 6 mois pour les plants repiqués. En contre saison, le cycle végétatif s'allonge et il peut atteindre 7 mois (**Viron, 2010**) (figure 3).

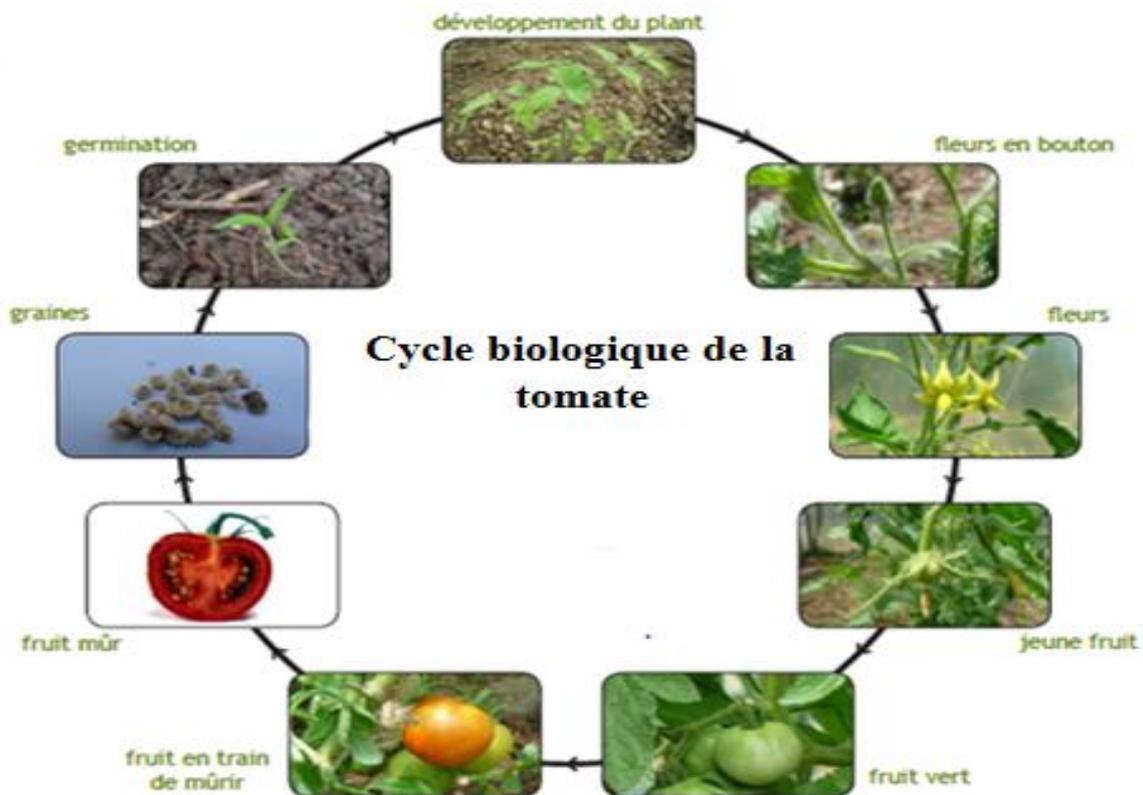


Figure 3 : Cycle biologique de la tomate (**viron, 2010**)

I.9- Importance économique de la tomate

I.9.1- Dans le monde

La tomate est l'une des principales productions légumières dans le monde, et particulièrement dans les pays tropicaux et les pays du bassin méditerranéen, elle est cultivée dans plus de 130 pays sur une surface avoisinante 2,5 millions Ha (**Blancard, 2009**).

I.9.2- En Algérie

La culture de la tomate en Algérie se place en seconde position après la pomme de terre. Il est occupé une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne.

Près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (**Madr, 2009**).

La tomate est principalement cultivée dans les régions Est : Annaba, El Taref, Guelma, Skikda, avec une superficie agricole utile (SAU) de plus de 60 % (**Snoussi, 2010**).

I.10- Les maladies de la tomate

Différentes maladies rencontrées sur la tomate de la levée et pratiquement jusqu'à leur récolte, les cultures de tomate sont sujettes à des maladies ayant pour cause divers agents pathogènes, nématodes, virus, bactéries, champignons et insectes.

I.10.1- Les maladies cryptogamiques

I.10.1.1- Pourriture grise de la tomate

Est considérée parmi les maladies les plus redoutables en culture sous serre, elle est causée par *Botrytis cinerea*, ce champignon peut attaquer toutes les parties de la plante principalement les feuilles, la tige et le fruit. La maladie se manifeste sous forme de taches beiges en anneaux concentriques par fois en forme de flamme en plus des chancres de couleurs gris beige légèrement déprimés avec un duvet grisâtre constitué des fructifications conidiennes du champignon. Sur fruit, on observe une pourriture molle avec affaiblissement des tissus qui débute généralement au niveau des sépales ou pétales desséchés. On peut aussi observer des anneaux blanchâtres appelés taches fantômes.

Une humidité relative de 90% et une température (17 à 23) °C sont les facteurs qui favorisent cette maladie. *Botrytis* est un champignon de faiblesse, alors lors de l'effeuillage, ébourgeonnement. Il y a une propagation importante de l'infection (**El akel et al., 2001**).

I.10.1.2- *Alternaria solani* (Alternariose)

Cette maladie est induite par *Alternaria solani* provoquant des taches foliaires nécrotiques, de contour arrondi ou irrégulier, d'une dimension de l'ordre d'un centimètre, présentant une zonation plus ou moins régulière, souvent entourées d'un halo jaune. En plus de taches foliaires, l'alternariose peut aussi provoquer des graves lésions sur les tiges, Sur les fruits, il induit l'apparition des taches concentriques déprimées à la base du pédoncule.

Le développement de cette maladie est favorisé par l'humidité élevée et des températures entre (18 et 25) °C. Les plantes mal fertilisées ou très chargées en fruits seraient plus sensibles. L'alternariose est transmissible par les semences (**Strandberg, 1992**).

I.10.1.3- Oïdium

Le champignon *Leveillula taurica* est responsable des taches jaunes sur le dessus des feuilles, des spores blanches et poudreuses se développent sur ces taches, tant sur le dessus que le dessous des feuilles. En cas d'infection grave, on constate une sénescence des feuilles et des baisses de rendement. L'agent pathogène n'infecte ni les fruits, ni les tiges le développement de la maladie est favorisé par une humidité relative comprise entre (50 et 70)% et une température entre (20 et 25) °C (**El akel et al, 2001**).

I.10.1.4- Rhizoctone

Est une maladie causée par *Rhizoctonia solani* qu'est un champignon tellurique responsable de fonte des semis, il peut entraîner des lésions brun rougeâtre sur toutes les parties de la graine germée. Il produit aussi des chancres situés au collet.

Il est particulièrement présent dans les sols maraichères ayant porté à plusieurs reprises des cultures légumineuse. Il semble pouvoir se développer aussi bien dans les sols humides et lourds que les sols plus légers et plus secs à des températures comprises entre (15 et 26) °C (**Blancard, 1988**).

I.10.1.5- Mildiou

Le mildiou, causé par *Phytophthora infestans*, est l'une des maladies les plus dévastatrices trouvées dans la culture de tomate à travers le monde.

Le pathogène *Phytophthora infestans* forme sur feuille de larges taches, d'abord jaunâtres puis brunes, si les conditions sont favorables le pourtour reste claire à la face supérieure et couvert d'un duvet blanchâtre à la face inférieure. Et sur fruit on observe des taches brunes marbrées.

Le cycle de vie de l'agent pathogène, peut être complété en 3-4 jours, l'accumulation rapide de l'inoculum se produit généralement dans les champs ou sous abris pendant la saison favorable, soit température moyenne entre (20 et 22) °C et une humidité relativement élevée, par contre une atmosphère sèche et des températures proches de 30°C détruisent le pathogène (**Céspedes et al., 2013**).

I.10.1.6- Fusariose

Selon **Blancard (2009)**, la fusariose causée par le champignon tellurique *Fusarium oxysporum f. sp.* est parmi les maladies les plus dévastatrices de tomate.

Les symptômes extérieures de cette maladie apparaissent d'abord comme un jaunissement des feuilles du bas, souvent d'un seul côté de la plante. Celle-ci se fane et meurt lentement. Le tissu ligneux des plantes malades est coloré en brun rougeâtre, en stries longitudinales.

A l'extérieur des tiges, on observe l'apparition des racines adventives avortées. La fusariose est favorisée par les températures élevées (optimum 28 °C). La fusariose est transmissible par les semences.

I.10.2- Maladies virales

I.10.2.1- Virus de jaunissement et feuille en cuillère de la tomate (TYLC)

Le virus qui est transmis par *Bemisia tabaci* (la mouche blanche) dans les pépinières cause un arrêt de croissance, une chlorose marginale et un recroquevillèrent en cuillère des feuilles. La production est fortement réduite lorsque les symptômes apparaissent avant la floraison. La mouche blanche est surtout présente de septembre à décembre (**Trottin-Caudal, 2011**).

I.10.2.2- Virus mosaïque de la tomate (ToMV)

Le symptôme dépendra de la variété, l'âge de la plante au moment de l'infestation, et l'état de l'environnement. Le virus provoque : marbrures et rugosité des feuilles, nanisme. Des rendements réduits et roussissement des fruits. La transmission se fait par des pucerons (**Trottin-Caudal, 2011**).

I.10.2.3- Virus de la maladie bronzée de la tomate (TSWV)

Les symptômes du TSWV sont très variés. Sur les feuilles, on peut observer un symptôme de mosaïque vert clair à vert foncé, des taches chlorotiques à nécrotiques, parfois en anneaux, apparaissant sur les faces supérieures puis inférieures, des plages rouge brun, plus nombreuses et confluentes à la base des folioles, qui deviennent légèrement enroulées (**Trottin-Caudal, 2011**).

I.10.3- Maladies bactériennes

I.10.3.1- La moucheture bactérienne

Est causée par la bactérie *Pseudomonas syringae* elle s'installe sur les feuilles, la maladie se manifeste sous forme de minuscules taches noires, entourées d'un halo jaune constituant le symptôme le plus caractéristique.

Sur fruit, Apparaissent des petites lésions superficielles brunes circulaires pouvant entraîner sa déformation est causé par la bactérie *Xanthomonas campestris*, qui provoque des gales bactériennes, se manifeste sous forme de taches sur toutes les parties aériennes de la plante. Ces taches sont souvent plus grosses que celles de la moucheture sur fruit, de petites pustules brunâtres d'aspect liégeux, sont observées. Au grossissement du fruit, ces gales s'entourent d'un halo huileux (Blancard, 1988).

I.10.3.2- Le chancre bactérien

Est causé par la bactérie *Clavibacter michiganensis*. La maladie se manifeste souvent par un flétrissement, souvent unilatéral, qui débute par les feuilles de la base. Les folioles s'incurvent sur les bords avant de flétrir. Des stries noires apparaissent souvent sur les pétioles et sur les tiges.

Sur tige, une coupe longitudinale permet de montre un fil blanchâtre, jaunâtre ou brunâtre au niveau des tissus vasculaires. La décoloration de la moelle et son détachement des tissus vasculaires (Blancard, 1988).

I.10.4- Les ravageurs

I.10.4.1- La mineuse

Les larves de *Tuta absoluta* creusent des mines dans les feuilles au point d'avoir les deux épidermes de la face supérieure et inférieure transparents. Sur fruit, des galeries peuvent être observées sur les sépales et au niveau de la tige, on observation des perforations et dessèchements sur la partie haute de la plante. Le seuil de développement de *Tuta absoluta* est de (7 à 9) °C selon les stades du ravageur.

Toutefois, à 4 °C, ces larves se maintiennent en conditions de laboratoire. Des températures constantes de 35 °C entraînent un arrêt de son développement. Par contre il serait maintenu dès qu'il y a alternance des températures de 25°C à 35°C (Trottin- Caudal, 2011).

I.10.4.2- Les pucerons

Leurs piqûres provoquent crispation ou l'enroulement des feuilles. Ils sont localisés sous les feuilles. Les pucerons secrètent un miellat sur lequel se développe la fumagine.

Dans les conditions de l'abri, les pucerons se multiplient très rapidement : à 20 °C le temps moyen de doublement de la population est de 2,4 à 5,1 jours. La durée de développement est très influencée par la température, à 20 °C elle est d'environ 8.9 jours (**Trottin- Caudal, 2011**).

Chapitre II: L'agent pathogène



II.1- Définition du *Fusarium*

Le genre *Fusarium*, décrit pour la première fois par **Linke** en **1809**, appartient à la famille des Tuberculariacées, dans le groupe des Hyphomycètes (champignons filamenteux). L'absence de reproduction sexuée permet de rattacher ces champignons aux Deutéromycètes (champignons imparfaits), regroupement artificiel de formes asexuées (ou anamorphes) variées, certaines espèces de *Fusarium* ont une forme sexuée, dite également forme parfaite ou téléomorphe, appartenant aux genres *Nectria* ou *Gibberella* dans l'ordre des Hypocréales, au des Ascomycètes. Comme pour tous les champignons, la classification originelle des *Fusarium* est basée sur des critères cultureux et surtout morphologiques établis par des observations microscopiques. Le caractère commun aux *Fusarium* est la production de macroconidies pluricellulaires en forme de croissant. Leur rattachement aux Tuberculariacées est lié à la formation des macroconidies sur des fructifications différenciées appelées sporodochies. D'autres types des spores asexuées peuvent être produits: des microconidies unicellulaires ou bicellulaires des formes variées, ainsi que des chlamydo-spore, spores de résistance. Les critères morphologiques utilisés pour la classification des *Fusarium* sont la forme et la taille des macroconidies, la présence ou absence des microconidies et des chlamydo-spores ainsi que leur forme, et la structure des conidiophores (**Gams et Nirenberg, 1989**).

II.2- Taxonomie de *Fusarium*

La multitude de systèmes taxonomiques proposés n'a pas contribué à simplifier l'identification de *Fusarium*. Cependant (**Nelson et al., 1983**) ont réalisé un travail de synthèse basé sur des nouvelles descriptions morphologiques ainsi que la sélection de critères communs aux classifications antérieures. Ces auteurs ont reconnu 30 espèces.

Depuis quelques années, les systématiciens ont en effet recours à de nouvelles méthodes, essentiellement moléculaires. Ces méthodes permettent non pas de remplacer, mais de compléter les études systématique classique reposant sur des critères morphologiques basée sur une approche phylogénétique, la systématique moléculaire présente l'avantage de rendre compte de l'évolution des organismes, ce qui facilite l'établissement des relations entre espèces et donc leur positionnement taxonomique (tableau 3) (**Mycobank, 2014**).

Tableau 3 : La classification du *Fusarium oxysporum* (Mycobank, 2014)

Classe	Sordariomycetes
Sous classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	<i>Fusarium</i>
Espèce	<i>Fusarium oxysporum</i>

II.3- Description morphologique

Au niveau macroscopique, l'aspect cultural de *Fusarium oxysporum* sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) correspond à un mycélium aérien de croissance rapide, et de couleur variable allant du blanc au rose ou violet. Cependant, l'aspect des souches de *F. oxysporum* peut fréquemment varier d'une culture à l'autre après des repiquages successifs, voire dans une même culture où des sections de couleurs ou d'aspects différents peuvent apparaître (Burnett, 1984).

Au niveau microscopique, *F. oxysporum* se caractérise par: microconidies abondantes généralement monocellulaires, ovales ou réniformes, produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides courts.

Macroconidies fusiformes, également abondantes, comportent quatre à six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied.

Les chlamydospores sont présentes, solitaires ou en paires, lisses ou rugueuses, globuleuses terminales ou intercalaires de 5 à 15 µm de diamètre, ce sont des organes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région conidie qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée. Les organes massifs producteurs de spores; sont deux types. La sporodochie, est un organe fructifère forme d'axes ramifiés porteurs à leur extrémité les monophialides donnant naissance aux macroconidies. Les sporodochies peuvent être dispersées dans le mycélium aérien et invisible à l'œil nu dans les cultures. Lorsque les sporodochies sont rassemblées, elles apparaissent sous forme de pustules des quelques millimètres de diamètre visible à l'œil nu (Summerel et al., 1992) (figure4).

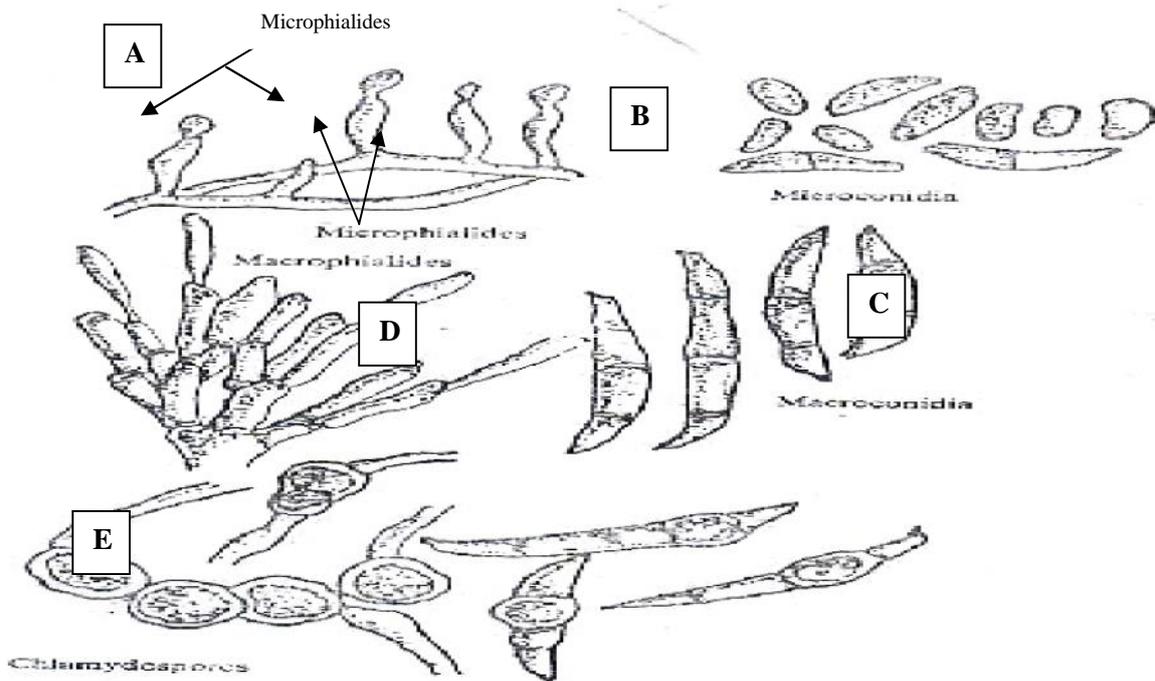


Figure 4 : L'espèce de *Fusarium* sous le microscope optique (Summerel et al., 1992)

A : Microphialides B : Microconidia C : Macroconidia D : Macrophialides E : chlamydospores

II.4- L'écologie de *F. oxysporum*

Chez les végétaux, *F. oxysporum* est un parasite tellurique qui commence son cycle de développement en infectant les racines et en envahissant les tissus conducteurs induisant une infection systémique. Le champignon migre dans les vaisseaux via les flux ascendants. Dans un hôte résistant, cette progression est stoppée dans les cribles au niveau desquels on observe des tyloses obstruants.

II.5- *Fusarium oxysporum* phytopathogènes

Fusarium oxysporum est une espèce fréquente parmi les *Fusarium* du sol, elle peut représenter jusqu'à 70% des isollements de *Fusarium* est couramment dénombrée à 10^3 propagules/g de sol (Ocamb et Juzwik, 1995) (tableau 4). C'est une espèce essentiellement saprophyte, mais elle a pourtant un rôle de premier plan en pathologie végétale. Il infecte les cultures maraîchères sous serres (tomate, melon, concombre), les palmeraies et bananeraies, et les cultures de coton. Certaines souches pathogènes provoquent des symptômes de pourriture racinaire. Mais la plupart des *F. oxysporum* pathogènes sont responsables de trachéomycose, maladie qui affecte le système vasculaire des plantes. On parle alors de fusariose vasculaire. Le mycélium colonise les tissus corticaux puis pénètre dans le cylindre central des racines, avant d'envahir l'ensemble des vaisseaux. L'infection entraîne un jaunissement des feuilles d'abord unilatéral puis généralisé, et

aboutit au flétrissement, au dessèchement, et enfin à la mort de la plante (**Ocamb et Juzwik, 1995**).

Tableau 4 : Les plus importantes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (**Massiaen et Cassini, 1981**)

Champignon	Hôte
<i>Fusarium oxysporum f.sp. betae</i>	Betterave
<i>Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum</i>	Concombre
<i>Fusarium oxysporum f.sp. fabae</i>	Fève
<i>Fusarium oxysporum f.sp. phasioli</i>	Haricot
<i>Fusarium oxysporum f.sp. lentis</i>	Lentille
<i>Fusarium oxysporum f.sp. melonis</i>	Melon
<i>Fusarium oxysporum f.sp. albedinis</i>	Palmier dattier
<i>Fusarium oxysporum f.sp. niveum</i>	Pastèque
<i>Fusarium oxysporum f.sp. batatas</i>	Patate douce
<i>Fusarium oxysporum f.sp. pisi</i>	Pois
<i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i>	Tomate

II.6- Le cycle de développement

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en l'absence de la plante-hôte, ils mènent une vie saprophyte sur des débris végétaux et les matières organiques. Les *Fusarium* sont très abondants dans le sol, les isollements effectués indiquent qu'un gramme du sol renferme près de 10^3 propagules (**Smith et al., 1965**), et les *F. oxysporum* représentent (40-70)% de la population fusarienne totale. Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme des spores des résistances qu'on appelle des chlamydospores ou ils passent dans un état de dormance.

En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines. Après pénétration dans une cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisant ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent intra cellulièrement 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 microconidies aisément véhiculées par la sève à l'extérieur, ils se

formant des organes fructifères à la surface des feuilles appelées sporodochies et développement des macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes (figure 5).

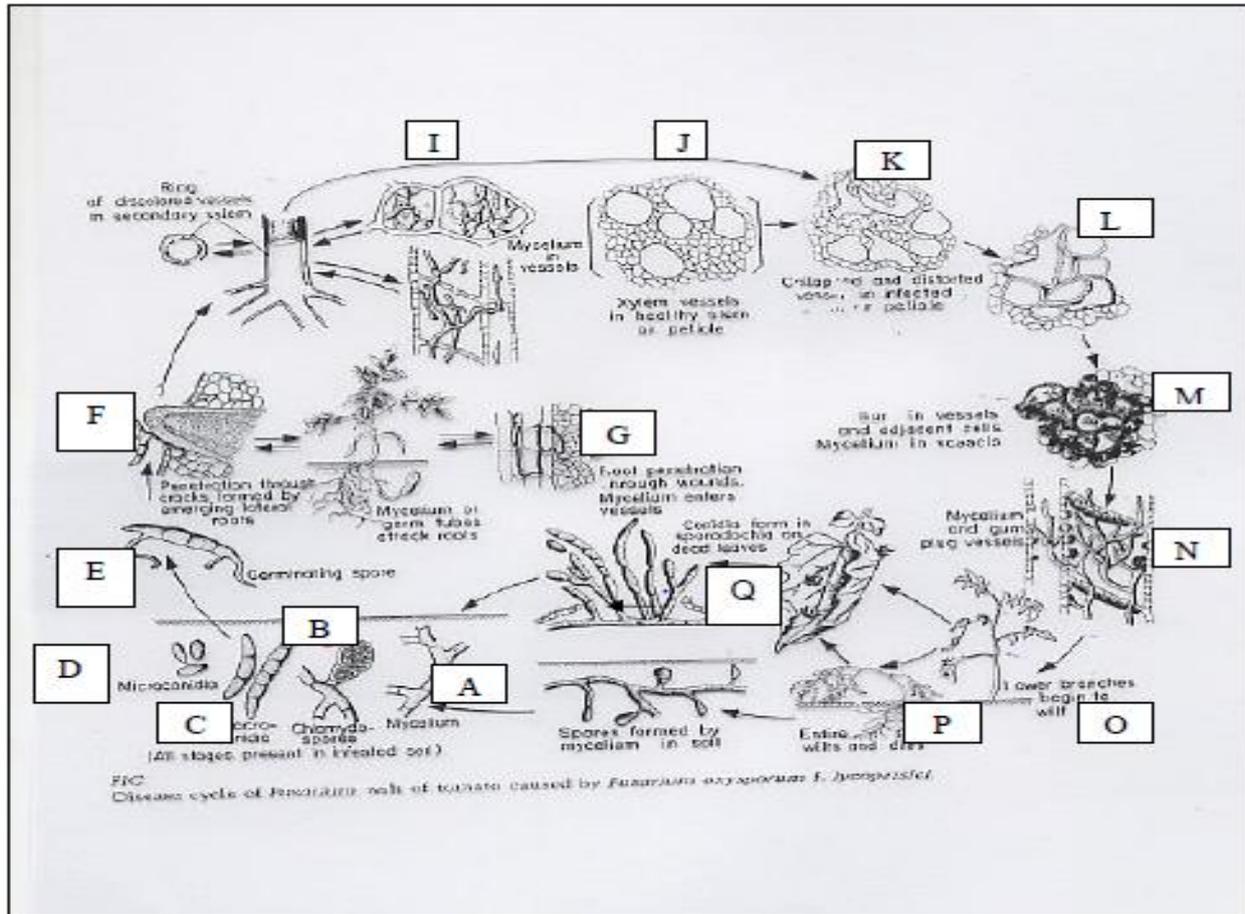


Figure 5 : Cycle biologique de *Fusarium oxysporum*f.sp. *lycopersici* (Agrios, 2005).

- A : Mycélium ;
- B : Chlamidospores ;
- C : Macroconidies ;
- D : Microconidies ;
- E : Spores qui germent ;
- F : Pénétration au niveau d'une racine latérale ;
- G : Pénétration dans la racine au niveau d'une blessure ;
- I : Mycélium dans les vaisseaux ;
- J : Vaisseaux du xylème d'une tige saine ;
- K=L : Effondrement et distorsion des vaisseaux dans une tige infectée ;
- M : Gomme dans les vaisseaux et les cellules adjacentes ;
- N : Mycélium et bouchon vasculaire ;
- O : Début d'apparition des symptômes ;
- P : Flétrissement et mort de la plante ;
- Q : Spores formées par mycélium dans le sol.

II.7- Spécificité parasitaire

Les souches pathogènes de *F. oxysporum* sont en général inféodées à une seule espèce végétale. Cette étroite spécificité d'hôte a conduit à définir les concepts de formes spéciales et des races physiologiques, critères intra spécifique qui différencient par leur plantes hôtes des souches morphologiquement identique. Une forme spéciale rassemble des souches pathogènes d'une même espèce végétale. Par exemple, les souches appartenant aux formes spéciales *lycopersici* ou *meloniss* ont responsables de la fusariose vasculaire de la tomate ou de melon, respectivement (Agrios, 2005).

II.8- La fusariose causée par *F. oxysporum*

Chez plusieurs espèces végétales, *F. oxysporum* est responsable des manques à la levée, des pourritures racinaires suivies de brunissements basaux, des flétrissements entraînant le dessèchement complet des plantes (Blancard, 2009).

La tomate est sujette à deux maladies fusarienne : la flétrissure fusarienne classique causée par *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (FOL) et la pourriture des racines et du collet causée par *F. oxysporum* f. sp. *Radicis. Lycopersici* (FORL). Cette dernière est connue parmi les maladies les plus dévastatrices de cette culture à travers le monde (Blancard, 2009).

II.8.1- Fusariose des racines et du collet (pourriture des racines)

La fusariose des racines et du collet est une maladie importante de la tomate de serre; elle a aussi été signalée sur la tomate de plein champ. La maladie peut affecter sévèrement de jeunes plantules de tomate et les tuer, mais elle attaque surtout les plantes qui portent des fruits. Sur la tomate de serre, les symptômes apparaissent habituellement justes avant la première cueillette. Les plantes infectées se remarquent souvent par l'amincissement marqué du sommet de leur tige. Le flétrissement des plantes débute par les feuilles du haut, et les tissus vasculaires prennent une coloration brun rougeâtre qui s'étend vers le haut de la tige sur 5 à 25 cm (Alexander, 1945). Par la suite, les feuilles inférieures deviennent brunes fauve en commençant par la pointe, et finissent par mourir. Les symptômes de flétrissement diminuent lorsque le temps est frais et nuageux, après la cueillette des fruits et l'arrosage des plantes. Des racines adventives peuvent se former sur la tige au-dessus des lésions. Les racines des plantes infectées montrent des lésions foncées brun rougeâtre qui rejoignent souvent les lésions présentes sur les hypocotyles. De petites lésions brun grisâtre apparaissent sur les racines principales au point d'émergence des racines secondaires. Les fruits des plantes affectées sont flasques et n'ont pas leur couleur brillante habituelle (Armstrong et

Armstrong, 1981). Les plantes mortes se couvrent de masses externes bien visibles de mycélium blanc rosâtre ou saumon.

II.8.1.1- Cycle évolutif

On ne sait comment le parasite s'introduit dans les zones et provoque la maladie. Il peut survivre dans le sol sous forme des chlamydospores, ainsi que dans les grosses racines et les mottes d'argile qui sont difficiles à stériliser. La fonte des semis survient parfois dans des plateaux de semis ou chez des plantules gravement atteintes; les symptômes ressemblent alors à ceux que causent les *Pythium*. Ceux-ci peuvent s'exprimer sous forme d'un flétrissement soudain des plantes adultes infectées, ce qui entraîne une mort précoce, ou sous forme d'un flétrissement graduel qui coïncide avec la mort progressive et acropétale des feuilles. Ces plantes peuvent alors survivre jusqu'à la fin de la saison et faire une poussée de croissance après que la plupart des fruits ont été cueillis. L'infection des plantules se produit dans les sols contaminés ou à partir des microconidies présentes dans l'air et qui proviennent des débris des plants des tomates. Le champignon pénètre dans les racines et les tissus corticaux de l'hypocotyle par les blessures causées par l'émergence des racines secondaires, et aussi directement par l'épiderme. Les macroconidies sont probablement dispersées par l'eau des systèmes d'irrigation mobiles ou par le vent. La température optimale à l'expression des symptômes se situe entre 15 et 18C° (**Alexander, 1945**).

II.8.2- Fusariose vasculaire

La fusariose vasculaire de la tomate est une maladie répandue et particulièrement dévastatrice dans les serres chaudes. Le parasite peut survivre sur des espèces déférentes, et comme saprophyte en association avec les racines fibreuses d'autres plantes (**Alexander, 1945**).

II.8.2.1- Symptômes

Sur les jeunes plantes, les premiers symptômes qui apparaissent sont la décoloration des nervures et la chlorose des feuilles inférieures suivies de l'épinastie des feuilles plus âgées causée par l'affaissement des pétioles. Souvent, les plantes infectées au stade plantule flétrissent et meurent peu après. Les plantes plus âgées qui sont sévèrement affectées peuvent flétrir et mourir subitement si le temps est favorable au développement du parasite. En général, les premiers symptômes s'intensifient jusqu'à ce que la plante entière montre des symptômes. Les plantes demeurent rabougries et montrent parfois des symptômes tels la formation des racines adventives, le flétrissement des feuilles et des tiges, la défoliation, la nécrose marginale des feuilles restantes jusqu'à la mort de la plante. Un changement de couleur sur un côté seulement de la tige peut se

produire durant les stades ultimes de la maladie et de nouvelles pousses apparemment saines sont produites à partir de la base, alors que le sommet de la tige présente des symptômes graves. Les tissus ligneux des plantes atteintes présentent une coloration brunâtre. Les fruits peuvent parfois être infectés, pourrir et tomber. Les racines peuvent aussi être infectées et rabougries, et des racines secondaires plus petites pourrir complètement (**Armstrong et Armstrong, 1981**).

II.8.2.2- Cycle évolutif

La dissémination sur de grandes distances peut se faire par la semence, par des plants sans symptômes ou par le sol qui adhère aux plants lors du repiquage. Une fois établi, le champignon survit sous forme de chlamydospores dans le sol et dans les débris des racines. Une faible intensité lumineuse, un pH bas, des tissus végétaux carencés en potassium et des températures du sol avoisinant 28 °C, des jours courts, sont favorables à la maladie. L'augmentation des niveaux d'azote sous forme de nitrates réduit la sensibilité au flétrissement. Les blessures causées au système racinaire des plants par des manipulations brutales favorisent la maladie (**Armstrong et Armstrong, 1981**).

II.9- Les méthodes de lutte contre *F. oxysporum*

II.9.1- La lutte chimique

Il s'agit de l'utilisation des fongicides à action systémique ou endothérapeutique. Ainsi, l'utilisation d'un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine permet de désinfecter un sol contaminé par *F. oxysporum*. En effet, le bromure de méthyle possède une forte capacité de pénétration dans le sol et assure une bonne stérilisation. Mais ces produits sont peu stables dans le sol et risquent de favoriser la sélection des souches résistantes. De plus, en les utilisant de façon répétitive et pendant de longues années, ces produits chimiques risquent de nuire à l'environnement. C'est ainsi que l'utilisation de chloropicrine fut totalement interdite ces dernières années (**Dubost et Hethener, 1968**).

II.9.2- La lutte culturale

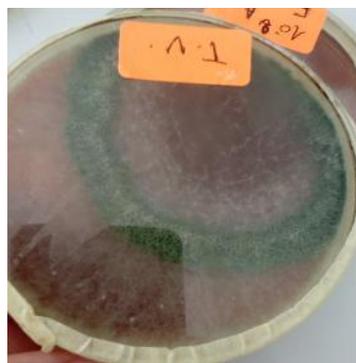
La lutte culturale est un ensemble de mesures prophylactiques visant à réduire le potentiel d'inoculum et à limiter la dissémination du *Fusarium oxysporum*. Ces mesures consistent à arracher et à brûler toutes les plantes infectées, à utiliser des semences saines, à observer une rotation des cultures permettant de réduire l'inoculum de *F. oxysporum* (**Davis et Aegerter, 2010**). La

solarisation du sol permet également d'éliminer la plupart des propagules des espèces du genre de *Fusarium*.

II.9.3- La lutte biologique

Au regard de l'intérêt accordé à la préservation de l'environnement, à la pérennité des ressources naturelles et surtout à la réduction de l'utilisation des substances chimiques, la lutte biologique est très intéressante, mais son application sur le terrain reste faible. Par exemple, les recherches ont montré que l'utilisation de genre *Trichoderma* peut être un moyen de contrôle biologique efficace, capable de limiter la propagation et la sévérité de la fusariose dans la tomate (**Davis et Aegerter, 2010**). De même, la mycorhization de tomate par CMA permet une bonne croissance et une résistance de la tomate aux attaques de *F. oxysporum* (**Besserer et al., 2008**).

Chapitre III: les agents de biocontrol



III.1- Les mycorhizes

III.1.1- Définition des mycorhizes

Les plantes vasculaires terrestres sont capables d'établir des symbioses avec des nombreux micro-organismes. Au niveau des racines, les champignons mycorhiziens pour donner ce qu'on appelle une association mycorhiziennes. Trois principaux types d'associations mycorhiziennes sont repertories: les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes. Les formes les plus répandues sont les endomycorhizes à arbuscules. En effet, ces symbioses ont été recensées chez 80% des plantes terrestres (**Smith et Read, 2008**).

L'interaction mycorhizienne se caractérise par un transfert bi-directionnel de nutriments. Les substances carbonées sont nécessaires à ses besoins énergétiques proviennent de la plante. L'estimation du carbone transféré de la plante vers le champignon mycorhizien varie de 4 à 20% du carbone total chez la plante. Les CMA, en échange du carbone fourni par la plante, améliorent la nutrition hydrique et minérale de celle-ci.

La grande majorité des végétaux terrestres vivent en étroite collaboration avec des nombreux organismes du sol parmi lesquels existent les champignons mycorhiziens jouent un rôle primordial. Ces champignons biotrophes obligatoires sont capables de coloniser près de 90% des plantes terrestres (**Smith et Read, 2008**) et sont présents dans différents milieux. Cette symbiose mycorhizienne est observable chez de nombreuses espèces végétales, qu'il s'agisse des mousses, des fougères, des gymnospermes et des angiospermes (monocotylédone et dicotylédone). Cette symbiose est d'ailleurs retrouvée chez des plantes cultivées à grande échelle, comme le blé, le maïs, le riz et le soja. Parmi les espèces végétales formant peu ou pas ce type d'association, nous pouvons distinguer les plantes qui appartiennent aux familles des Brassicaceae, Chenopodiaceae et Urticaceae, sans oublier le genre *Lupinus* (**Smith et Read, 2008**).

Les CMA produisent un grand nombre des spores rondes à paroi épaisse, d'un diamètre de 50 à 100 µm contenant environ 2.10^3 noyaux par spore et stockant de grandes quantités d'éléments carbonés, principalement sous forme de lipides de réserve (**Jeffries et al., 2007**).

III.1.2- Classification classique

La taxonomie des CMA était basée sur la morphologie des spores ; celles qui ont une morphologie similaire et forment un seul type de paroi sporale sont apparentées phylogénétiquement (**Auger, 2001**).

Azcon-Aguilar et Barea (1996); ont classé les CMA dans l'ordre des Glomales, subdivisé en deux sous ordres Glominées (formant des vésicules) et les Gigasporinées.

A) les Glominées regroupent deux grandes familles, les Glomacées représentées par les genres *Glomus* et *Sclerocystis* et les Acaulosporacées par *Acaulospora* et *Entrophospora*.

B) les Gigasporinées comprennent trois familles, les Gigasporacées représentées par *Gigaspora* et *Scutellospora*, les Archaeosporacées représentées par le genre *Archaeospora* et les Paraglomacées par le genre *Paraglomus*.

Actuellement, les CMA appartiennent au phylum des Glomeromycota, ce dernier est constitué d'une seule classe, celle des Gloméromycètes qui est subdivisée en quatre ordres, dix familles et treize genres (figure 6). Cette classification, basée sur celles de **Schubler et al. (2001)**, a été modifiée par des nombreux auteurs (**Walker et Schubler, 2004 ; Palenzuela et al., 2008**).

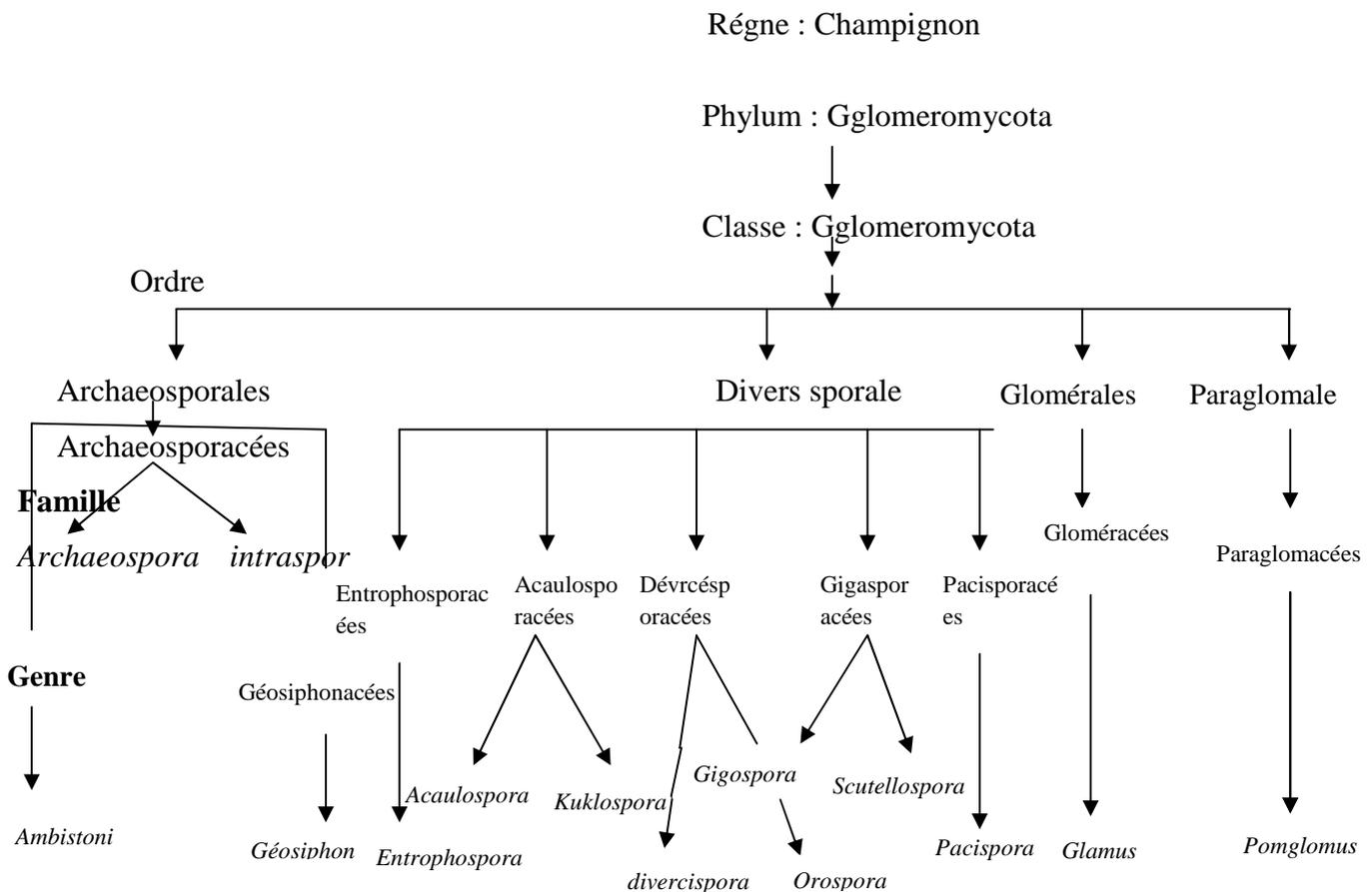


Figure 6 : Classification de CMA selon **Schubler et al., (2001)** modifiée par **Walker et Schubler, 2004 ;Palenzuela et al.,(2008)**

III.1.3- Les différents types des mycorhizes

III.1.3.1- Les ectomycorhizes

Ces champignons supérieurs se retrouvent dans le sous-bois parce que, sauf exception, ils ne forment des mycorhizes qu'avec les plantes ligneuses, arbres ou arbustes. Beaucoup de ces champignons produisent des carpophores sur le tapis forestier. La symbiose ectomycorhizienne ne concerne que 3 % des espèces végétales (Mousain, 1991) (Figure7).

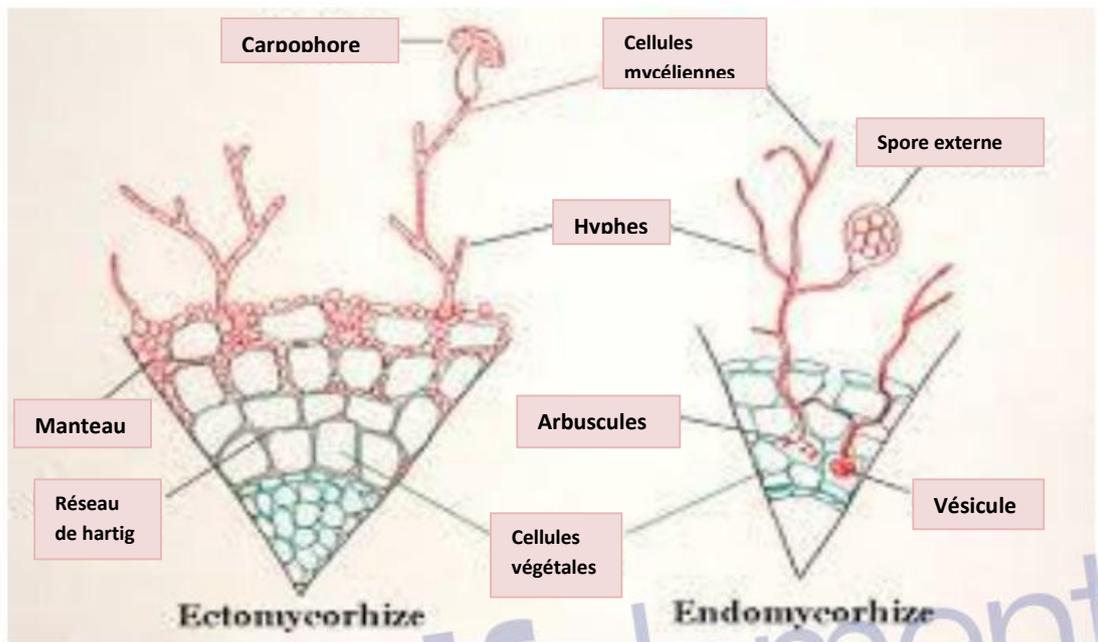


Figure 7: Ectomycorhize et endomycorhize (Mousain, 1991)

III.1.3.2- Les endomycorhizes

Les champignons endomycorhiziens ne sont pas spécifiques et sont normalement associés aux plantes comme les plantes forestières agricoles et horticoles. Ces symbiotes à colonisation intracellulaire corticale, forment des arbuscules, des vésicules ou des hyphes, ne se cultivent pas et ne sont pas visibles qu'après coloration. Les champignons mycorhiziens de type arbusculaire (CMA), regroupés dans le phylum Glomeromycota, sont des champignons filamenteux coenocytiques qui colonisent à la fois le sol et les racines en établissant un pont entre la rhizosphère et la plante. Les hyphes extra-racinaires augmentent le volume de sol (eau et minéraux) accessible à la plante alors que les hyphes intra-racinaires se propagent dans les espaces intercellulaires, se gonflent en vésicules selon leur génotype et forment des arbuscules intracellulaires créant une importante zone interface entre les cellules des deux partenaires. (Mousain, 1991) (figure7).

III.1.3.3- Les ectendomycorhizes

Il arrive que les ectomycorhizes et les endomycorhizes soient présents en même temps sur une racine, on parle alors d'ectendomycorhizes, le premier type est minoritaire et concerne surtout les arbres, le second est majoritaire et concerne presque tous les végétaux. Ils montrent simultanément, un manteau réduit ou absent qui possède un réseau de Hartig bien développé, des structures des ectomycorhizes et des hyphes qui pénètrent dans les cellules racinaires, des structures des endomycorhizes (**Mousain, 1991**).

III.1.4- Ecologie des CMA

Par leur biotrophie obligatoire, les CMA acquièrent des sites écologiques très contrastés. Ils maintiennent la fertilité des sols, la finesse des arbres et l'absorption des nutriments (**Jeffries et al., 2007**).

L'absence de spécificité du partenaire végétal des CMA a été souvent démontrée par (**Smith et al., 1988**), en dépit de la très forte association entre les deux partenaires. Des études moléculaires ont confirmé qu'aux champs les espèces de CMA sont spécifiques à leur plante.

III.1.5- Les stades de contacts mycorhize-plante

III.1.5.1-Phase asymbiotique

La germination de la spore et ramification de l'hyphes germinatif. Dans des conditions favorables, les spores peuvent germer spontanément et produire un hyphes germinatif et quelques ramifications primaires sans stimulus exogène. Lorsqu'un partenaire végétal est à proximité, les hyphes germinatifs se cloisonnent et le cytoplasme se rétracte dans la spore (**Bonanomi et al., 2009**) (figure 8). Les spores des CMA sont capables de germer et d'entrer à nouveau en dormance de nombreuses fois si des signaux racinaires ne sont pas perçus (**Bonanomi et al., 2009**). Dans tous les cas, l'essentiel des réserves énergétiques des spores initiales est conservé.

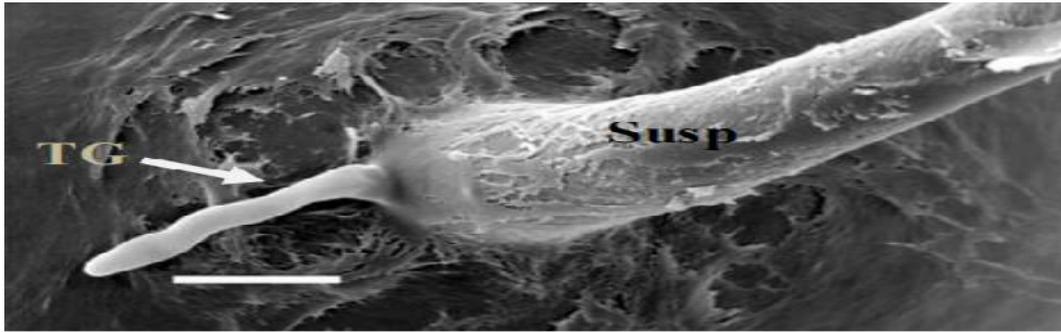


Figure 8 : Germination d'une spore (Dalpé et al., 2005)

TG : tube germinatif sortant de la paroi de l'hyphe suspenseur (**Susp**)

III.1.5.2- Phase pré-symbiotique

C'est le dialogue entre une plante et un champignon mycorhizien. Avant le premier contact physique, les deux partenaires de la symbiose émettent des signaux dans le sol qui leur permettent d'être informés de leur présence respective. Un certain nombre de gènes impliqués dans l'établissement de la symbiose seront alors activés (Bonfante et al., 2009).

III.1.5.2.1- Signaux émis par les végétaux

Les plantes produisent des exsudats racinaires capables de stimuler la germination, d'induire une ramification des hyphes et de modifier l'activité métabolique du CMA, dénommées «branching factors», ces molécules ont été identifiées comme étant des strigolactones, un dérivé des apocaroténoïdes (Besserer et al., 2008). Les strigolactones provoquent chez le champignon l'oxydation des acides gras et la production d'ATP, ces réponses étant dépendantes d'une NADH déshydrogénase et d'une oxydase alternative dans la chaîne respiratoire (Besserer et al., 2008).

En plus des strigolactones, d'autres molécules ont été décrites comme potentiellement perçues par les CMA, même si leur rôle reste encore à définir. Différents flavonoïdes ou polyamines ont montré un effet sur la germination des spores ou la ramification des hyphes (Bonanomi et al., 2009) (figure 9).

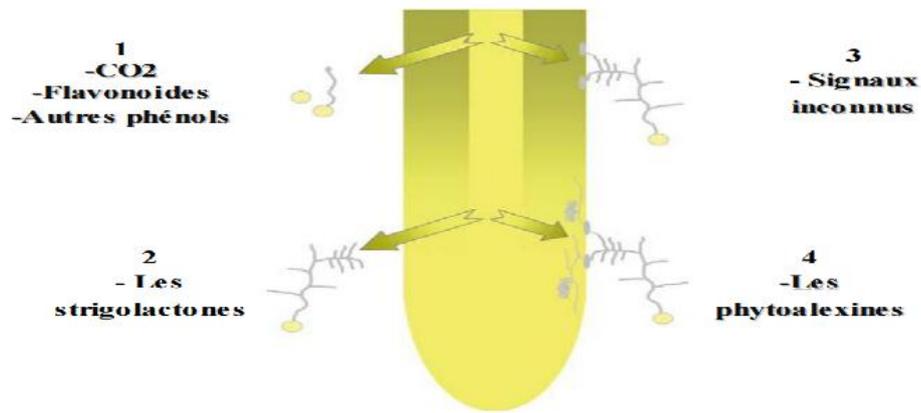


Figure 9: Les différents signaux moléculaires synthétisés par les deux symbiotes durant 4 phases (1, 2, 3 et 4) de l'association (**Bonanomi et al., 2009**)

- 1** : Germination de la spore et croissance des hyphes ; **2** : Ramification des hyphes ;
3 : Développement des appressoria ; **4** : Croissance intra-racinaire et formation des arbuscules.

III.1.5.2.2- Signaux émis par les CMA

De même que pour les signaux «Nodfactors» émis par les *Rhizobiums*, les CMA produisent des molécules diffuses qui leur permettent d'être reconnus par les plantes. Ces molécules appelées «Mycfactors» induisent l'activation de gènes chez la plante hôte (**Bonfante et al., 2009**). Parmi ces molécules sécrétées par le champignon (LCO : lipochito-oligosaccharides) ont été récemment décrites comme jouant un rôle dans la préparation de la plante à la colonisation mycorhizienne arbusculaire. Ces composés favorisent la mycorhization des plantes lorsqu'ils sont ajoutés de manière exogène, et induisent également la formation des racines latérales (**Bonfante et al., 2009**). Une fois ces premiers signaux échangés, les deux partenaires mettent en place une régulation génique propre à l'établissement de la symbiose.

III.1.5.3- Phase symbiotique (colonisation des racines de l'hôte)

Le champignon forme une structure renflée au contact de l'épiderme appelée hyphopode. Les cellules végétales réorganisent leur cytosquelette et forment un système membranaire de pré-pénétration (PPA) pour (pré-pénétration apparatus), qui va permettre au champignon d'entrer dans la racine et d'atteindre la zone corticale de la racine pour y développer des structures hyper-ramifiées appelées arbuscules, lieu d'échanges entre les partenaires (**Genre et al., 2005**). Ces structures sont entourées d'une membrane plasmique péri-arbusculaire séparant le champignon du cytoplasme végétal et assurant les échanges entre le champignon et la plante grâce à des transporteurs spécifiques. Les arbuscules ont une durée de vie limitée estimée en moyenne à 5- 8

jours. Actifs pendant 4 à 5 jours, les arbuscules entrent ensuite en sénescence et sont complètement éliminées de la cellule végétale qui retrouve son état initial (**Javot et al., 2007**).

De manière concomitante au développement dans la racine, le champignon va se développer dans le sol. Le mycélium extra-racinaire s'organise en un réseau très dense d'hyphes, qui peut former jusqu'à plusieurs mètres d'hyphes par cm^3 de sol (**Genre et al., 2005**). Ces structures vont puiser eau et sels minéraux puis les transporter vers la racine. C'est aussi à ce moment-là que le champignon va former de nouvelles spores, structures de reproduction et de dissémination des CMA, complétant ainsi son cycle de vie.

III.1.6- Mécanismes d'action

Les premières investigations relatives au potentiel des CMA comme agent de lutte biologique datent des années 1960 alors qu'on réalisait à peine l'impact bénéfique de ces organismes sur la croissance et la survie des plantes. Plusieurs des mécanismes d'action répertoriés jusqu'à maintenant agissent de manière indirecte sur les affections parasitaires. Ils concernent l'amélioration de la nutrition de la plante, la transformation de la morphologie végétale, la modification de la microflore et de la composition des sols. D'autres actions plus directes impliquent la stimulation des mécanismes de défense par la plante et la compétition entre mycorhizes et parasites pour l'espace, les sites d'infection et les éléments nutritifs (**Singh et al., 2000**).

III.1.6.1- Croissance et nutrition

Connaissant le fonctionnement général des mycorhizes, l'augmentation de la croissance et de la santé générale des plantes colonisées se traduit par une vigueur accrue qui leur permet de mieux tolérer les stress environnementaux dont ceux causés par diverses maladies. Cette réduction de la susceptibilité aux infections n'est généralement efficace que lorsqu'une symbiose fonctionnelle s'établit préalablement à l'attaque du parasite car, dans la majorité des cas, ces derniers, une fois en contact avec leur hôte, envahissent nettement plus rapidement les tissus végétaux que les champignons mycorhiziens (**Azcon-Aguilar et Barea, 1996**) (figure 10).

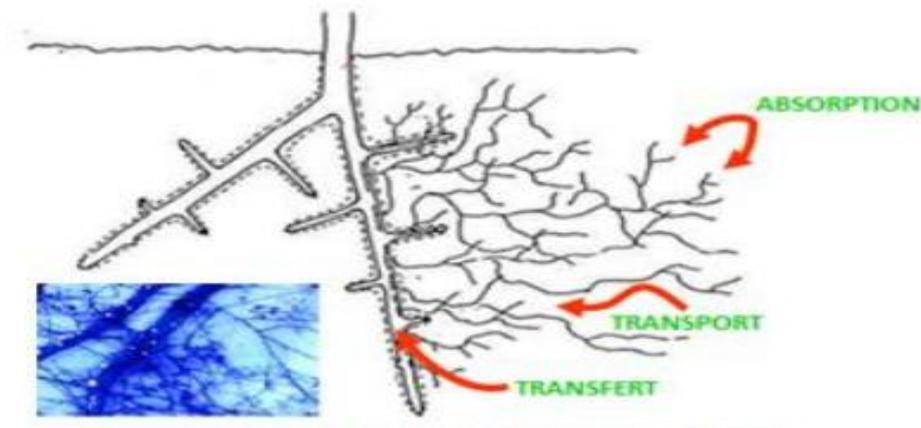


Figure 10 : Actions des hyphes extra-radicalaires des champignons mycorrhizogène sur l'apport en eau et nutriments à la plante (Azcon-Aguilar et Barea, 1996)

III.1.6.2- Morphologie racinaire

Chez certaines plantes, la colonisation mycorhizienne entraîne une ramification accrue du système racinaire, un raccourcissement des racines adventives, une augmentation des racines fines ou une transformation de l'architecture racinaire liée aux proportions respectives des catégories des racines. C'est le cas pour les espèces ligneuses : peuplier, platane, prunier, ainsi que pour des plantes herbacées telles que le poireau, la tomate (Gamalero et al., 2004) et le fraisier. La ramification intense des racines induite par la mycorhization s'accompagne d'une intensification des exsudats racinaires qui serait responsable de modifications de la microflore et d'interactions directes avec les parasites (figure 11).

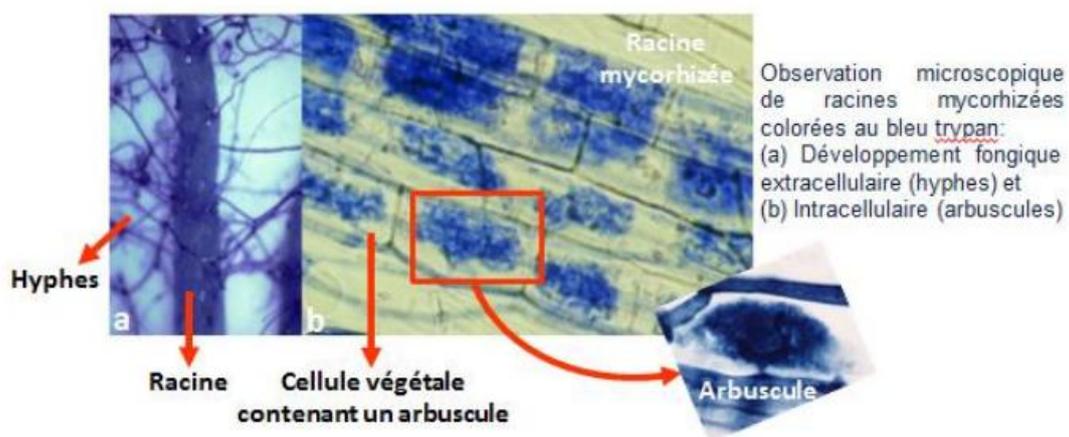


Figure 11 : Observation microscopique des racines mycorhizées colorées au bleu trypan : (a) développement fongique extra cellulaire (hyphes) et (b) intracellulaire (arbuscules) (Azcon-Aguilar et Barea, 1996)

III.1.6.3- Mécanismes de défense

La colonisation mycorhizienne prédispose les plantes à réagir rapidement aux attaques des parasites. Cette protection indirecte se traduit au niveau cellulaire par des réactions anatomiques, métaboliques et physiologiques, ainsi que par l'induction ou la suppression de divers mécanismes de défense liés aux phytoalexines, phénols, peroxydases, chitinases, β -glucanases, lignification, déposition de callose et diverses autres protéines liées à la pathogenèse. Les plantes colonisées produisent davantage d'éthylène dans leurs racines (**Harrier et Watson, 2004**). Ils ont constaté que chez certains couples « plante - mycorhize » une augmentation du taux de lignification des parois cellulaires de l'endoderme et des tissus vasculaires, et un dépôt de callose, ce qui peut expliquer la restriction des propagules mycorhiziennes au seul cortex racinaire. Cette lignification accrue constitue une barrière de protection pour la racine contre la pénétration des parasites et s'accompagne d'une accumulation de composés phénoliques (**Gamalero et al., 2004**). En ce qui concerne l'effet des phytoalexines et aux gènes codant des processus de défense, leur induction varie selon les complexes plante - mycorhize – parasite ; leur activité augmente généralement en début de colonisation pour disparaître une fois la symbiose établie. Les phytoalexines peuvent être induites à la fois localement chez des cellules colonisées par les arbuscules mais aussi dans les tissus racinaires non colonisés. L'activité des peroxydases et l'accumulation des phénols mises en place lors d'une infection parasitaire se retrouvent généralement inhibés au fur à mesure de l'établissement de la colonisation mycorhizienne, mais ne sont jamais détectées au niveau des cellules corticales habitées d'arbuscules (**Harrier et Watson, 2004**), alors qu'elles peuvent être localement stimulées dans l'épiderme de la plante. Les enzymes hydrolytiques chitinase et β -glucanase jouent un rôle de protection, étant impliquées dans la dégradation des parois cellulaires. À ce titre, elles sont reconnues pour leur activité antifongique. En résumé, une colonisation mycorhizienne bien établie entraîne des changements considérables des mécanismes de défense de la plante pour contrer l'action des certains parasites (**Auger, 2001**).

III.1.6.3.1- Résistance aux stress abiotiques

Une meilleure croissance des plantes mycorhizées a été observée dans des conditions de sécheresse de salinité et sur des milieux pollués par les éléments traces métalliques, les fongicides et les polluants organiques persistants. La tolérance des plantes mycorhizées à ces différents stress abiotiques serait attribuée à un ensemble des processus physiologiques dont, une meilleure nutrition minérale et hydrique conduisant à un meilleur développement de la plante (**Auger, 2001**). Le mycélium pouvant explorer un volume de sol beaucoup plus important que les racines et ayant

accès à un réservoir hydrique plus important, peut ainsi aider au maintien de l'équilibre hydrique et minéral de la plante (**Auger, 2001**).

Il a également été rapporté que la protection des plantes par la mycorhization contre le stress salin résulterait d'une augmentation et/ou d'une meilleure sélection dans le prélèvement des nutriments, de l'accumulation de composés osmorégulateurs, d'une augmentation de l'activité photosynthétique ou encore d'une limitation de la déshydratation des feuilles (**Auge, 2001; Ruiz-Lozano et al., 1995**). De plus, une accumulation plus élevée de proline (molécule d'ajustement osmotique) et de glucides solubles a été décrite chez les plantes mycorhizées (**Ruiz-Lozano et al., 1995**). Ces molécules sont connues pour protéger les structures subcellulaires, pour maintenir les activités enzymatiques et limiter les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres en condition de stress.

Quant à la survie des plantes mycorhizées par des CMA dans des milieux pollués, une plus faible accumulation des polluants dans ces plantes ou une diminution de leur transport des racines vers les parties aériennes peuvent être à l'origine de cet effet protecteur. Il a été démontré que les éléments traces métalliques, par exemple, étaient séquestrés dans les vacuoles et les parois fongiques, préservant ainsi les tissus végétaux (**Rivera-Becerril et al., 2002**). D'une façon générale, il a été suggéré que la symbiose mycorhizienne à arbuscules diminuerait les effets de divers stress abiotiques (salinité, sécheresse, pollution ...) chez les plantes en atténuant le stress oxydant par induction des systèmes antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, ascorbate-peroxydase, guaicol-peroxydase, catalase) et non enzymatiques (ascorbate et glutathion) (**Rivera-Becerril et al., 2002**). Ces systèmes antioxydants permettent l'élimination des espèces réactives de l'oxygène générées en condition de stress et par conséquent, la protection des lipides membranaires et de l'ADN contre les dommages oxydatifs.

III.1.6.3.2- Résistance aux stress biotiques

La protection des plantes apportée par la colonisation mycorhizienne résulterait d'une combinaison de cinq principaux mécanismes d'action (**Wehner et al., 2010**):

- La stimulation de la croissance de la plante par une meilleure nutrition, une meilleure santé végétale et la compensation par la symbiose des dommages causés par l'agent phytopathogène.
- La compétition directe ou indirecte entre les CMA et les organismes phytopathogènes, liées à la disponibilité des nutriments.

La transformation morphologique et architecturale de la racine, ce qui peut altérer la dynamique infectieuse du pathogène. La déposition de callose et de pectine et l'activation de la voie des phenylpropanoïdes résultant en l'accumulation de lignine chez les plantes mycorhizées seraient impliquées dans la protection de la plante (**Pozo et al., 2007**). De plus, les CMA induisent la formation des racines latérales plus épaisses (**Rivera-Becerril et al., 2002**).

- La modification de la microflore et de l'augmentation du taux de matière organique dans les sols. Ces changements peuvent mener à la stimulation de la production de composés par la microflore avec une activité antagoniste contre certains pathogènes racinaires. Il a été montré, par exemple, que des souches de *Pseudomonas fluorescens* rhizosphériques, produisent plus de 2,4-diacetyl-phloro-glucinol, antibiotique conférant une protection chez les plantes contre *Gaeumannomyces graminis*, dans un sol contenant *Glomus intraradices* (**Pozo et al., 2007**).
- L'induction ou la suppression de certains mécanismes de défense des plantes, notamment les mécanismes enzymatiques. l'accumulation de protéines de défense, notamment des protéines PR (pour « Pathogen Related») et l'implication des voies de signalisation de l'acide jasmonique, de l'éthylène et de l'acide salicylique, connus pour jouer un rôle majeur dans la régulation des mécanismes de défense des plantes, semblent être à l'origine de ces processus de protection (**Pozo et al., 2007**).

III.1.6.4- Interactions mycorhize – parasite

Lors d'infections parasitaires diverses, ils ont noté que dans 50 % des cas les CMA réduisent la croissance de parasites, alors que dans 32 % des cas elles suppriment leur action néfaste et dans seulement 16 % des cas le développement des mycorhizes est négativement affecté par le parasite (**Pinochet et al., 1996**). Il est reconnu que le pouvoir protecteur des mycorhizes dépend de la nature du parasite (bactérie, champignon, virus) et diminue d'efficacité proportionnellement à l'augmentation de la virulence du parasite et à la concentration des propagules de ce dernier. De plus, une réduction de l'incidence d'une maladie peut dépendre d'une résistance accrue de la plante et la baisse d'activité mycorhizienne peut impliquer une compétition directe des antagonistes pour les éléments nutritifs et la disponibilité des sites d'infection. Par le biais de techniques d'immunofluorescence, il a été démontré que les virus se concentrent de préférence dans les cellules colonisées par les arbuscules, sites d'activité métabolique élevée. Le virus y bénéficie des échanges intensifs de minéraux, de protéines et d'acides nucléiques entre la plante et ses symbiotes mycorhiziens (**Smith et Gianinazzi-Pearson, 1988**).

III.1.6.5- Microflore du sol

L'activité microbienne des sols contribue considérablement à sa fertilité par le biais de synergies entre microorganismes, des compétitions et des parasitismes. Les hyphes extra-racinaires des mycorhizes à arbuscules peuvent constituer à eux seuls jusqu'à 80 % de la masse d'hyphes/cm³ de sol (**Kabir et al., 1997**). Cette microflore influence l'environnement physicochimique de la rhizosphère et contrôle diverses interactions microbiennes du sol.

L'activité mycorhizienne se traduit généralement par une augmentation de la diversité et de l'abondance des microorganismes du sol, notamment les antagonistes des parasites. Ces modifications de la microflore varient selon les paramètres éco-physiologiques et les souches mycorhiziennes testées, et peut affecter l'ensemble de la microflore ou encore l'une ou l'autre de ses composantes (**Jeffries et al., 2007**).

Il a également été mis en évidence que les mycorhizes peuvent stimuler l'exsudation d'antibiotiques par les racines et les bactéries du sol. Contrairement aux pesticides qui possèdent généralement un large spectre d'action envers la microflore, les multiples implications des mycorhizes dans la rhizosphère peuvent modeler la microflore microbienne de façon à remédier au déséquilibre causé par la prolifération excessive d'un parasite. Certaines bactéries du sol secrètent des métabolites capables d'altérer la perméabilité des parois des cellules racinaires, d'en augmenter l'exsudation, de stimuler le développement des symbiotes mycorhiziens et la colonisation des racines (**Jeffries et al., 2007**).

Certaines composantes de cette microflore interagissent avec les CMA à la manière d'agents de lutte biologique. C'est le cas du *Gliocladium virens* Mill. et du *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn qui, lorsqu'appliqués à une plante colonisée parasitée, stimulent à la fois la colonisation racinaire et réduisent l'incidence de la maladie (**Kabir et al., 1997**).

II.2- *Trichoderma*

III.2.1- Données sur le genre *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma Pers. :Fr.* décrit par **Persson** en **1874**, est utilisé depuis les années 1930 dans la lutte biologique appliquée en agriculture. Différentes espèces de ce genre ont montré leur efficacité dans la lutte contre des agents phytopathogènes aériens et telluriques. Depuis, différents travaux sur la taxonomie de ce genre basés sur les critères morphologiques, biochimiques et moléculaires, sur les mécanismes impliqués dans l'antagonisme.

L'efficacité de la protection chimique n'est pas toujours satisfaisante, et ses effets sur l'environnement ne sont pas négligeables. Cependant la possibilité d'une protection par des auxiliaires biologiques devient une solution alternative envisageable. Durant ces dernières années, un grand nombre de bactéries et des champignons antagonistes des *Pythium spp.* ont ainsi été mis en évidence, mais les résultats les plus intéressants et les plus solidement établis ont été obtenus avec des *Trichoderma spp.* (**Harman et al., 1989**).

La résistance des sols à d'autres parasites est presque toujours attribuée au genre *Trichoderma*, capable de posséder toutes les armes du parfait antagoniste : antibiose, compétition, mycoparasitisme, interviennent selon les circonstances : *T. viride Pers.*, *T. harzianum Rifai*, *T. hamatum (Bon.)*, *T. pseudokoningii Rifai*.

Il se trouve par ailleurs que certaines souches de *Trichoderma spp.* semblent exercer une action stimulatrice sur la croissance des plantes, aussi bien *in-vitro*, dans des conditions contrôlées et en l'absence de tout agent pathogène, que dans des substrats de culture (**Harman et al., 1989**).

III.2.2- Taxonomie de *Trichoderma*

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de discussions. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects culturels et la morphologie des appareils sporogènes, ainsi que sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaires (**Gams et Bissett, 1998**).

Le système taxonomique de Bissett est aussi appuyé, entre autres, par des approches de biologie moléculaire (PCR), pour répondre au positionnement de nouvelles espèces de *Trichoderma*

identifiées (dont les formes téléomorphes sont souvent non identifiées) et reste le plus fiable actuellement (**Gams et Bissett, 1998 ; Bissett, 1991**).

Les espèces de *Trichoderma* ainsi que leurs rares formes téléomorphes observées sont classées parmi les Ascomycètes du genre *Hypocrea*.

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente comme suit (**Bissett, 1991**) (figure 12).

Règne	Fungi
Embranchement	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Ordre	Hypocreales
Famille	Hypocreaceae
Genre	<i>Trichoderma</i>
Espèce	<i>T.viride</i>

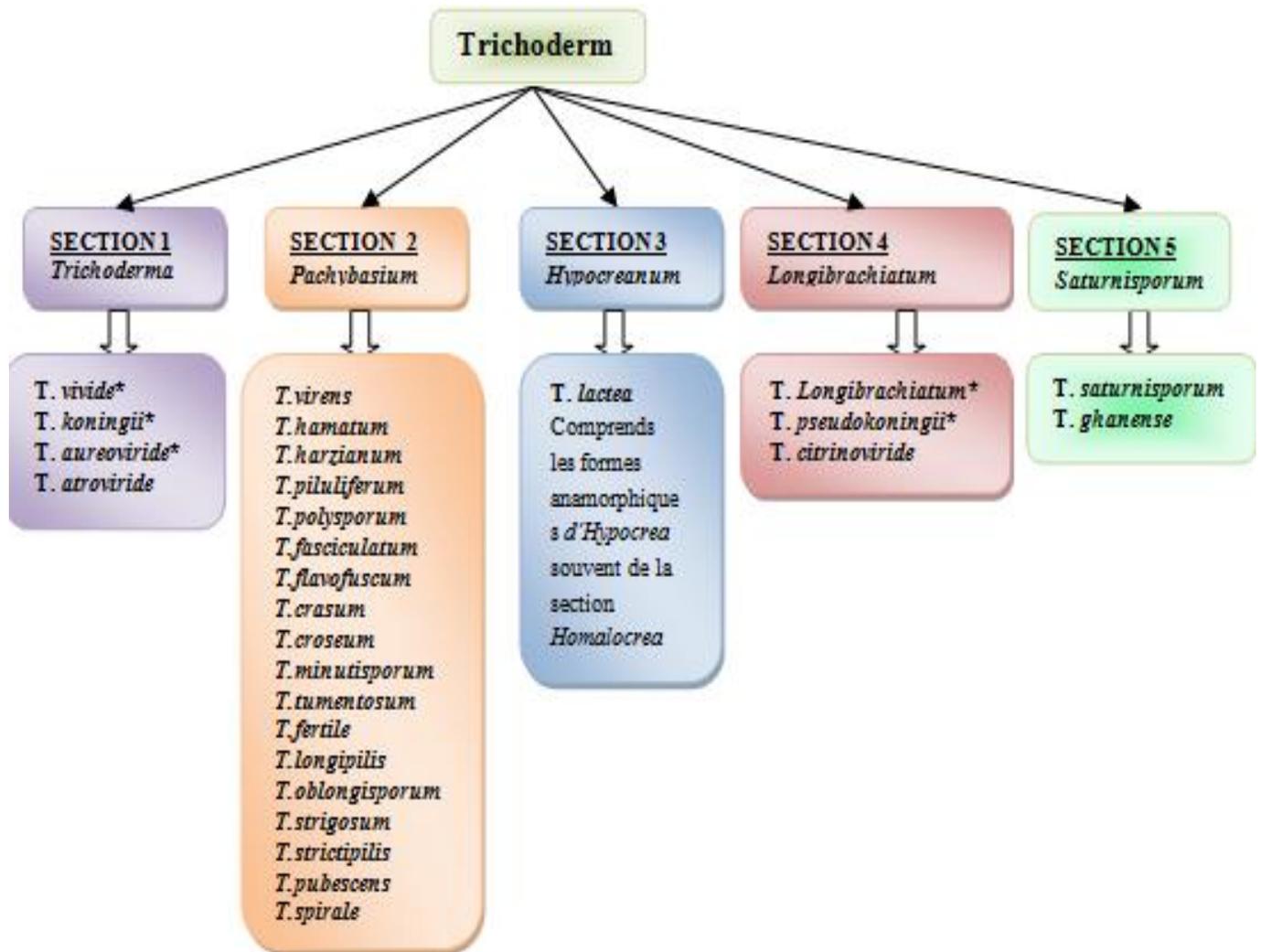


Figure 12 : Les cinq sections systématiques de *Trichoderma sp.* et quelques-unes des espèces y appartenant, selon **Bissett (1991)**

III.2.3- Morphologie de *T. viride*

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium.

D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se superpose à la culture.

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale.

Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (**Bissett, 1991**) (figure 13).

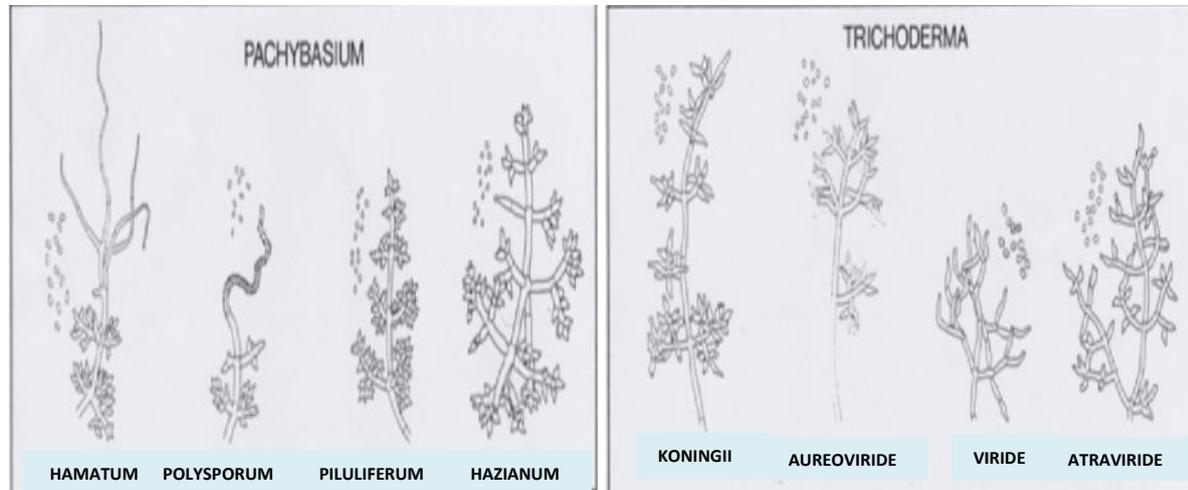


Figure13 : Illustration des deux sections parmi les cinq reconnus par **Bissett (1991)**

III.2.4- Emploi de *Trichoderma*

III.2.4.1- Les promesses de l'antagonisme dans le sol

Les propriétés antagonistes de *Trichoderma* sont connues depuis longtemps mais leur intervention, mise en évidence dans plusieurs sols suppressifs, a récemment relancé leur intérêt contre certains parasites classiques. D'après **Liu et Baker, (1980)**, la résistance à *Rhizoctonia solani* Kühn, persistante en sols acides, serait imputable à *T. harzianum* produisant de la β -1,3-glucanase et de la chitinase, il attaque et lyse le mycélium.

Le genre *Trichoderma* a été expérimenté avec succès contre des *Fusarium*, des *Pythium* (**Liu et Baker, 1980**).

III.2.4.2- L'antagonisme de *Trichoderma* hors du sol

Bien qu'il soit un partenaire exceptionnel des microbiocénoses d'organes aériens, le *Trichoderma* y a été introduit comme auxiliaire de lutte contre certains parasites, avec des suspensions des spores de *T. viride*. Pour le pêcher, le traitement est curatif, alors qu'aucun fongicide n'est actif, si l'on injecte les spores dans le tronc sous forme liquide ou pâteuse (**Dubos et Ricad, 1974**).

L'hyperparasitisme de *T. viride* est clairement établi sur des cibles telles que *Botrytis cinerea* Pers. et *Sphaeropsis malorum* Peck ; son mycélium est capable de s'enrouler autour des hyphes et même de les perforer pour s'installer à l'intérieur. En fin, il faut signaler que *T. viride* protège les souches d'arbres abattus de l'envahissement par *Heterobasidium (Fomes) annosum* (Fr.) Cke. Différentes espèces de *Trichoderma* se comportent donc en puissants antagonistes lorsqu'on les introduit dans la biocénose du sol ou des sites d'infection aériens (**Bulit, 1978**).

III.2.4.3- Stimulation de la croissance de la plante

Les souches de *Trichoderma* peuvent influencer la croissance de la plante, augmenter la disponibilité des nutriments, améliorer la production au champ et augmenter la résistance vis-à-vis de la maladie. **Cutler et al., (1993)**, ont travaillé sur l'activité biologique des métabolites secondaires produits par *T. koningii* et *T. harzianum*. Ils ont trouvé qu'ils fonctionnent comme des régulateurs pour la croissance de la plante. *Trichoderma* produit aussi des acides organiques (gluconic, citric et fumaricacids) qui diminuent le pH du sol et permet la solubilisation des phosphates, des micronutriments comme le fer et le magnésium. Plusieurs autres effets bénéfiques pour la plante, tels que la résistance aux stress abiotiques, l'amélioration de l'efficacité photosynthétique et la meilleure utilisation de l'azote, sont déclenchés.

III.2.4.4- Induction de la résistance systémique

Trichoderma se limite à une implantation sur les premières couches des cellules des racines.

L'implantation de *Trichoderma* est arrêtée par le dépôt de callose qui sert de barrière à la plante. La synthèse de substance chimique par *Trichoderma* peut provoquer l'induction de la résistance systémique des plantes (**Enkerli et al., 1999**). Les molécules libérées par *Trichoderma* induisent la résistance des plantes en stimulant la synthèse des différentes molécules tel que l'hydroperoxyde lyase, la peroxydase et la xylanase (figure 14).

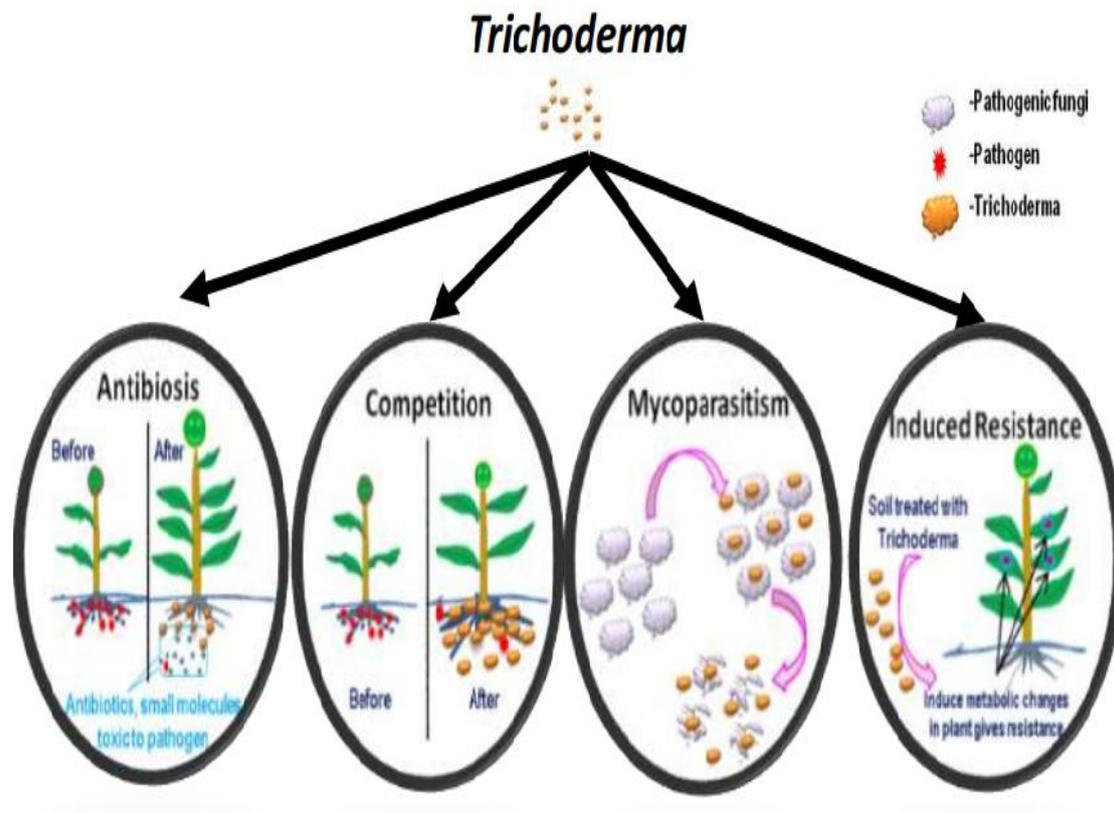


Figure 14 : Modes d'actions de *Trichoderma* (Enkerli et al., 1999).

III.2.4.5- Effets de la colonisation des racines sur le métabolisme de la plante (effet bénéfique)

Plusieurs études ont montré que la colonisation des racines résulte de l'augmentation des enzymes de défense incluant différentes peroxydases, chitinases, β -1,3-glucanase et la voie de lipoxygénase hydroperoxyde lyase (Harman et al., 2004). La fixation de *Trichoderma* sur les racines des plantes favorise l'absorption et la concentration de quelques éléments nutritifs (cuivre, fer, phosphore, manganèse et le sodium) à partir de la solution du sol. Cette augmentation de l'absorption des éléments nutritifs indique une amélioration du mécanisme actif d'absorption des éléments nutritifs. Yedidia et al., (2000), ont prouvé que l'association de *Trichoderma* avec les racines réduit les maladies des racines par l'activation de la réponse de la défense des plantes. En plus de son efficacité vis-à-vis de l'azote, cet organisme aide à assimiler différents éléments présents dans la solution du sol tels que le cobalt, le nickel, le plomb, le magnésium, le manganèse, le cuivre, le bore, le zinc, l'aluminium et le sodium (figure 15).

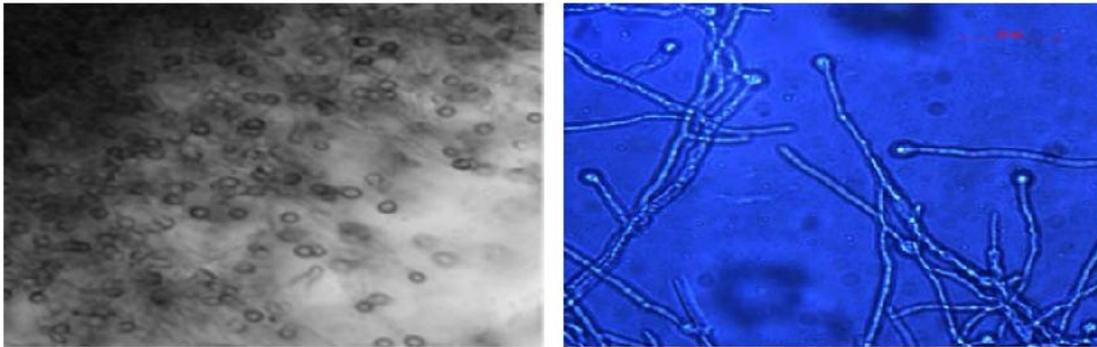


Figure 15 : Photomicrographies de *Trichoderma viride* (Yedidia et al., 2000)

III.2.5- Mode d'action

Le genre *Trichoderma* a été expérimenté avec succès contre des *Fusarium*, des *Pythium* et des *Phytophthora* (Dubos et Ricard 1974).

III.2.6- Mycoparasitisme et enzymes lytiques

L'abondance de *Trichoderma sp.* dans les écosystèmes est due à leur production élevée d'enzymes hydrolytiques et leur mycoparasitisme basé sur la sécrétion d'un ensemble complexe dégradant la paroi cellulaire de divers hôtes. Un système multi-enzymatique important a été décrit chez des espèces de *Trichoderma* : les cellulases, les chitinases, -1,3-glucanases, -1,6-glucanases et des protéases (Howell 2003).

III.2.6.1- La Stimulation

Trichoderma sp. perçoit la présence de son hôte, ses hyphes se dirigent directement vers lui par chimiotropisme. Différentes espèces peuvent suivre différents modèles d'inoculation, mais en général, il catalyse la libération des oligomères de la paroi fongique du champignon cible, et à leur tour en induisent l'expression des endochitinases qui attaqueront le champignon cible avant le contact (Brunner et al., 2003).

III.2.6.2- La Reconnaissance et l'Enroulement

L'attachement se fait par la liaison des glucides de la paroi fongique du *Trichoderma* à des lectines sur le champignon cible. Une fois que le *Trichoderma* est attaché, il s'enroule autour de l'agent pathogène et forme des appressoriums contenant des concentrations élevées des solutés osmotiques tels que le glycérol (Benitez et al., 2004) (figure 16).

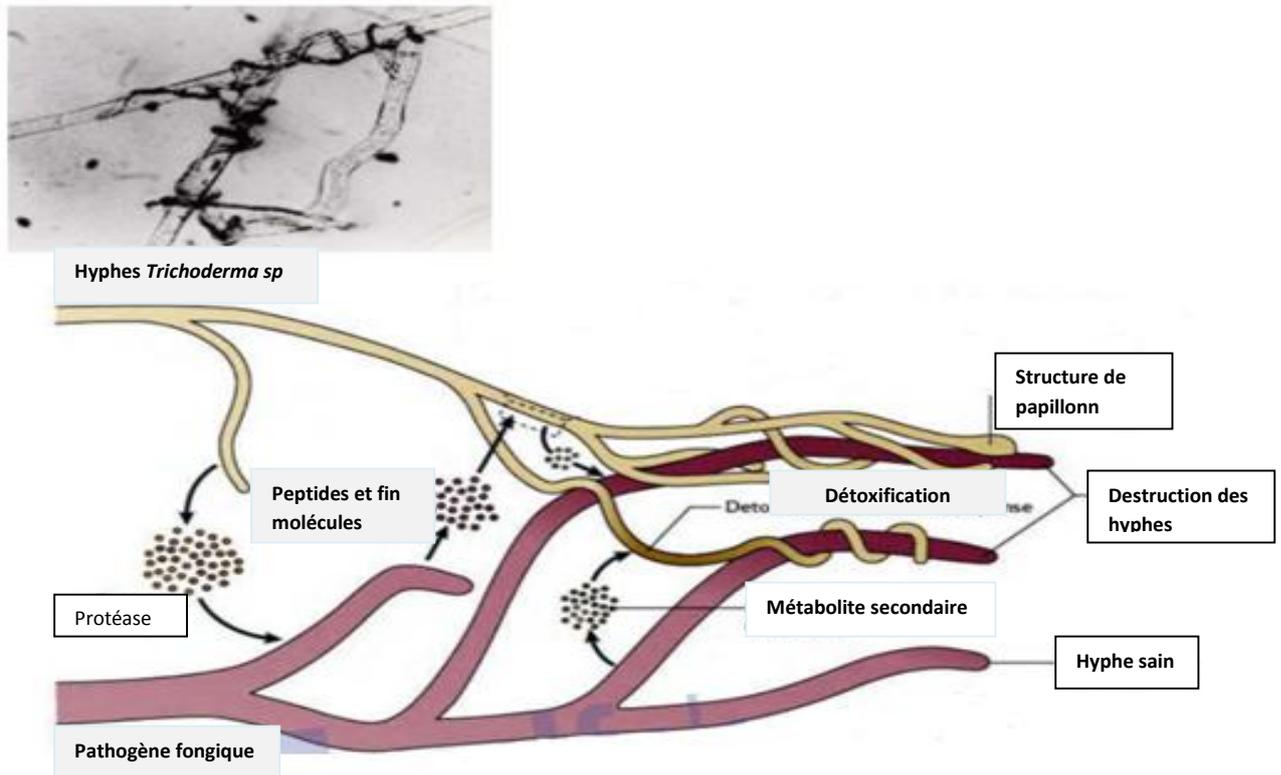


Figure 16 : Mécanismes de mycoparasitisme exercés par les souches de *Trichoderma*

(D'après **Druzhininina et al., 2011**)

III.2.6.3- La pénétration et la lyse

La production des enzymes lytiques et des peptaiboles permet l'entrée des hyphes de *Trichoderma* dans les hyphes du parasite et facilite ainsi l'assimilation du contenu cellulaire de l'hôte (**Howell, 2003**).

III.2.7- Antibiose et métabolites secondaires

L'antibiose est le processus de sécrétion des composés antimicrobiens par des champignons antagoniste pour lutter contre les agents pathogènes dans leurs zones de croissance. Les *Trichoderma* sp. produisent des antibiotiques potentiels mais aussi plus de 100 métabolites avec une activité antibiotique, y compris de Pyrones, Terpènes et des Polypeptides utilisés dans la chimio-taxonomie des espèces (**Keszler et al., 2000**).

III.2.8- Compétition pour les nutriments et l'espace

La compétition pour le carbone, l'azote et d'autres facteurs de croissance, ainsi que la celle pour l'espace ou les sites spécifique d'infection, sont utilisées par les agents de lutte biologique. *Trichoderma sp.* a une forte capacité à utiliser et métaboliser les nutriments du sol, qui le rend plus compétitif à de nombreux micro-organisme du sol (**Benitez et al., 2004**). *T. harzianum* est capable de contrôler *Botrytis cinerea* agent de la pourriture gris chez le raisin en colonisant les floraux et éliminant le pathogène de son site d'infection.

Partie II:

Matériels et méthodes



1- Matériels biologiques utilisés

1.1- Matériel végétal

Nous avons utilisé la variété de tomate : Super strain (Agreto vegetable seeds), elle nous a été procurée par des distributeurs de semences, leurs caractères sont résumés dans le tableau suivant (tableau 5) :

Tableau 5 : Quelques caractères de variété étudiée

Variété	Super strain
Pureté	99%
Taux de germination	89%
Type	Traditionnelle
L'origine de la variété	USA
Traitement de semence	Thiram
Calibre	100g- 250g
Résistance aux maladies	Moyennement résistante

1.2- L'agent antagoniste

L'agent de lutte biologique *Trichoderma viride* a été isolé du sol provenant de la région agricole de Jijel, a été utilisé dans des tests de confrontation directe et à distance *in-vitro* afin de prouver leur activité inhibitrice contre différents agents phytopathogènes. Identifier au laboratoire de Mycologie Appliquée et Biotechnologie Microbienne le guide de détermination (**Botton et al., 1990**). Université Constantine 1.

1.2.1- La préparation de l'inoculum de *Trichoderma viride*

La multiplication de *Trichoderma viride* a été réalisée dans des boîtes de Petri contenant un milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar, 200g pomme de terre, 20g D-glucose, 20g agar, 1L eau distillé, ajuster le pH à 6 et stérilisé le milieu (**Davet et Rouxel, 1997**)) préalablement autoclavé pendant 25 mn sous une pression de 1 bar et une température de 120 °C. Ces boîtes sont ensuite incubées à la température de 25 °C pendant 6 jours. A la fin de l'incubation, pour préparer la suspension conidienne (figure 17), 10 ml d'eau distillée stérile a été versée à la surface de chaque colonie. A l'aide d'une pipette pasteur coudée, la surface mycélienne est raclée légèrement afin de

libérer les conidies. La concentration conidienne a été évaluée à l'aide d'une cellule Thoma, puis ajusté à 10^6 conidies/ml avec de l'eau distillée stérile (Davet, 1979).



Figure 17 : Préparation de l'inoculum de *Trichoderma viride*

1.3- Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)

Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont constitués de deux souches: la souche 1 (*Glomus sp.*) et de la souche 2 (*Acaulospora sp.*) extraites du sol provenant de la région agricole de Bouhamdoune. Jijel (figure18), clé de référence (Dalpé, 2005 ; Fortin et al., 2011). Identifiés au laboratoire de contrôle de qualité. Université Mohamed Seddik Benyahia. Jijel.

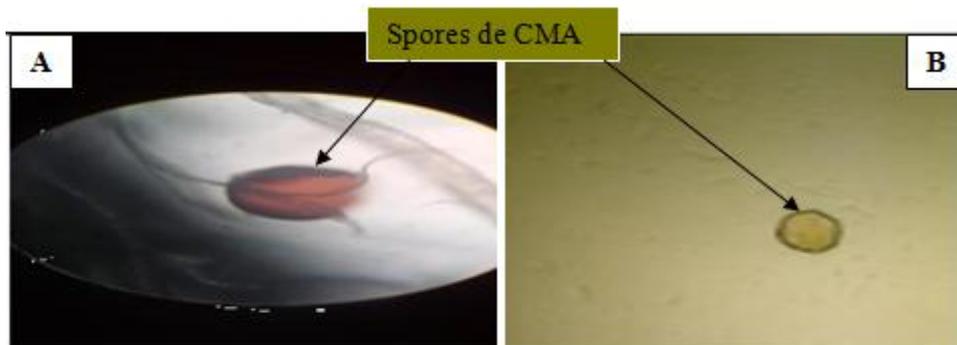


Figure 18 : Spores des CMA (A : *Glomus sp.* et B : *Acaulospora sp.*) sous microscope optique

1.3.1- La préparation de l'inoculum de CMA

La production d'inoculum consiste à multiplier les deux souches de CMA au laboratoire de contrôle de la qualité et de conformité (laboratoire Normalys « 06, Rue Ibn Khaldoune 18000. Jijel – en face du siège de la Daïra de Jijel »). Cette pré-mycorhization a pour but d'enrichissement de la terre en inoculum mycorhizien.

A cet effet, des plantes de maïs (*Zea mays*), sont cultivées dans des pots contenant 500 g du sol stérile, inoculés par 20 ml d'inoculum pour chaque souche de CMA. Ces pots sont arrosés régulièrement par de l'eau robinet. La multiplication d'inoculum est obtenue après deux (2) mois de culture, et il est constitué d'un mélange des spores, des fragments des racines mycorhizées de maïs et du sol (figure 19) (Haro, 2011).

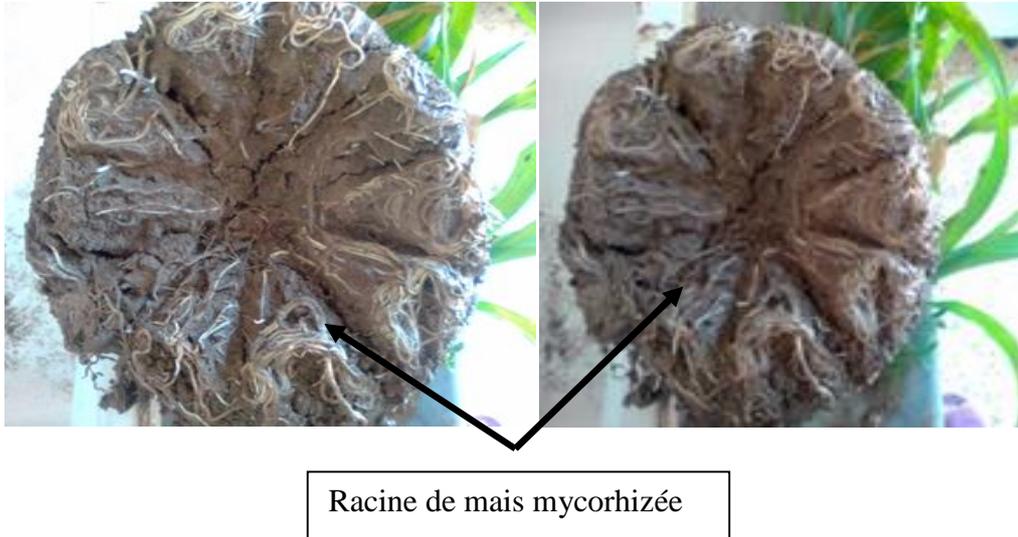


Figure 19: La multiplication des CMA avec la plante de maïs (*Zea mays*)

1.4- L'agent pathogène

L'isolat de *F. oxysporum* a été obtenu sur base d'isolement réalisé à partir des palmes du palmier dattier présentant des symptômes de la fusariose, prélevée de la région d'Oumache. Biskra. L'identification de l'agent pathogène a été réalisée microscopiquement et ce, d'après les caractéristiques des macroconidies, des phialides et des chlamydo-spores, selon la clé de détermination présentée par (Nelson et al., 1983).

1.4.1- Multiplication du *F. oxysporum*

La multiplication de l'inoculum a été réalisée en ensemençant des fragments d'isolat pur dans des boîtes de Petri contenant chacune un milieu PDA. Les boîtes de Petri sont ensuite incubées à une température de 25°C pendant 8 jours. Pour la préparation de la suspension conidienne, 10 ml d'eau distillée stérile sont versés à la surface de chaque colonie (figure 20). A l'aide d'une pipette Pasteur coudée, la surface mycélienne est raclée légèrement afin de libérer les conidies. La concentration conidienne a été évaluée à l'aide d'une cellule Thoma, puis ajustée à 10^6 conidies /ml avec de l'eau distillée stérile (Benhamou et al., 1997).



Figure 20 : Préparation de l'inoculum de *Fusarium oxysporum*

Le test rapide de pathogénicité a consisté à inoculer des graines de tomate (Super strain) sur milieu gélosé avec l'isolat de *F. oxysporum* identifier en raison de montrer la capacité de cet isolat d'induire des symptômes de la fusariose sur les plantes de la tomate.

Le test rapide de pathogénicité sur les graines a consisté à tremper des graines de tomate (Super strain), préalablement désinfectées à l'eau d'javel 1% pendant cinq (05) mn, dans une suspension conidienne de *F. oxysporum* à 10^6 conidies/ml. Puis ces graines infestées sont ensemencées sur un milieu gélosé contenu dans deux boîtes de Petri à raison de dix graines par boîte. Une boîte de Petri contenant un milieu gélosé et dix graines de tomate non inoculées a servi de témoin. Sept jours plus tard, le taux de germination a été évalué à 50% de germination pour les graines infestées contre 100% de germination pour le témoin (Hajlaoui et al., 2001).

1.5- Mise en place de l'expérience

Notre expérience menée du 03 mars 2019 dans la localité d'Emir Abdelkader, le but est d'évaluer le bénéfice potentiel de l'application des mycorhizes et *T. viride* sur la croissance des plantules de tomate (Super strain). L'expérience a été réalisée en plein champ. La température de jour était de 18 °C et la température de nuit 6 °C, l'humidité relative de 80% et la photopériode de 12 heures.

1.5.1- Désinfection et pré-germination des graines de tomate (Super strain)

Les graines de tomate (Super strain) sans défauts physiques visuels ont été sélectionnées. Celles-ci ont été désinfectées superficiellement par trempage dans l'eau d'javel à 1% pendant cinq (05) minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile afin d'éliminer les traces de l'eau d'javel. Après séchage, les graines étaient mises aseptiquement dans des boîtes de Petri stériles contenant des papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile, à raison de 20 graines réparties

uniformément sur toute la surface de la boîte. La germination des graines était assurée par incubation de ces boîtes dans une étuve réglée à 20 °C pendant 4 à 5 jours (figure 21). Une fois pré-germées, les graines étaient repiquées dans des pots contenant de la tourbe préalablement stérilisée par autoclavage pendant 30 min sous une pression de 1bar et une température de 120 °C (Benhamou *et al.*, 1997).

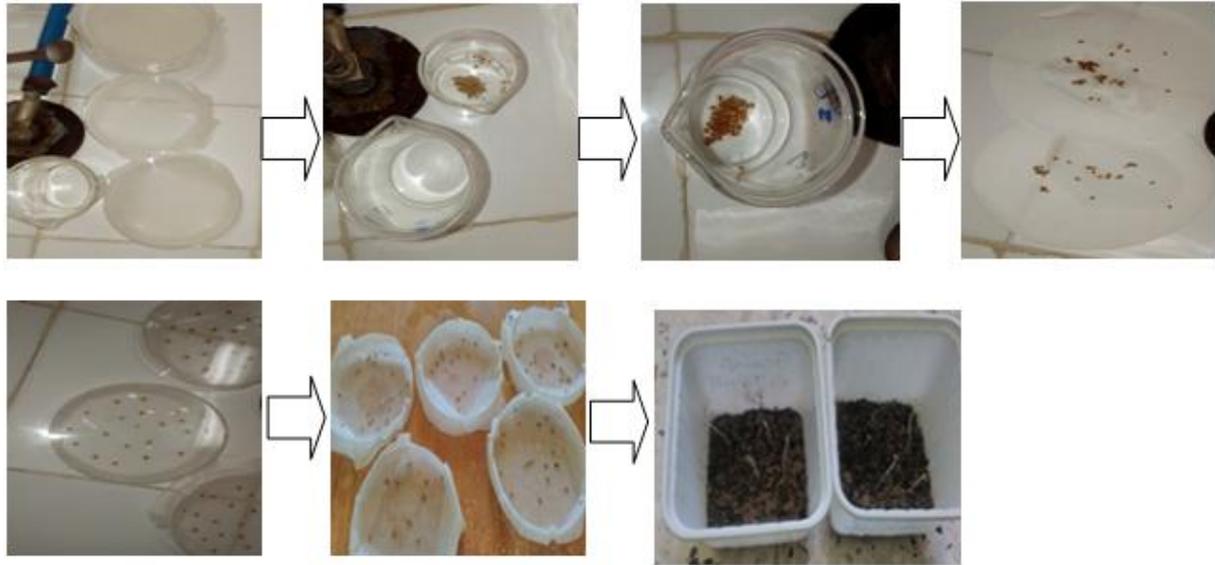


Figure 21 : Les différentes étapes de préparation des graines (dès la désinfection jusqu'à la germination)

1.5.2- La préparation du sol

La préparation du sol a été réalisée en effectuant un volume équilibré à raison de 50% du sol, et 50% de fumier. Le sol et le fumier ont été tamisés pour éliminer les gros débris pouvant empêcher la germination. Le mélange a été stérilisé dans une étuve à une température de 150 °C pendant une heure. Après refroidissement, le mélange a servi à remplir les sachets en polyéthylène (7,5 cm de diamètre et 12 cm de hauteur); puis arrosé pour stabiliser le sol. Ce dernier a été laissé au repos pendant 10 jours pour permettre la reprise de son activité biologique du sol. Dix (10) jours après stabilisation du sol, le repiquage des plantules de tomate était réalisé lorsque ces dernières atteignaient le stade de deux feuilles bien étalées (Elad *et al.*, 1980). La transplantation des plantules était réalisée dans le mélange préparé. Les plantules de tomate sont arrosées régulièrement chaque deux (2) jour par de l'eau normale. Les pots (sachets) sont arrosés chaque quinze (15) jours avec une solution nutritive par litre de KH_2PO_4 : 1 g ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,5 g ; NaNO_3 : 1g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: des traces; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 1g préparé selon la méthode de Hoagland *et Arnon* (1950), avec une Légère modification.

1.5.3- Le dispositif expérimental de l'essai

Le dispositif expérimental est composé de sept (7) traitements et en quatre (4) répétitions

T0: Témoin négatif sain ;

T1 : Témoin positif *Fusarium oxysporum* ;

T2: Témoin de CMA ;

T3 : Témoin de *T. viride* ;

T4 : Test d'infection *F. oxysporum* traité par *T. viride* seul ;

T5 : Test d'infection *F. oxysporum* traité par CMA seul ;

T6: Test de combinaison CMA et *Trichoderma viride*.

1.6- Mode d'inoculation

Les plantules de tomate variété ont été inoculées par injection au niveau du système racinaire, selon la technique de **Souna et al.**, (2010), dans la suspensions des conidies de 10^6 spore/ml pour *T. viride* et *F. oxysporum* pour chaque isolat, par l'ajout de 40 g du sol contenant les racines de *Zea mays* associées avec les CMA. Le témoin négatif a subit uniquement un trempage des racines dans l'eau distillée stérile pendant une heure (figure22).



Figure 22 : Témoin négatif sain

1.6.1- L'inoculation des CMA

L'inoculation des CMA a été faite juste avant le repiquage et chaque poquet de repiquage des traitements T2 et T6 a reçu 40 g d'inoculum de CMA (figure 23).



Figure 23 : Témoin de CMA

1.6.2- L'inoculation de *Trichoderma viride*

L'inoculation de *Trichoderma viride* a été faite juste après le repiquage par injection de la zone rhézosphérique des racines des plants de tomate par une suspension conidienne de 10^6 conidies/ml; (chaque poquet de repiquage des traitements T3 et T6 a reçu 10 ml d'inoculum de *Trichoderma viride*) selon la méthode de **Davet en 1979** (figure 24).



Figure 24 : Inoculation de *Trichoderma viride*

1.6.3- L'inoculation de *F. oxysporum*

L'inoculation de *F. oxysporum* a été faite après repiquage. Ainsi, chaque plant de tomate T1, T4, T5 a reçu au niveau du collet et des racines 10 ml d'inoculum de *F. oxysporum* à 10^6 conidies/ml (figure 25).



Figure 25 : Inoculation de *F. oxysporum*

1.6.4- Test de combinaison

Chaque plant de tomate T6 a reçu avant le repiquage, les souches de CMA (40 g d'inoculum mélangé avec le sol et les racines de *Zea mays*), et 10 ml d'inoculum de *Trichoderma viride* à 10^6 spore/ml injecté au niveau des racines (figure 26).



Figure 26 : Inoculation du poquet de traitement T6 par *T. viride*

1.6.5- Traitement

Après quinze jours (15) d'infection, le poquet qui a subi l'inoculum juste après le repiquage (T4), est traité par *T. viride*. Alors que, les poquets T5 et T6 sont subis un traitement préventif après repiquage selon la méthode de (Woo *et al.*, 1996).

1.7- La collecte des données

La notation des symptômes de la fusariose a été réalisée quinze jours (15) après l'infection par *F. oxysporum* à partir de la date d'inoculation (18/03/2019). La mesure de l'état sanitaire des plants est

basée sur une échelle de notation des symptômes de la fusariose (**Vakalounakis et Fragkiadakis, 1999**) (tableau 6) comprenant quatre valeurs:

Tableau 6 : Les symptômes de la fusariose (Vakalounakis et Fragkiadakis, 1999)

Valeurs	Symptômes
1	plante saine ;
2	léger jaunissement, légère pourriture du collet et des racines secondaires et pourriture du collet ;
3	jaunissement important des feuilles avec ou sans flétrissement, rabougrissement des plantes, pourriture sévère du pivot et des racines secondaires, pourriture importante du collet et brunissement des vaisseaux de la tige ;
4	mortalité de la plante.

Sur la base de ces notations, on a calculé l'incidence de la maladie (%) en utilisant la formule suivante (**Song et al., 2004**) :

(Le nombre des plants infecté / Le nombre totale des plantes inoculés) *100

La réduction de l'incidence de la maladie (%) a été calculée selon la formule suivante (**Song et al., 2004**) :

$$\left(\frac{\text{Incidence de la maladie du témoin inoculé} - \text{incidence de la maladie des plants traités}}{\text{Incidence de la maladie du témoin inoculé}} \right) *100$$

1.7.1- Mesure des paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain)

Les parties aérienne et racinaire des plantes de chaque pot ont été prélevées afin d'évaluer l'effet de chaque isolat fongique. Différents paramètres de croissance ont été mesurés : la taille, le nombre des feuilles et folioles. Ces mesures ont été effectuées sur un plant de tomate par pot et quatre pots par condition (témoin négatif sain, témoin positif de *F. oxysporum*, témoin de *T. viride*, témoin des mycorhizes, test d'infection par *F. oxysporum* traité par *T. viride* seul, test d'infection par *F. oxysporum* traité par CMA seul et le test de combinaison (*T. viride* et les CMA)) (**Caron et al., 2002**).

a- La taille a été mesurée à partir du collet jusqu'à l'apex de la dernière feuille du brin principal. Ainsi que, on mesurant la longueur des racines et des feuilles et leur largeur.

b- Le nombre des feuilles et folioles.

c- Les poids secs et frais des parties aérienne et racinaire de chaque plant ont été pesés avant et après séchage dans l'étuve à 60 ° C pendant 48 h et pendant 4 jours. Le pourcentage de matière sèche pour la partie aérienne et le système racinaire a été calculé avec la formule suivante :

$$\% \text{ matière sèche} = 100 - ((\text{poids frais} - \text{poids sec}) / \text{poids frais}) * 100.$$

Le pourcentage en eau a été calculé avec la formule suivante :

$$\% \text{ en eau} = 100 - (\% \text{ matière sèche}).$$

1.7.2- La vérification de la présence de l'agent pathogène, de *Trichoderma* et des CMA

1.7.2.1- Le ré-isolement de *F. oxysporum*

Le ré-isolement de *F.oxysporum* a été fait conformément à la méthode d'isolement à partir du sol par la méthode de dilution et à partir des fragments du différents organes de la plante donc, différentes parties (racine, tiges et feuilles) des échantillons des plants de tomate présentant des symptômes de la fusariose ont été coupés en fragments d'environ 1 cm, puis désinfectés superficiellement par trempage dans de l'eau de javel à 1% pendant cinq (05) minute. Les fragments sont ensuite rincés avec de l'eau distillée stérile et séché entre 2 papiers filtre stérile. Une fois séchés, les fragments sont déposés dans des boîtes de Petri contenant le milieu PDA. Les boîtes de Petri ont été mises en incubation à une température de 25 °C pendant six (06) jours. La purification de *F. oxysporum* a été réalisée en repiquant successivement des fragments de colonie fongique. L'identification de l'agent pathogène a été réalisée au microscope, d'après les caractéristiques des macroconidies, des phialides et des chlamydo-spores la forme et la couleur rose des colonies (**Woo et al., 1996**) (figure 27).



Figure 27 : Les étapes de ré-isolément de *Fusarium oxysporum*

1.7.2.2- Le ré-isolément de *Trichoderma viride*

Un gramme (1 g) de l'échantillon du sol de chaque traitement (T3, T4 et T6) ayant reçu la souche de *Trichoderma viride* a été introduite dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée stérile. A l'aide d'une pipette Pasteur, cinq (05) gouttelettes de la solution du sol ont été déposées dans des boîtes de Petri contenant un milieu PDA. Ces boîtes de Petri ont été mises en incubation sous une température de 25°C pendant six (06) jours. A la fin de l'incubation, l'identification est faite sur la base des caractères cultureux du champignon et des organes de fructifications (colonie, phialides et conidies) (McGovern et al., 1992).

1.7.2.3- La vérification de la présence des CMA

A la fin de l'expérimentation, un prélèvement aléatoire d'environ 1 g des racines fines de chacun des traitements modalité (T2, T5 et T6) ayant reçu les souches de CMA a été fait. Ces racines ont été colorées au laboratoire de contrôle de qualité. Université Mohamed Seddik Benyahia. Jijel.

1.7.2.4- Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne

Pour la détection de la colonisation des racines par les CMA, un traitement et une coloration préalable des racines sont nécessaire. Pour cela, la méthode de Phillips et Haymann (1970) est utilisée avec une légère modification. Les racines sont d'abord lavées sous l'eau du robinet pour éliminer les débris et les particules du sol, ces racines sont coupées en morceaux, de 1cm de long, placées dans un bain de potasse (KOH) (10%) et chauffée à une température de 90 °C durant 30 mn pour vider les cellules, rincées dans l'eau distillée stérile trois (03) fois successives afin

d'éliminer toute trace de KOH, et placées dans une solution de bleu coton à 0,05% pendant 30 mn à une température de 90 °C (figure 28).

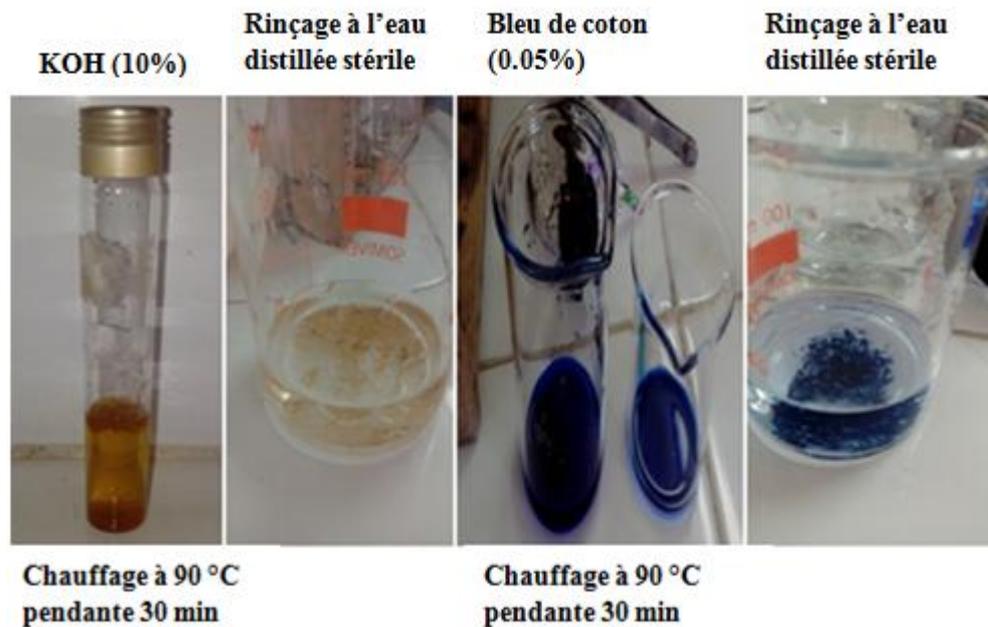


Figure 28: Schéma de coloration des échantillons racinaires

Les fragments des racines d'environ 1 cm de longueur prélevés de chaque échantillon coloré ont été disposés parallèlement entre lame et lamelle. La mycorhization s'observe à l'examen au microscope photonique (X40) par une coloration bleue foncée des structures fongiques dans les racines.

1.7.2.5- Les paramètres d'évaluation

L'importance de la mycorhization est appréhendée à l'aide des paramètres suivants:

* Fréquence de la mycorhization F(%) :

$$F(\%) = (\text{nombre de fragments mycorhizés} / \text{nombre total}) \times 100$$

C'est le paramètre le plus utilisé.

* Intensité globale de la mycorhization I(%) :

$$I(\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / \text{nombre total des fragments.}$$

n_5 , n_4 , n_3 , n_2 et n_1 : représentent les nombres de fragments mycorhizés notés respectivement 5, 4, 3, 2 et 1 (Giovannetti et Gianinazzi-Pearson, 1994).

1.7.2.6- Extraction des spores de CMA à partir du sol

Les spores, qui sont un inoculum, ont été extraites et comptées dans le sol étudié. Un échantillon de 40 g a été prélevé. Les spores ont été séparées des particules des sols selon une méthode de tamisage par voie humide, adaptée de **Gerdemannet Nicholson (1963)** est utilisée avec une légère modification (figure 29). Le sol, dispersé dans 5 litre d'eau de robinet, a été versé sur le haut d'une série des tamis superposés du bas en haut selon la valeur grandissante de leur ouverture de maille (100 mm, 1 mm et 500 um). L'eau obtenue sera filtrée par des papiers filtres stériles, chaque fraction retenue a été observée à la loupe binoculaire afin de déterminer les spores. Dans un deuxième temps, les spores ont été triées sur la base de leur forme, de leur texture et de leur couleur afin d'identifier les différents morphotypes présents. Pour ce faire, nous avons utilisé des spécimens-types référencés sur le site INVAM [**I**nternational **C**ulture **C**ollection of (**V**esicular) **A**rbuscular **M**ycorrhizal **F**ungi] (<http://invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions>).

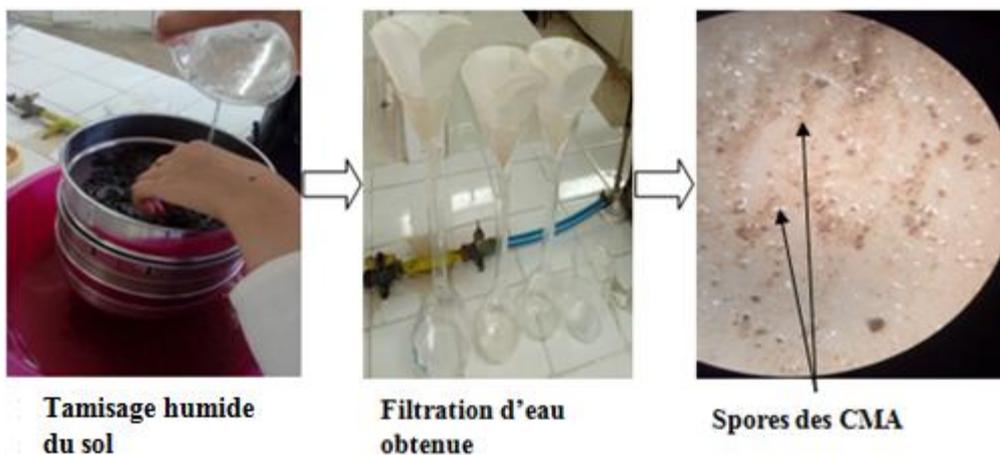


Figure 29 : Méthodes de tamisage et de filtration des spores de CMA

Partie III: **Résultats et discussions**



I- Développement de la maladie après quinze jours d'infection

I.1- Effets de *F. oxysporum* sur le développement des plantules de tomate (Super strain)

De très nombreux moyens ont été proposés pour estimer l'action du *Fusarium* en tant que parasite vasculaire de la tomate. Le plus généralement, on utilise des éléments d'observations liés à l'expression d'un ou plusieurs des symptômes externes induits par le champignon qui sont : des taches chlorotiques, jaunissement, nécrose et mort de la plante.

Il est à noter que les plantules de tomate (Super strain) inoculées par *F. oxysporum* ont montré un démarrage difficile (T1 et T4). Il semble donc que *Fusarium oxysporum* peut être considéré comme le principal auteur des perturbations enregistrées chez les plantules de tomate.

De plus, La progression de la maladie a été plus rapide et plus forte au niveau de (T1 et T4) par rapport aux autres poquets de traitements (T5 et T6) qui ont connu une faible progression de la maladie (figure 45, annexe 1). Le témoin négatif comportant des plantules préalablement trempées dans l'eau distillée stérile, n'ont montré aucun symptôme de maladie sur aucune partie des plantes, qui sont par conséquent intactes (figure 44, annexe 1), (tableau 9, annexe 2).

I.1.1- Effet sur la hauteur et poids des plants de tomate (Super strain) inoculés

Alors que, Les mesures des paramètres de croissance (la longueur, la largeur, le poids frais et sec, le nombre des feuilles et des folioles) (figure 46 et 47 ; annexe 1), (tableau 11 et 12 ; annexe 2) apparaissent faibles, des différences dans la réaction des plantules à l'inoculum de *F. oxysporum* apparaissent nettement quand on examine leur effet sur les hauteurs et les poids. Donc, la longueur des tiges du plants inoculés reste inférieure à 8.3 cm des poquets (T1 et T4) avec un diamètre plus faible de (9 - 6.5 et 8) cm et (9.5 - 8.3 et 10.5) cm correspond aux racines, tiges et feuilles respectivement, de plus, on a mesuré la largeur des feuilles, le nombre des feuilles et des folioles pour les même poquets qui est de 1.5 cm, (6 et 7), est de 2 cm, (5 et 6) respectivement. Les poquets qui sont subis un traitement préventif (T5 et T6) ont présenté des longueurs des racines, tiges et feuilles important, de largeur et nombre des feuilles et folioles qui sont des (9 - 7.5 - 9 et 2.5) cm, (5 et 7) ; (25 - 17.5 - 20 et 5.6) cm et de (9 et 11). Alors que, les plants témoins ont présenté la plus forte croissance variant de (19.5 - 11 et 10) cm, et la largeur des feuilles atteint 2 cm avec un nombre des feuilles et folioles qui est de (9 et 9) respectivement (tableau 11 ; annexe 1), (figure 30).

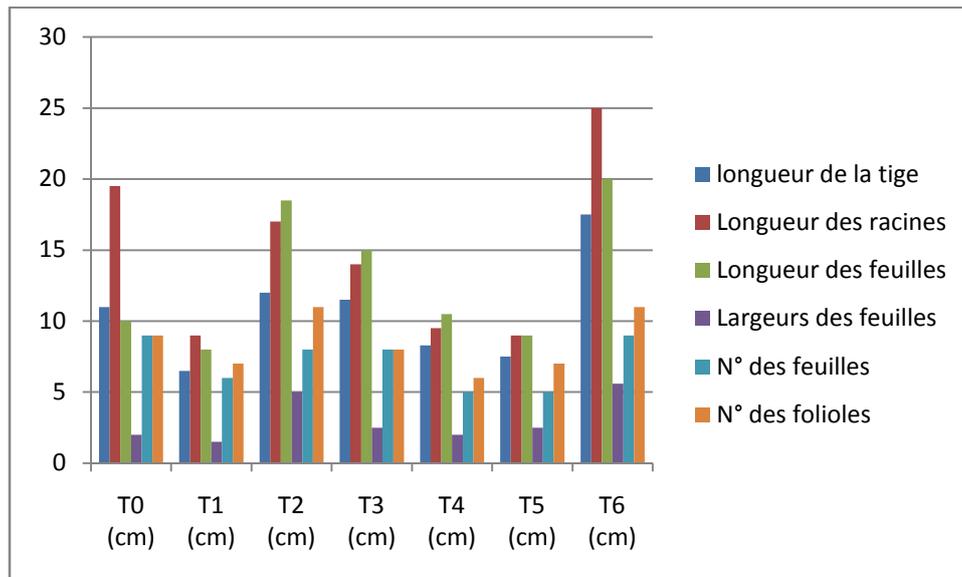


Figure 30 : Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

Les plantules de tomate ont montré des réductions importantes de poids frais et sec des parties aérienne et racinaire des poquets (T1, T4) qui atteignent (3.5 et 0.38 ; 0.2 et 0.02) g et de (1.9 et 0.21 ; 0.2 et 0.02) g respectivement comparativement au témoin sain (T0 et T3) qui atteignent (6.2 et 1.21 ; 0.9 et 0.02) g et de (5.1 et 0.65 ; 1.2 et 0.12). Les poquets qui ont subi un traitement préventif (T5 et T6) ont présenté un poids frais et sec plus important des deux parties végétatives qui atteignent (2.9 et 0.35 ; 0.2 et 0.03) g et (20.6 et 6.06 ; 3.5 et 0.83) g respectivement. Le témoin sain (T0) et (T2) présentent un poids frais et sec important pour les mêmes parties végétatives (6.2 et 1.21 ; 0.9 et 0.13) g et de (19.8 et 5.95 ; 3.29 et 0.80) g respectivement (figure 44 et 45 ; annexe 1), (tableau 12 ; annexe 2), (figure 31).

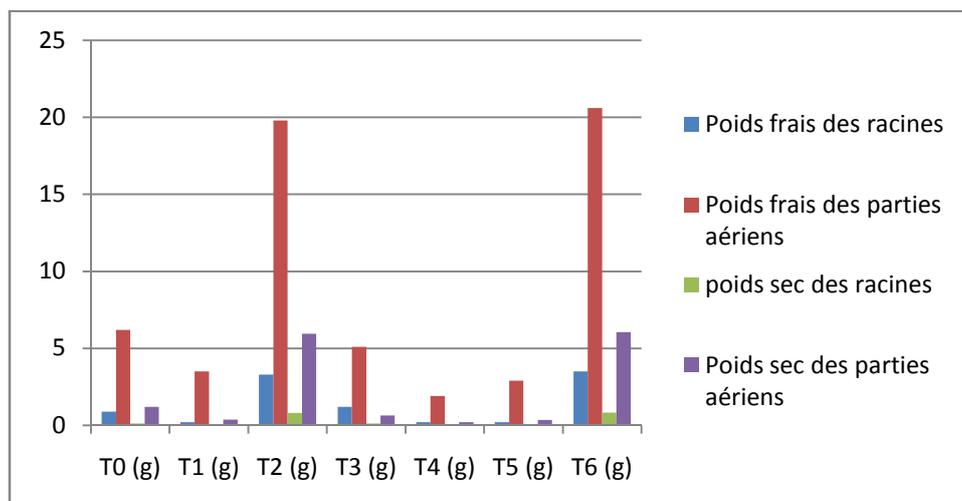


Figure 31 : Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

I.1.2- Effet de *F. oxysporum* sur les pourcentages de la matière sèche et en eau

Concernant la concentration de la matière sèche des parties aériennes et racinaires des poquets (T1 et T4), il y a un effet de l'agent pathogène qui se traduit par les dommages causés sur les organes végétatifs des plants. Cependant, les pourcentages enregistrés étaient de (10.85% et 10%) et (11.05% et 10%) que le témoin sain et T3 était de (19.51% et 14.44%) et (12.74% et 10%) respectivement. En effet, les pourcentages en eau des deux poquets (89.15% et 90%) et (88.95% et 90%) respectivement, étaient plus proches que le témoin sain et *T. viride* (T0 et T3), soit respectivement (80.49% et 85.5%) et (87.26% et 90%) ce qui prouve que les plantes apparaissent résistantes au début de l'infection. Par ailleurs, les pourcentages en matière sèche des parties aériennes et racinaires des poquets (T5 et T6) étaient plus grands que le témoin sain, (12.06% et 15%) et (29.41% et 23.71%) respectivement, alors que, le témoin sain qui a enregistré une valeur de (19.51% et 14.44%) respectivement. En outre, on a enregistré une variabilité des pourcentages en eau selon les poquets et l'état de chaque traitement qui sont de (87.94% et 85%) et (70.59% et 76.29%) respectivement comparativement au témoin (80.49% et 85.56%) (figure 32), (tableau 13 ; annexe 2).

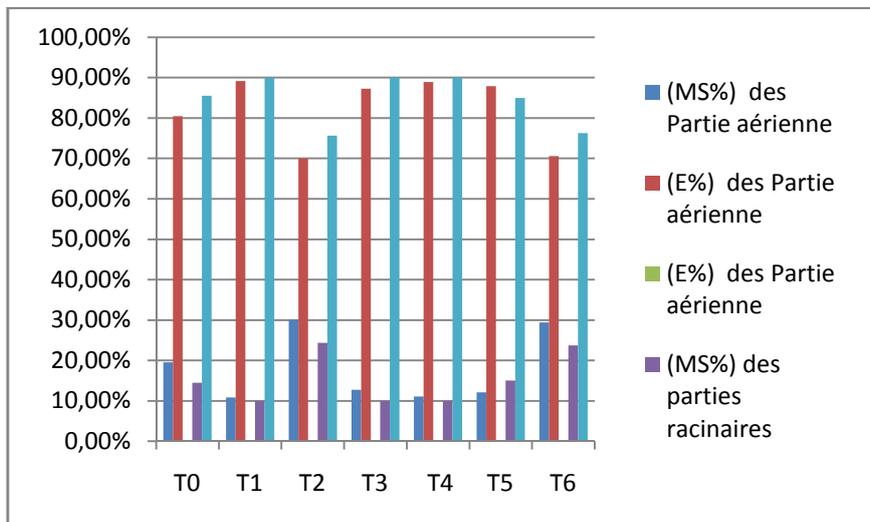


Figure 32 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection

I.1.3- L'incidence de la maladie de *F.oxysporum*

Les résultats obtenus confirment la pathogénicité de *F. oxysporum* qui produit de décoloration au niveau des feuilles et du collet des plantules de tomate (Super strain). Cependant, l'incidence de la maladie après (15) jours d'infection était de 50%, alors que, on a enregistré une diminution de cette

incidence après (22) jours de traitement, car les plantules ont récupère leurs activités de résister contre ce pathogène, qui est de 25% pour les poquets de traitement (T4, T5 et T6). Par ailleurs, les résultats obtenus ont révélé que l'incidence de la maladie de poquet T1 est plus forte qui est de 75% après (15) jours d'infection. Cette incidence augmente avec le temps parce que la maladie se progresse graduellement est atteint 100% après (37) jours d'infection. (tableau 17; annexe 2), (figure 33).

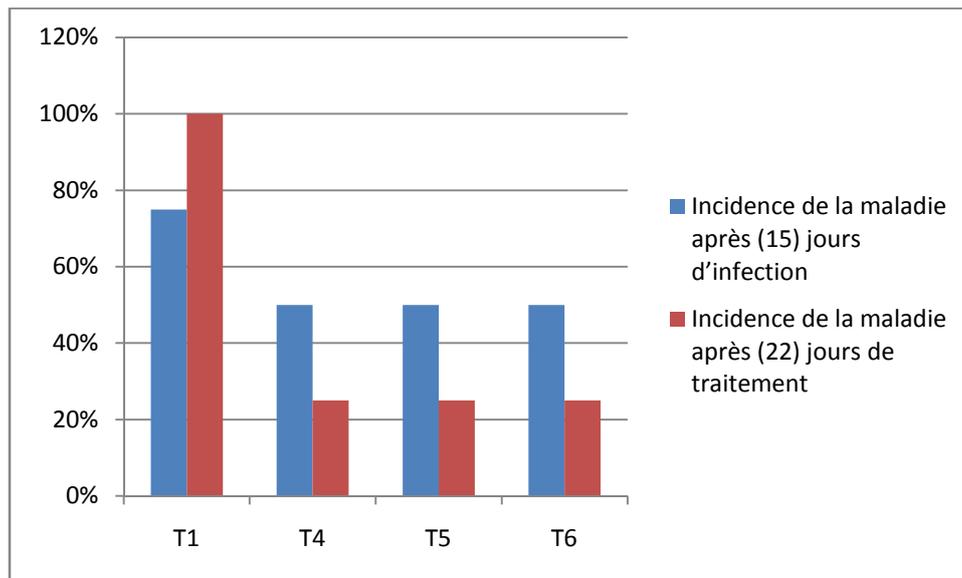


Figure 33 : Incidence de la maladie de fusariose

Certaines plantules (T4, T5 et T6) sévèrement atteinte montrent une prolifération des racines adventives (figure 48 ; annexe 1), cela est sûrement dû à un mécanisme de défense mis en place par la plante pour remplacer son système racinaire endommagé et assurer sa survie et son approvisionnement en eau et sels minéraux.

II.1- Réduction de la maladie après traitement par *T. viride*

II.1.1- Effet de *T. viride* sur l'incidence de la maladie

Les résultats obtenus ont révélé une réduction de l'incidence de la maladie qui atteint (50%) pour chaque poquet de traitements (T4 et T6). La comparaison des plants traités par *T. viride* (T4 et T6), par rapport à celles des plantes témoins sain n'a révélé aucune différence. Mieux encore, les plants traités par l'agent de biocontrol ont eu une croissance végétative plus importante (Figure 38 ; annexe 1). Ces résultats montrent ainsi l'efficacité de *T. viride* qui a put arrêter et même éliminer la maladie. Cela s'explique par une activation du système de défense de la plante. La comparaison du système racinaire des plants traités par *T. viride* (T4 et T6) à celui des plants témoins inoculés (T1)

(Figure 50 et 51 ; annexe 1), montre une nette différence entre les deux. En effet, pour les plants traités par *T.viride*, le système racinaire se développe normalement et aucun brunissement ou pourriture ne sont observés. Cette résistance se traduit par un développement normal des plants de tomate présentant un système racinaire vigoureux en le comparant au témoin sain (figure 34), (figure 52 ; annexe 1).

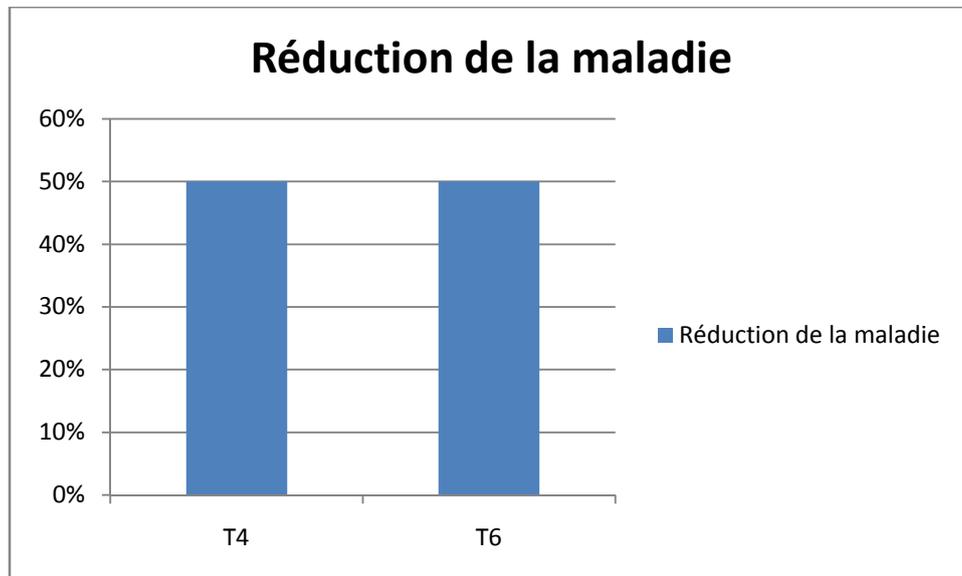


Figure 34 : Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par *T. viride*

II.1.2- Effets de *T. viride* sur les paramètres de croissance (longueur et le poids frais et sec) des plantules de tomate (Super strain)

Selon les résultats obtenus la croissance en longueur des plantules des poquets (T3, T4 et T6) ont une meilleure croissance des racines, tiges et feuilles qui est de (24.9 - 36.8 et 26.1), (25 - 43.6 et 23.4) et (37.4 - 48 et 34.5) cm respectivement. De même, la largeur, le nombre des feuilles et des folioles était de 18.4 cm (10 et 10), 22 cm (11 et 9) et 24.7 cm (11 et 11), comparativement de ceux enregistré chez le témoin sain qui est de (18.2 - 28 et 25.8) cm et de 14.5 cm (10 et 9) (figure 35), (tableau 14 ; annexe 1), (figure 49 ; annexe 1).

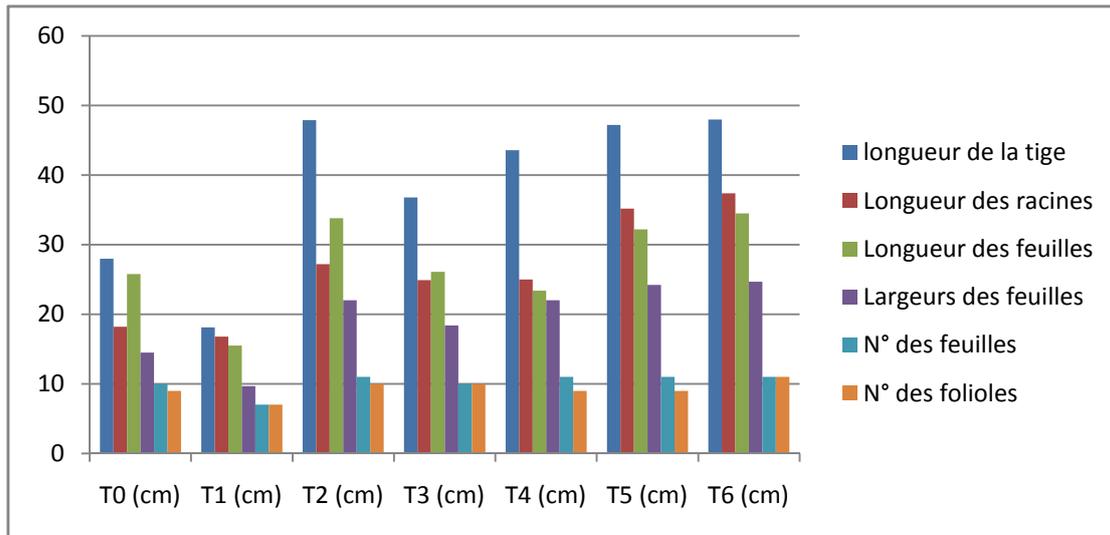


Figure 35 : Amélioration des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt-deux (22) jours de traitement

En effet, l'estimation du poids frais et sec des parties racinaires et aériennes a montré un grand poids qui est de (11.48 et 3.01 ; 39.47 et 17.38), (14.16 et 4.73 ; 46.21 et 21.25) et (19.6 et 8.28 ; 76.83 et 38.49) g respectivement comparativement au témoin sain qui est représenté par (5.13 et 1.18 ; 20.99 et 12.09) g respectivement (figure 36) (figure 50 et 51 ; annexe 1) (tableau 15 ; annexe 2).

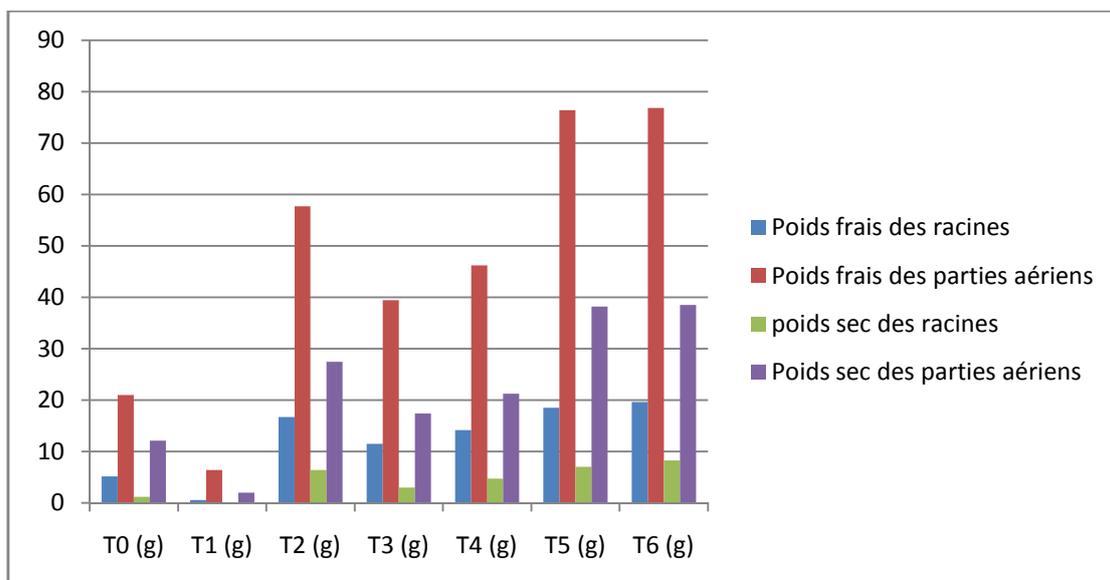


Figure 36 : Evaluation du poids frais et sec des deux parties végétatives des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement

II.1.3- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par *T. viride*

Les résultats obtenus ont révélé que les pourcentages en matière sèche des parties aériennes et racinaires du poquet (T4) est de (45.98% et 33.40%) respectivement comparativement au témoin sain et de *T. viride* (T0 et T3) qui ont révélé plus grand (61.45% et 23%) et (44.03% et 26.21%) respectivement. Par conséquent, les pourcentages en eau des deux parties végétatives sont importante dans le poquet (T4) est de (54.07% et 66.60%) respectivement et comparativement au témoin sain et *T. viride* (T0 et T3) qui sont de (38.55% et 77%) et (55.97% et 73.79%) respectivement. (figure 37), (tableau 16 ; annexe 2).

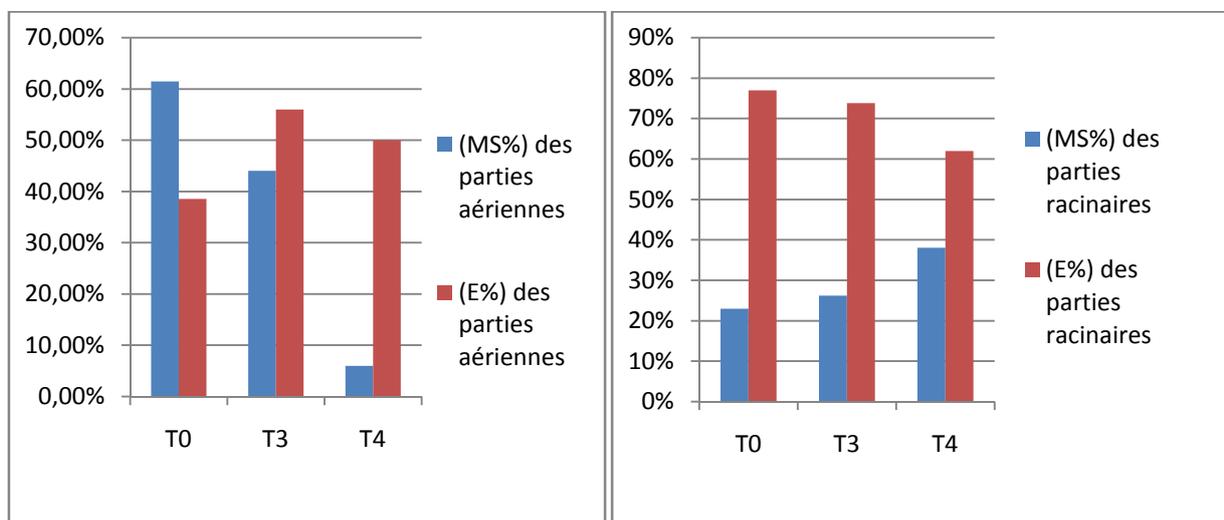


Figure 37 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement

II.2- Effet des CMA sur le développement des plantules de tomate

A ce jour, le potentiel des CMA dans la protection des plantes a été décrit le plus souvent dans le cas d'infections racinaire, mais très peu dans les maladies foliaires. De plus, l'effet protecteur des CMA a été rapporté dans le cadre d'interactions plantes/champignons nécrotrophe comme *Botrytis*, mais pas du tout dans le cas des agents fongiques biotrophes comme oïdium.

II.2.1- Estimation des paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain) mycorhizés

Les résultats des mesures des paramètres de croissance des plants de tomate (la longueur des racines, des tiges, longueur et largeur des feuilles, le nombre des feuilles et des folioles, poids frais et sec des parties racinaires et aériennes) sont présentés dans le (tableau 14 et 15; annexe2).

Les résultats montrent que la mycorhization stimule la croissance des plantules de tomate (Super strain) inoculées par rapport au témoin sain ; son effet se manifeste par :

- L'augmentation des paramètres de croissance des plants mycorhizés par rapport au témoin sain et,
- L'importance du chevelu racinaire chez les plants inoculés.

Les résultats obtenus montrent une différence de croissance entre les plants de tomate mycorhizés (T2, T5 et T6) et le témoin sain. Donc, les plantules inoculées par CMA ont une longueur des racines plus importante qui atteint (27.2 - 35.2 et 37.4) cm respectivement que celle des plantules de témoin sain non mycorhizées est de 18.2 cm (figure 49 et 51 ; annexe 1). Par ailleurs, la longueur des tiges et des feuilles des même poquets de traitement représente (47.9 et 33.8), (47.2 et 32.2) et (48 et 34.5) cm respectivement. De plus, on a constaté que les feuilles des plants mycorhizés apparaissent très large avec (22 ; 24.2 et 24.7) cm et un stade de 11 feuilles pour chaque poquet et un nombre des folioles de (10; 9 et 11) (tableau 14; annexe 2). Trois mois de croissance, les poids de la matière sèche et fraîche aérienne et racinaire des plants inoculés été plus grands que le témoin, une augmentation a été enregistrée (27.46 et 57.71 ; 6.38et 16.73), (38.2 et 76.83 ; 7.04 et 18.5) et (38.49 et 76.83 ; 8.28 et 19.6) g. Alors que, chez le témoin est de (12.09 et 20.99 ; 1.18 et 5.13) g respectivement (figure 50 et 51 ; annexe1), (tableau 15 ; annexe 2).

Les résultats obtenus ont révélé que la combinaison entre l'inoculum des CMA et de *T.viride* a eu des effets sur les paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain) inoculés (T6), qui s'est manifesté par une croissance vigoureuse et un système racinaire plus développé. De cet essai il en ressort que la meilleure croissance des plants de tomate a été obtenu après inoculation par combinaison entre les CMA et *T. viride*, suivi par des plants inoculés par les CMA seul (T5), et enfin le test d'inoculation par *T. viride* seul (T4), comparativement aux témoins sain (T0) et témoin inoculée (T1) (figure 49, 50 et 51; annexe 1), (tableau 14 et 15 ; annexe 2). Les résultats révèlent que le traitement des plantules de tomate par CMA et *T.viride* ont eu un effet synergique pour le contrôle de *F.oxysporum*. En effet, le traitement avec ces deux agents de biocontrol séparément ont un effet inférieur qu'en synergie.

II.2.2- Estimation des paramètres d'inoculation mycorhizienne des plantes de tomate

On constate que la fréquence de mycorhization (F) atteint un niveau de 68.75%. Quant l'intensité de colonisation du cortex racinaire (I) est faible, elle est de 26.75%. Ceci est dû à la courte durée de

vie des arbuscules (une à trois semaines) qui dégénèrent ensuite pour être remplacés par les hyphes et des vésicules qui persistent jusqu'à la mort de la cellule.

II.2.3- Effets des CMA sur l'incidence de la maladie

La mycorhization des plants de tomate permet une bonne croissance et une réduction de la sévérité des attaques dues à *F.oxysporum*. Alors que, la réduction de l'incidence de la maladie était de 50% pour les poquets (T5 et T6). La comparaison des plants traités avec les CMA à celles de témoin sain ont eu une croissance végétative plus importante (tableau 17 ; annexe 2), (figure 38). Ces résultats montrent ainsi l'efficacité des mycorhizes qui ont pu arrêter et même éliminer la maladie.

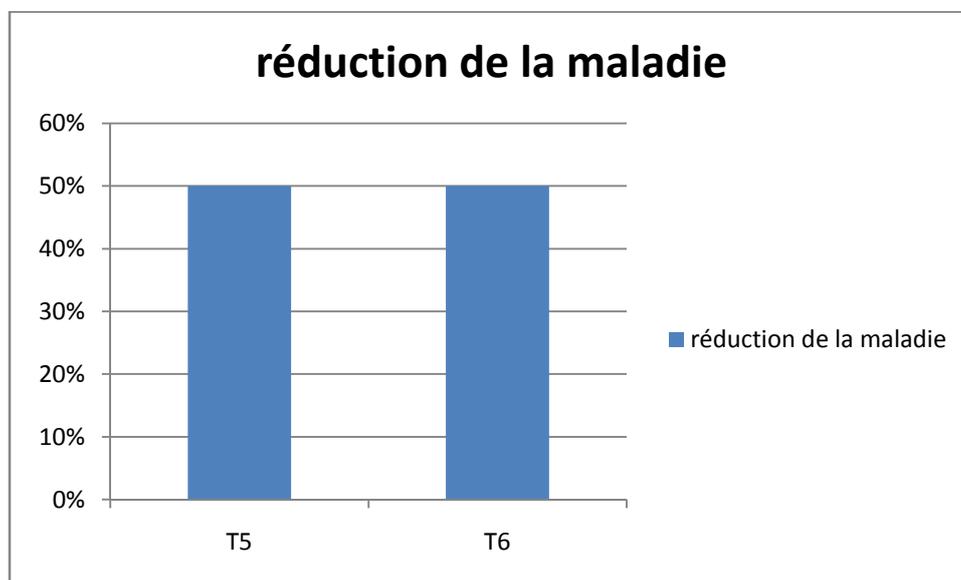


Figure 38 : Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par les CMA

II.2.4- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par CMA

Alors que, les pourcentages en matière sèche des parties aériennes et racinaires des poquets (T2, T5 et T6) sont atteints (47.42% et 40.82%), (49.98% et 38.05%) et (50.36% et 42.24%) respectivement comparativement au témoin sain (61.45% et 23%) respectivement. De plus, on a constaté que les pourcentages en eau sont plus grands que ce du témoin, ce qui indique le rôle majeur des CMA d'améliorer l'absorption en eau qui est de (52.58% et 59.18%), (50.02% et 61.95%) et (49.64 et 57.76%) respectivement et par rapport au témoin (38.55% et 77%) (figure 39), (tableau 16 ; annexe 2).

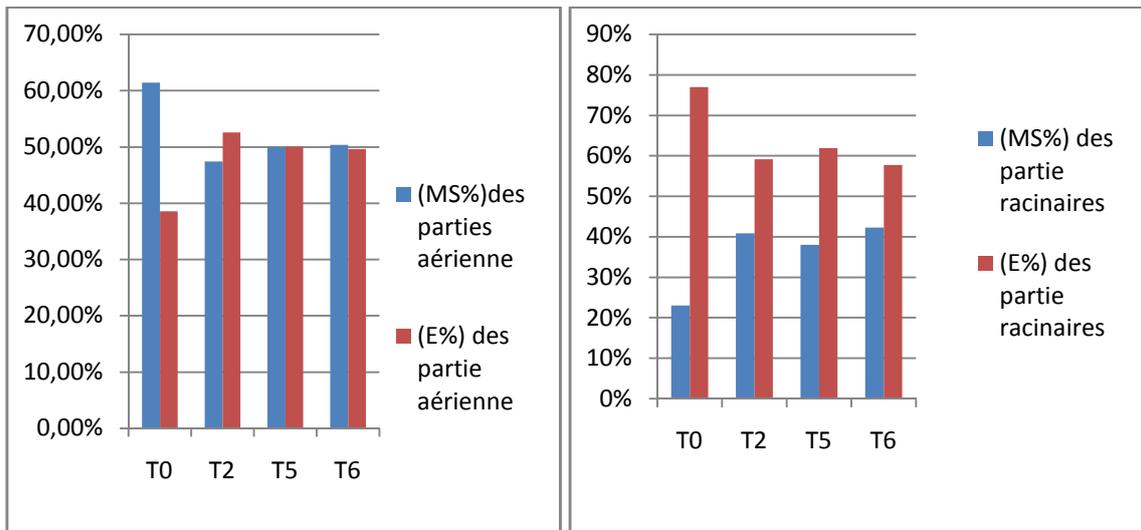


Figure 39 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement

II.3- Les tests de vérification de la présence de l'agent pathogène, de *Trichoderma* et des CMA

II.3.1- Test de ré-isolément de *F. oxysporum*

Le ré-isolément à partir des fragments des racines, tiges et feuilles des plants de tomate présentant les symptômes de fusariose, ainsi que à partir du sol. D'après, les caractéristiques de macroconidies, microconidies, des phialides, de chlamydospore, la forme et la couleur rose des colonies, ce ré-isolément prouve la présence de *F. oxysporum* (figure 40).

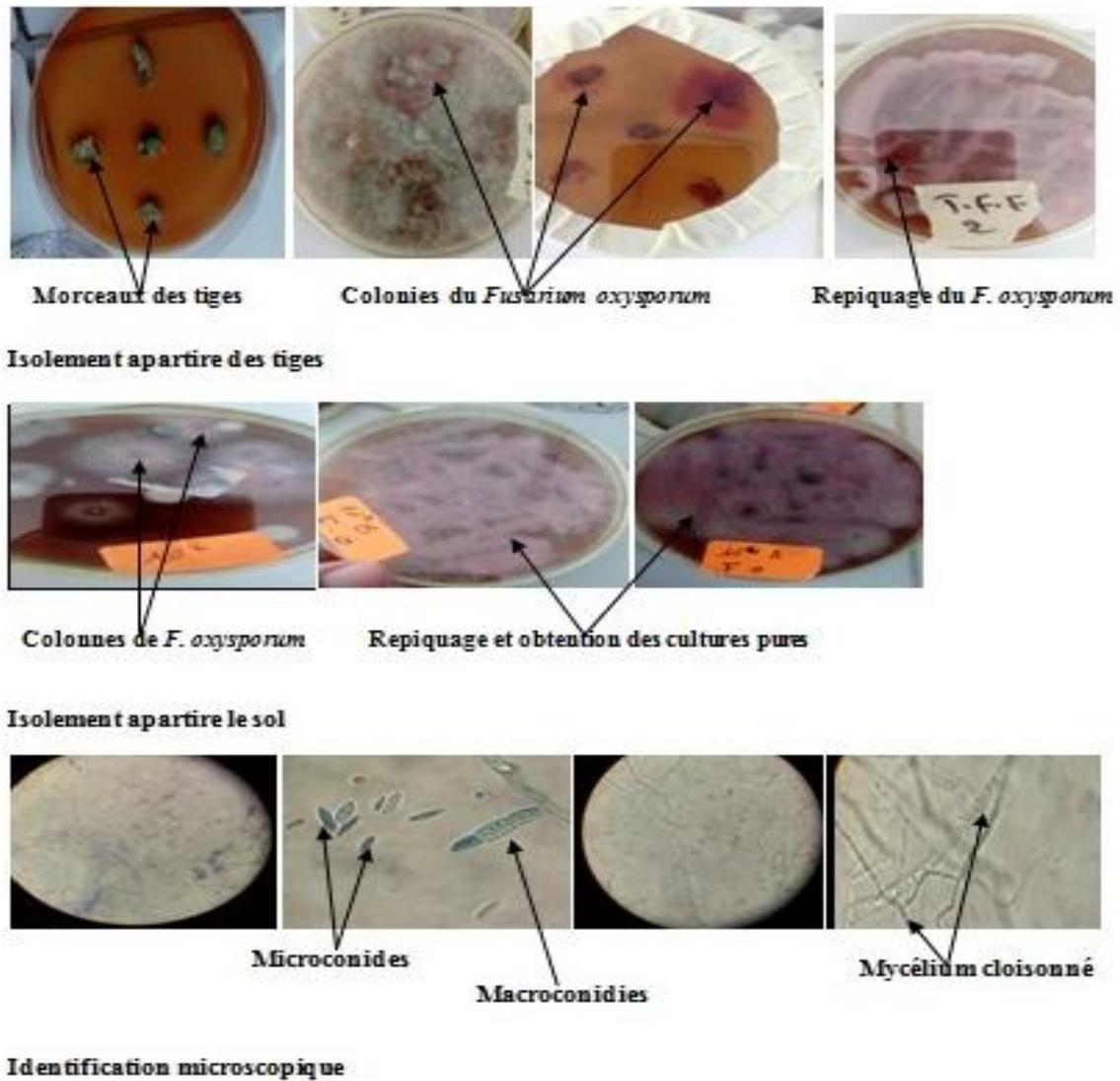


Figure 40 : Les résultats de ré-isolément du *F. oxysporum*

II.3.2- Test de ré-isolément de *Trichoderma viride*

Le ré-isolément à partir d'échantillons du sol prélevé dans les traitements de l'expérimentation sur *F. oxysporum*. D'après les caractères cultureux du champignon et des organes de fructification (colonie, phialides et conidies), ce ré-isolément prouve la présence du *Trichoderma viride* (figure 41).

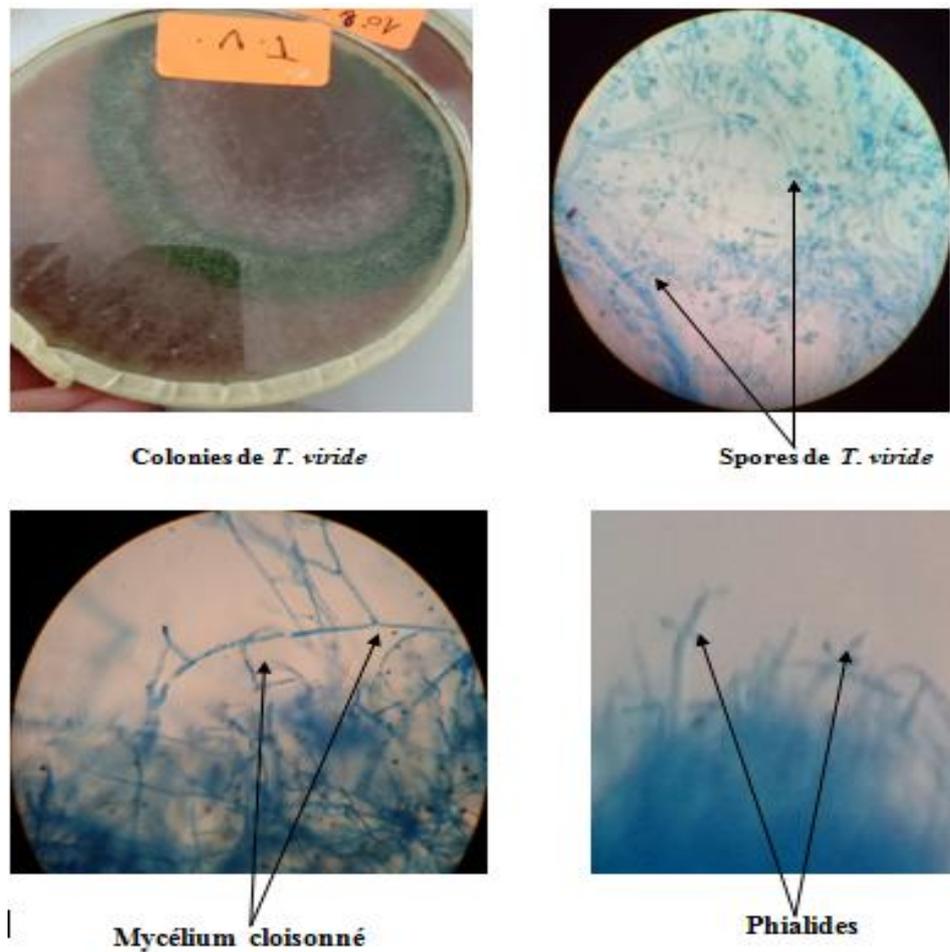


Figure 41 : Aspect macroscopique et microscopique de *T. viride* après ré-isolément

II.3.3- Vérification de la présence des CMA

Les racines observées après coloration ont montré la présence des champignons mycorhiziens arbusculaires. Plusieurs formes (mycélium extra-racinaire et intra-racinaire, arbuscules, vésicules et spores) ont été observées, ce qui prouve la présence des CMA (figure 42).

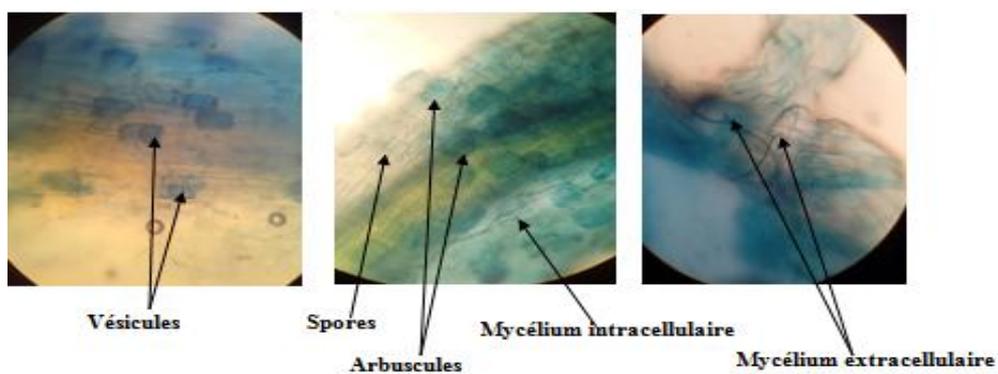


Figure 42 : Vérification de la présence des mycorhizes au niveau des racines

II.3.4- Test de ré-isolement des spores des CMA

L'examen microscopique du tamisat du sol inoculé avec les CMA, monté entre lame et lamelle dans une goutte de glycérol, a permis de prouver la présence des spores qui ont une morphologie à ceux inoculés du sol d'étude (figure 43).



Figure 43 : résultats de ré-isolement des spores des CMA

III- Discussion

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'effet de chaque souche fongique (CMA et *T.viride*) sur les paramètres de croissance des plantules de tomate (Super strain) et leur pouvoir de lutter contre le *F.oxysporum*.

Les symptômes engendrés sur les plantules de tomate correspondent donc à une situation de privation d'eau extrême liée à un envahissement massif des vaisseaux conducteurs dans lesquels *Fusarium oxysporum* sporule abondamment. Donc, nos résultats se rapprochent à ce qui démontrés par (Agrios, 2005), selon la plante, les symptômes sont très variables. Ils se manifestent par un éclaircissement de la nervure, nécrose, brunissement et la chlorose des feuilles suivie de leur dessèchement. En cas d'attaque sévère, la plupart des plantes flétrissent et meurent rapidement, tandis que les plantes les moins affectées deviennent chétives et non productives.

Du même, (Nelson et al., 1983) ont décrit les événements structuraux chez la plante infectée correspondant aux symptômes primaires (pourriture des racines et du collet), et seront responsables des symptômes secondaires de flétrissements de la partie aérienne de la plante. En effet, la présence de mycélium et des microconidies, éventuellement aggravées par les réponses locales de défenses de la plante (notamment avec la formation de tyloses, et la sécrétion de gommages), vont occasionner un blocage du transport d'eau dans les vaisseaux infectés.

Dans la majeure partie des cas, ces symptômes traduisent différents états d'évolution de la maladie qui, par l'intermédiaire d'une échelle de notation, conduisent à établir un indice de gravité (Summerell et Rugg, 19920).

Les effets des traitements sur la progression de la fusariose en plein champ montrent que la souche de *Trichoderma viride* a eu un effet antagoniste sur *F. oxysporum* ralentissant ainsi l'apparition et la progression de la fusariose. Cet effet antagoniste pourrait s'expliquer par une inhibition de la croissance mycélienne et un hyper-parasitisme de *F. oxysporum* par *Trichoderma viride*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Howell (2003).

De même, Harrier et Watson (2004) ont prouvé que les plantes inoculées avec des CMA sont plus résistantes aux attaques des champignons pathogènes. Selon Fortin et al., (2011), les CMA peuvent intervenir dans la rhizosphère ou dans les tissus racinaires pour protéger les racines contre les champignons pathogènes. Ainsi, dans la rhizosphère, les agents pathogènes sont confrontés à la compétition et à l'antagonisme; tandis que dans les tissus racinaires, les plantes agressées par les agents pathogènes réagissent en produisant des substances antibiotiques grâce aux CMA.

Les effets des traitements sur l'évolution du diamètre de croissance en hauteur, largeur et la biomasse racinaire et aérienne révèlent que les CMA et *T. viride* ont eu un effet synergique pour le contrôle de *F. oxysporum*.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs comme **Caron et al., (2002)**, **Souna et al., (2010)** ayant montré que *T. harzianum* a un pouvoir d'inhibition de la croissance mycélienne de *F. oxysporum* et permet au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et contrer ainsi l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Par ailleurs, **Mousain (1991)**, a montré que les souches de CMA ont de nombreuses vertus telles que l'amélioration de la surface absorbante du système racinaire, la sélectivité de l'absorption.

On a constaté que les plantes mycorhizées ont une teneur en eau plus élevée et une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau. Ceci est en concordance avec les résultats qui ont été obtenus pour la teneur en eau dans la partie aérienne de la plante. Par contre, le fait d'avoir une augmentation du pourcentage d'eau dans le système racinaire en présence du CMA peut être dû à une augmentation de la conductivité hydraulique des racines (**Gamalero et al., 2004**).

Des résultats similaires ont montré que presque toutes les souches du *Trichoderma* sont parvenues à stimuler les paramètres de croissance des plants de tomate à des degrés variables. Cette stimulation s'est traduite essentiellement par une meilleure croissance axiale et une biomasse plus importante. La stimulation de la biomasse a été observée non seulement dans les parties aériennes, mais aussi dans les parties racinaires par rapport au témoin. Cette augmentation a été notée aussi bien pour le poids frais que pour le poids sec, ce qu'il s'agit d'un accroissement général du métabolisme et non seulement d'une absorption excessive d'eau (**Brunner et al., 2003**).

Dans cette étude la souche de *Trichoderma viride* inoculée a réduit la gravité des lésions sur les feuilles de tomate par rapport au témoin, ce qui confirme que cette réduction est en partie responsable de la stimulation de croissance chez ces plantes. Cependant, (**Harman et al., 2004**) ont cité des recherches récentes montrant que les effets du *Trichoderma* sur les plantes incluent l'induction d'une résistance systémique ou localisée. Les *Trichoderma* colonisent l'épiderme des racines et les couches corticales externes et libèrent des molécules bioactives. En conséquence, en plus de l'induction de la résistance chez les plantes, la croissance des plantes et l'approvisionnement en nutriments sont améliorés.

Nos résultats d'utilisation de *T. viride* afin de protéger les plantules de tomate sont plus proche à ceux qui ont démontré par **Keszler et al., (2000)** qui prouvé le pouvoir de lutte biologique de *T.*

viride contre les phytopathogènes de luzerne. De plus, il est connu comme agent d'amélioration de croissance chez la plupart des plantes.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour objectif de contribuer à l'amélioration de la production de la tomate par l'usage des champignons mycorhiziens et la souche de *T. viride*. Pour cela, Notre étude visait à évaluer les effets des souches de CMA et de *T. viride* pour le contrôle de *F. oxysporum* sur la tomate à travers un essai en plein champ. L'essai de lutte *in-vivo* a permis de prouver l'efficacité des agents de lutte biologiques du fait qu'avec ces derniers la réduction de l'incidence de la maladie est de 50% avec *T. viride* pour les poquets (T4, T5 et T6), et elle atteint 50% avec les CMA pour chaque poquet de traitement. Par conséquent, les plantules de tomate testée ont récupéré leurs activités morphologiques, qui se traduit par la couleur verte, la longueur des parties aériennes et racinaires ainsi que, le poids frais et sec de différents organes des plantes. On a noté que l'incidence de la maladie avant traitement est de 50% et après traitement est de 25%. Ce qui prouve la gravité de *F. oxysporum*.

Alors, nous pouvons conclure de ces résultats que *Fusarium oxysporum* est responsable de la fusariose. En outre, les résultats obtenus ont montré l'effet de cet agent pathogène sur les plants de tomate inoculée, ce qui a entraîné une croissance réduite des plantes testées ainsi qu'un faible poids (frais et sec) dans différentes parties des plantes.

Cependant, pour être plus affirmatif, il serait plus intéressant de tester ces agents de biocontrol en plein champ afin de voir leur potentiel pour une utilisation en stratégie de lutte contre *F. oxysporum*. De plus, il est plus avantageux d'utiliser les CMA et *T. viride* et d'éviter ceux les produits de synthèse qui poseront des problèmes néfastes sur l'environnement et la santé humaine et animale. Les examens microscopiques des fragments racinaires de tomate ont révélé la présence de mycorhizes arbusculaires de type « *Glomus sp.* et *Acaulospora.* ». Ces champignons forment des structures caractéristiques des CMA : arbuscules, vésicules et spores intra-racinaires. Un mycélium septé a été observé. En outre, on a constaté que la fréquence de mycorhization (colonisation de système racinaire) est la plus élevée (68.75%) avec une intensité de mycorhization très importante de 26.75%. Les résultats obtenus ont révélé que les plantes amendées par les CMA et *T. viride* ont présenté une croissance optimale que ce soit au niveau des parties aériennes ou racinaires.

Par ailleurs, les résultats de ré-isolément ont confirmé la présence de *T. viride* au niveau de la zone rhizosphérique des racines, ainsi que la présence de l'agent pathogène dans le sol, les tiges et les feuilles des plants infectés.

En perspective, il serait également intéressant de poursuivre ce travail :

- En complétant la caractérisation des espèces fongiques testés par la biologie moléculaire ;
- En isolant et caractérisant d'autres espèces de CMA de la rhizosphère des vergers des régions arides et semis arides ;
- Et enfin, en inoculant des plantes annuelle ou des boutures des plantes perenne avec les CMA et *T. viride* que ce soit séparément ou en combinaison et suivre leur développement en pépinière et au champ.

Référence bibliographique

- Agrios, GN. 2005.** Plant pathology, The ED, Elsevier, London, 922 :45.
- Alexander, L.J., Tucker, C.M. 1945.** Physiology specialization in the tomato wilts fungus *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici*, J. Agr. Res. 70: 303-313.
- Anonyme C, 1999.** Périodique de la direction des statistiques agricoles et des enquêtes économiques, Statistique agricole, Ed Ministère de l'Agriculture de la pêche.
- Anonyme I. 2010.** Caractéristiques et importance de la tomate. INRA, 2-8p.
- Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1981.** Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease, In: *Fusarium: Diseases, Biology and taxonomy*, Pennsylvania State University Press, University park, Pennsylvania. 392-399p.
- Auger.M. 2001.** Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11 : 3-42.
- Azcon-Aguilar, C. et J.M. Barea. 1996.** Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens — an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6 : 457–464.
- Benhamou N., Rey P., Cherif M., Hockenhul 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. radicle-lycopersici*. *Phytopathology*, 87, 108-121.
- Benitez, T., Rincon, A.M., Limon, M.C., 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains, *Int Microbiol*, 7 :249-260.
- Besserer, A., Becard, G., Jauneau, A., Roux, C. and Sejalon-Delmas, N., 2008.** GR24, a synthetic analogue of strigolactones, stimulates the mitosis and growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea* by boosting its energy metabolism, *Plant Physiol*, 148: 402-413.
- Bissett, J. 1991.** A revision of the genus *Trichoderma*, infrageneric classification, *Canadian Journal of Botany* 69: 2357-2372.
- Blancard D., 1988.** Les maladies de la tomate, observer, identifier, lutter. Edition : INRA. Paris. 210p.

- Blancard D., 2009.** Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition : Quæ, Paris, 691p.
- Bonanomi G., Vinale F., Scala F., 2009.** The Role of Natural Products in Plant- Microbe Interactions, **A. E. Osbourn and V. Ianzotti** (eds.), Plant-derived Natural Products, 301-320p.
- Bonfante P., Balestrini R., Genre A., Lanfranco L., 2009.** Establishment and Functioning of Arbuscular Mycorrhizas, *The Mycota* VH, Deising (Ed) 2nd Edition. Plant Relationships, .259-274p.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2^{ème} édition. Masson, Collection Biotechnologies. 34 428p.
- Bouznad, Z., Solh, M., Labdi, M., Rouibah, M. and Tebbal, H. 1990.** Preliminary results on the causes of wilt and root rot of chickpea in Algeria, in the 8th congress of the Mediterranean phytopathological union, Agadir-Morocco, 345-346p.
- Brunner K., Peterbauer C.K., Mach R. I., Lorito M., Zeilinger S., Kubicek C. P., 2003.** The Nagl N-acetylglucosaminidase of *Trichoderma viride* is essential for chitinase induction by chitin and of major relevance to biocontrol *Current, Genetics*, 43 : 289-295.
- Bulit J., 1978.** Utilisation des antagonismes microbiens, *Bull. Tech, Inf. Min. Agric.*, 332, 513-517.
- Burnett J.H. 1984.** Aspects of *Fusarium* genetics, in *The Applied Mycology of Fusarium* (Moss M. O. & Smith J.E., eds.), Cambridge University Press. Cambridge 39-69p.
- Caron, J., Laverdière, L., Thibodeau, P. & Bélanger, R. 2002.** Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contrecinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au « Québec. *Phytoprotection*, 83(2), 73–87. <https://> », la société de protection des plantes du Québec, 2002.
- Causse M., Caranta C., Saliba-Colombani V., Moretti A., Damidaux R., Rousselle P., 2000.** Valorisation des ressources génétiques de la tomate par l'utilisation de marqueurs moléculaires, *cahiers d'études et de recherches francophones/Agricultures*, INRA, Frances, Vol 9, 3, 197-210.

Céspedes MC., Cardenas ME., Vargas AM., Rojas A., Morales JG., Jiménez P., Bernal AJ. et Restrepo S., 2013. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30 (2) :81-87p.

Chaux C.L. et Foury C.L., 1994. Cultures légumières et maraichères. Tome III : Légumineuses potagères, légumes fruit .Tec et Doc Lavoisier, Paris. 563p.

Chibane A., 1999 – Tomate sous serre, Bulletin : transféré de technologie en agriculture, no57 Ed. P.N.T.T.A. Rabat.

Claude, MB., et Yves, T.1999. Technologie des légumes, ed, TEC et DOC, Paris, 243p.

Cronquist A., 1981 - An integrated system of classification of following plants, Colombia University, 125p.

Culter H.G., Jacyno J.M., Harwood J.S., Dulik D., Goodrich P.D. and Roberts R.G., 1993. Botcinolide: a biologically active natural product from *Botrytis cinerea*. *Biosci Biotechnol Biochem* 57:980-1982.

Dalpé Y., 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée, *Phytoprotection*, 86, 53-58-59p.

Davet P., 1979. Technique pour l'analyse des populations de *Trichoderma* et de *Gliocladium virens* dans le sol, *Ann Phytopathol* 11, 529-533.

Davet, P. et Rouxel, F., 1997. Detection et isolement des champignons du sol. Techniques et pratiques. ED. INRA. Paris.

Davis R. M., Aegerter B. J., 2010. University of California Integrated Pest Management (UC IPM) Pest Management Guidelines: Onion/Garlic., California, USA, 30 p.

Dégrément, 2009. Un insecte à la page la mineuse sud américain de la tomate, Fiche technique, Tunisie, 2p.

Dore C. et Varoqaux F., 2006. Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées, Ed, INRA, Paris. 698p.

Druzhizinina, I.S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B.A., Kenerley, C.M., Monte, E., Mukherjee, P.K., Zeilingre, S., Grigoriev, I.V., and Kubicek, C.P., 2011. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success, *Nat Rev Microbiol*, 9:749-759.

Dubos B., Ricard J. L., 1974. Curative treatment of peach trees against silver leaf disease (*Stereum purpurem*) with *Trichoderma viride* preparations, *Plant Dis. Rep.*, 58, 147-150.

Dubost, D., Hetner, P., 1968. La lutte contre le Bayoud, problèmes et méthodes. Service de la botanique, Faculté des sciences, Université d'Alger, 16 p.

El akel M., Chouibani M. et Kaack H. (2001). Protection intégrée en culture de tomate *Integrated Pest Management Review*. 1 :15-29.

Elad, Y., I. Chet et J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum* : A biocontrol agent effective against *Sclerotiniaro /fs/ Vand Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121p.

Enkerli J, Georg F, Boller T, 1999. The Enzymatic Activity of Fungal Xylanase Is Not Necessary for Its Elicitor Activity. *Plant Physiology*, 121, 391–397.

FAO., 1988. Culture protégées en climat méditerranéen : Etude FAO production végétale et protection des plantes, Edition : FAO .318p.

Fortin A., Plenchette C., PichY., 2011. Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte, Edition Multimondes et Qu AE.

Gamalero, E., A. Trotta, N. Massa, A. Copetta, M.,G. Martinotti et G. Berta., 2004. Impact of two fluoresce entpseudo monads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and acquisition. *Mycorrhiza*14: 185-192.

Gams W et Nirenberg H. I., 1989. A contribution to the genetic definition *Fusarium*. *Mycotaxon* 35 :407-416.

Gams W. and Bissett J., 1998. Morphology and identification of *Trichoderma sp. Trichoderma & Gliocladium*, Volume1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. :http://nt.ars.grin.gov/taxa_descriptions/keys/Genusoverviw.cfm).

Gausсен H., Lefoy J., Ozenda P., 1982. Précis de Botanique. 2^{ème} Ed. Masson, Paris.1972 p.

- Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D.G., 2005.** Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell.*, 17:3489-3499.
- Gerdemann JW., Nicholson TH., 1963.** Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- Giovannetti, M. and V. Gianinazzi-Pearson. 1994.** Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.*, 98: 705-715.
- Hajlaoui M.R., Hamza N., Gargouri S. & Guermech A., 2001.** Apparition en Tunisie de *Fusarium oxysporum f. sp. radidis lycopersici*, agent de la pourriture des racines et du collet de la tomate. *OEPP/EPPO Bulletin*, 31, 505-507.
- Harman, G. E., Taylor, G. and Starz, T. E. 1989.** Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatment. *Plant Disease* 73: 631- 637.
- Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet et M. Lorito. 2004.** *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43-56.
- Haro H., 2011.** Effet d'inoculum de champignons mycorrhiziens arbusculaires sur la productivité du niébé *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Mémoire de DEA, Option Biotechnologie Microbienne et Cellulaire. Université d'Ouagadougou. Burkina Faso. 82p.
- Harrier, L.A. et C.A. Watson. 2004.** The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems, *Pest Manag. Sci.* 60 :149-157.
- Hoagland D.R., Arnon D.I. 1950.** The water-culture method for growing plants without soil, California Agricultural Experiment Station, Circular 347.
- Howell, C.R., 2003.** Mechanism employed by *Trichoderma* species the biological control of plant diseases : the history and evolution of current concepts. *Plant Diseases* 87 : 4-10p.
- Javot H., Penmetsa R.V., Terzagui N., Cook D.R. & Harrison M.J. 2007.** *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104: 1720-1725.

Jeffries P., Boyer L.R., Rice P., Ray J.N., Dodd J. C., 2007. Ultrastructure of spore development in *scutellospora heterogama*. Mycorrhiza, 17:395-403.

Judd, 2002. Botanique Systématique Une Perspective Phylogénétique De Boeck Université.

Kabir, Z., I.P. O'Halloran, J.W. Fyleset C. Hamel. 1997. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: hyphal density and mycorrhizal root colonization. Plant Soil 192: 285-293.

Keszler A., Forgacs E., Kotail., Vizcaino J.A., Monte E., Garcia-Acha I., 2000. Separation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atro viride* by solidphase extraction and gas chromatography-mass spectroscopy. J. chromatograph. Sci., 38: 421-424.

Kinet B., 1985. Contrôle du développement de l'inflorescence de la tomate par les facteurs de l'environnement et les régulateurs de croissance. Rev, Hort, n°200. 30-36p.

Kolev N., 1976. Les cultures maraichères en Algérie : Légumes fruits, Ed, Ministère de l'agriculture et de la réforme agraire, T.1, 207p.

Kubicek, C.P; Bissett, J.; Druzhinina, I., Kullinig-Gradinger, C. et Szakacs, G., 2003. Genetic and métabolic diversity of *Trichoderma* sp.; a case study on Southeast Asian isolates. Fungal Genet. Biol., 38 (3): 310-319.

Lambert L., 2006. Lutte anti insectes appliquée aux tomates de serre, MAPAQ, (QC). Profil de la culture des tomates de serre au Canada Programme de réduction des risques liés aux pesticides Centre pour la lutte antiparasitaire. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Aout 2006.

Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A. and Jiménez-Díaz, R. M. 2004. Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. Phytopathology 94: 946-960.

Laumonier R., 1979. Culture légumières et maraichères, tome III. Edition : Bailliere. Paris. 279p.

Link, H.F. 1809. Observationes in ordines plantarum naturalis, Dissetatio I. Mag. Ges. Natur f. Freunde, Berlin 3: 3-42.

- Liu S., Baker R., 1980.** Mechanisms of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70, 404-412.
- Madr, 2009.** (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), Direction des statistiques. 21p.
- Massiaen C.M et Cassini R, 1981.** Taxonomy of *Fusarium*. In *Fusarium; Disease, Biology and Taxonomy*, Pennsylvania State University Park. 427-445p.
- Mcgovern, R.J., L.E. Datnoff et L. Tripp. 1992.** Effect of mixed infection and irrigation method on colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradix*. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 105 : 361-363.
- Mousain D., 1991.** Ectomycorhization et tolérance des arbres à la sécheresse. Dans : *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*. Groupe d'Etude de l'Arbre, Ed. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 167-174.
- Mycobank, 2014.** Fungal Databases. Nomenclature and Species Bank. International Mycological
- Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1981.** Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease. In: *Fusarium: Diseases, Biology and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University park, Pennsylvania. 392-399p.
- Naika, S., Van Dam, B., Florijn, A., 2005.** La culture de la tomate : production transformation et commercialisation. Edition Agromisa Foundation, coll. Agrodok, Wageningen. 150p.
- Nelson P.E., Toussoun T.A. et Marasas W.F.O., 1983.** *Fusarium* species. An illustrated manual for identification, The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
- Nguyen M. L. and S. J. Schwartz, 1998.** Lycopene stability during food processing. *Proc-Soc-Exp-Biol-Med* 218(2): 101-105p.
- Ocamb C.M et Juzwik J, 1995.** *Fusarium* species associated with rhizosphere soil and diseased roots of white pine seedlings and associated nursery soils. *Canadian Journal of Plant pathology* 17,325-330.
- Ozbay N. & Newman S.E., 2004.** *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal*, 3, 9-18.

Palenzuela J., Ferrol N., Boller T., Azcon-Aguillar C., Oehl F., 2008. *Otospora bareai*, a new fungal species in the Glomeromycetes from a dolomitic shrub land in Sierra de Baza National Park (Granada, Spain). *Mycologia*, 100:296-305.

Phillips JM, Hayman DS., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158–160.

Pinochet J., Calvet C., Campruby A. et Fernandez C., 1996. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: a review. *Plant Soil* 185: 183–190.

Pozo M.J., Cordier C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Barea J.M. & Azcon-Aguilar C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of experimental botany*, 53: 525-534.

Ranc N., 2010. Analyse de polymorphisme moléculaire de gènes des composantes de la qualité des fruits dans les ressources génétiques sauvages et cultivées de tomate ; recherche d'association gènes/QLT. Thèse de doctorat en sciences. Ecoles Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, France. 275p.

Rey Y. et Costes C., 1965. La physiologie de la tomate, étude bibliographique. Ed. INRA .111p.

Rivera-Becerril F., Calantzis C., Turnau K., Caussanel J-P., Belinov A.A., Gianinazzi S., Strasser R.J. & Gianinazzi-Pearson V. 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of experimental botany*, 53: 1177-1185.

Ruiz-Lozano J.M., Azcon R., Gomez M., 1995. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.

Schubler A., Schwarzott D., Walker C., 2001. A new fungal phylum, the *Glomero mycota*: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105:1413-1421.

Shankara N., Jeude J. V. L., Goffau M., Hilmi M., Dam B. V., 2005. La culture de la tomate production, transformation et commercialisation. Ed. Prota, 105p.

Singh, R., A. Adholeya et K.G. Mukerji. 2000. Mycorrhiza in control of soil-borne pathogens. Pages 173-196 in K. G. Mukerji, B.P. Chamola et J. Singh (éds.), Mycorrhizal biology. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Smith S.E. & Read D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, New York.

Smith S.N.; Jeffers D., Devay J.E., 1965. Effect of glucose and biotin on the growth and sporulation of *Fusarium spp.* Especially pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*.

Smith, S.E. et V. Gianinazzi-Pearson. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular–arbuscular mycorrhizal plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39 : 221–244.

Snoussi S., 2010. Rapport de mission étude de base sur la tomate. Edition : GTFS/REM/070/ITA. Algérie. 52p.

Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L. & Liu X., 2004, Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. Crop Protection, 23, 243-247.

Souna F., Chafi A., Chakroune K., Himri I., Bouakka M., Hakkou A., 2010. Effect of mycorrhization and compost on the growth and the protection of date palm (*Phoenix dactylifera L*) against Bayoud disease. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture , 4(2) : 260-267.

Strandberg J.O., 1992. *Alternaria speices* that attack vegetable crops : biology and options for disease management : In : **Chelkowski J, Visconti A**(eds) *Alternaria* biology, plant disease and metabolites. Elsevier, Amsterdam. 175-208p.

Summerell, B. A., Rugg, C. A. 1992. Vascular wilt of *helichrysum* species caused by *Fusarium oxysporum*. Australasian Plant Pathology 21: 18-19.

Trottin-Caudal Y., 2011. Maitrise de la protection intégrée Tomate sous serre et abris. Edition : Ctifl. Paris. 282p.

Vakalounakis D. J., Fragkiadakis G. A., 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. Phytopathology, 89, 161-168.

Viron, N., 2010. Identification et validation de nouveaux gènes candidats impliqués dans la régulation du développement du fruit de la tomate. Thèse de doctorat en biologie végétal. Université de Bordeaux. 1. 140p.

Walker C., Schubler A., 2004. Nomenclatural clar if ications and new in the *Glomero mycota*. Mycol. Res., 108:979-982.

Wehner J., Antunes P.M., Powell J.R., Mazukatow J. &Rillig M.C. 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity? Pedologia 53: 197-201.

Whipps J.M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. Canadian journal of botany, 82: 1198-1227.

Woo SL., Zoina A., Del Sorbo G., Lorito M., Nanni B.,S c a l a F., Noveiello C. (1996). Characterization of *Fusarium oxysporum f. sp. Phaseoli* by pathogenicraces, VCGs, RFLPs, and RAPD. Phytopathology 86,. 966–972p.

Yedidia, I., N. Benhamou, Y. Kapulniket I. Chet. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. Plant Physiology and Biochemistry, 38: 863-873.

Site utilize

<http://invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions>

Annexe 01



Figure 44 : Aspect morphologique des plantules de tomate (Super strain) testées avant infection



Figure 45 : Les plantules de tomate (Super strain) après quinze (15) jours d'infection

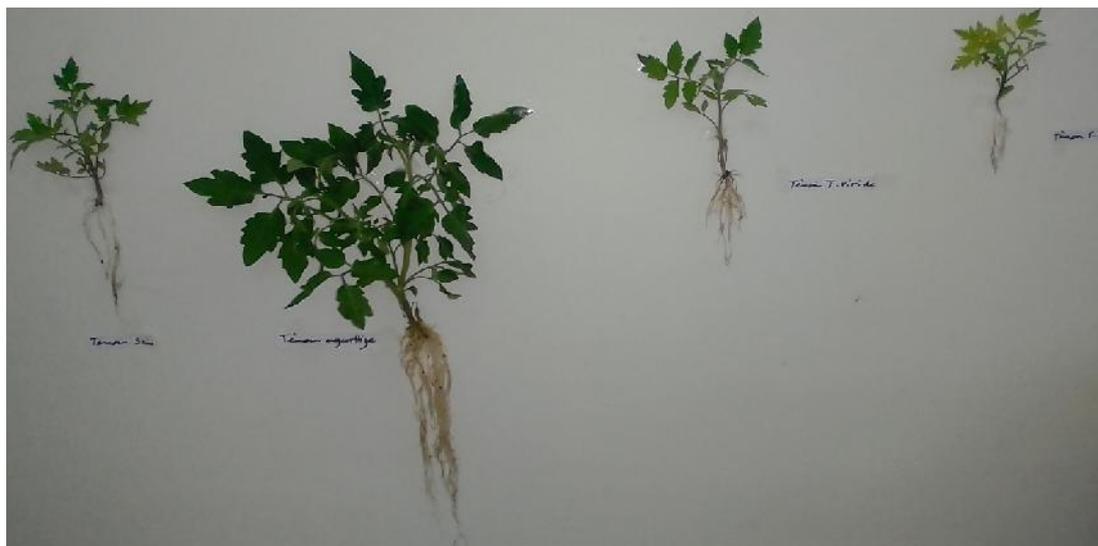


Figure 46 : Témoins des plantules de tomate (Super strain) testées



Test après infection *F. oxysporium* par *T. viride*



Test avant infection *F. oxysporium* par mycorrhizes



Test combinaison

Figure 47 : Comparaison entre l'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules inoculées (T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection

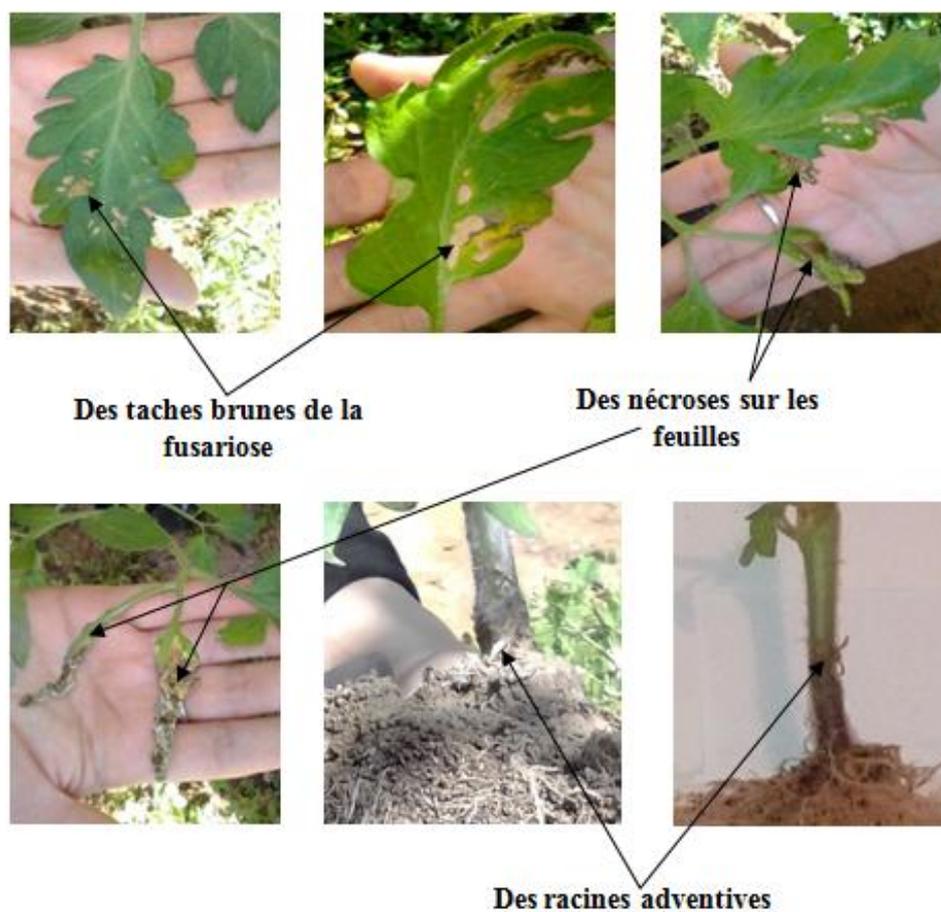


Figure 48 : Diversité des symptômes de la maladie de fusariose (T1, T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection



Figure 49 : Aspect général des plantules de tomate (Super strain) T4 après vingt deux (22) jours de traitement et T5 et T6 après infection



Figure 50 : Témoins des plantules de tomate (Super strain) après vingt deux (22) jours de traitement



Figure 51 : L'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules de tomate (Super strain) testées après vingt deux (22) jours de traitement



**Racines du témoin
sain**



**Racines du témoin
*T. viride***



**Racines du témoin
mycorhize**

Figure 52 : Comparaison des racines des plantules de tomate (Super strain) T0 et T2 après (22) jours de traitement

Annexe 02

Tableau 7 : Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après (15) jours de l'infection (poquets infectés par *F. oxysporum* (T1, T4 et T5)

Inoculation	Les symptômes
T0 (Témoin négatif sain)	Une taille normale et une couleur vert.
T1 (Témoin positif <i>Fusarium oxysporum</i>)	Les plantes sont de faible poids avec une petite taille de tige mince avec une couleur rouge foncé au niveau du collet. le 1 ^{er} symptôme de la maladie de fusariose se manifeste par un jaunissement des feuilles du bas, on a révélé que leurs surfaces sont réduites.
T2 (témoin de CMA)	Les plantes sont bien développées avec des tiges normales les feuilles sont vert foncé.
T3 (témoin de <i>T. viride</i>)	Les plantes sont de taille moyenne avec une couleur vert.
T4 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par <i>T. viride</i> seul)	stade de 6 feuilles, la tige de taille moyenne, les symptômes de la maladie apparaissent après une semaine d'infection et progressent avec le temps, qui se manifeste par des taches marron. Les tissus dessèchent après quelques jours, on observe un enroulement des feuilles infectées ; les limbes de cette dernière se mottent, la distribution des symptômes est systémique, la formation des racines adventives sur la surface du sol.
T5 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par CMA seul)	stade de 7 feuilles, la tige à une taille moyenne, la surface foliaire est normale, les symptômes apparaissent au 1 ^{ère} lieu sur les feuilles de bas qui se manifestent par des taches nécrosées brun foncé, les nervures centrales prennent une couleur rouge. La formation de racines adventives.
T6 (test de combinaison CMA et <i>T. viride</i>)	stade de 8 feuilles, la taille de tige moyenne la largeur des feuilles est moyenne, les symptômes de la maladie apparaissent sur les feuilles de bas, les taches sont claires.

Tableau 8 : Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après (22) jours de traitement poquets traité par CMA et *T. viride* T2, T3, T4, T5 et T6)

Traitements	Les symptômes
T0 (Témoin négatif sain)	Stade de floraison, la tige de taille normale les feuilles sont larges avec un couleur vert.
T1 (Témoin positif <i>Fusarium oxysporum</i>)	Stade de 5 feuilles, la tige est mince, des taches légères avec un couleur jaune sur la surface des feuilles du bas sont noircissent et mort. Un nécrose au niveau du collet prendre un couleur rouge avec un affaiblissement des feuillages, la surface des feuilles est petit.
T2 (témoin de CMA)	Stade de floraison les plants prenants un couleur fonce, les feuilles sont très larges. La tige épaisse avec une ramification aucune ne signes de la maladie.
T3 (témoin de <i>T. viride</i>)	Stade de floraison absent des symptômes de la maladie. Les plants sont de taille normale, la surface des feuilles est large.
T4 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par <i>T. viride</i> seul)	Stade de floraison les plantes avec de tige et feuille moyenne, on à constaté une réduction de la maladie et la disparition des symptômes.
T5 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par CMA seul)	Stade de floraison la tige est épaisse, les feuilles sont généralement larges, on à constaté que la maladie est réduite et la régression des symptômes.
T6 (test de combinaison CMA et <i>Trichoderma viride</i>)	Stade de floraison la tige avec une épaisseur moyenne, les feuilles sont larges, on à constaté que la maladie est réduite.

Tableau 9 : Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

	longueur de la tige	Longueur des racines	Longueur des feuilles	Largeurs des feuilles	N° des feuilles	N° des folioles
T0 (cm)	11	19,5	10	2	9	9
T1 (cm)	6,5	9	8	1,5	6	7
T2 (cm)	12	17	18.5	5	8	11
T3 (cm)	11,5	14	15	2,5	8	8
T4 (cm)	8,3	9,5	10,5	2	5	6
T5 (cm)	7,5	9	9	2,5	5	7
T6 (cm)	17,5	25	20	5,6	9	11

Tableau 10 : Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

	Poids frais des racines	Poids frais des parties aériens	poids sec des racines	Poids sec des parties aériens
T0 (g)	0,9	6,2	0,13	1,21
T1 (g)	0,2	3,5	0,02	0,38
T2 (g)	3,29	19,8	0,80	5,95
T3 (g)	1,2	5,1	0,12	0,65
T4 (g)	0,2	1,9	0,02	0,21
T5 (g)	0,2	2,9	0,03	0,35
T6 (g)	3,5	20,6	0,83	6,06

Tableau 11 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection

	(MS%) des Partie aérienne	(E%) des Partie aérienne		(MS%) des parties racinaires	(E%) des parties racinaires
T0	19,51%	80,49%	T0	14,44%	85,56%
T1	10,85%	89,15%	T1	10%	90%
T2	30,05%	69,95%	T2	24,31%	75,69%
T3	12,74%	87,26%	T3	10%	90%
T4	11,05%	88,95%	T4	10%	90%
T5	12,06%	87,94%	T5	15%	85%
T6	29,41%	70,59%	T6	23,71%	76,29%

Tableau 12 : Paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement

	longueur de la tige	Longueur des racines	Longueur des feuilles	Largeurs des feuilles	N° des feuilles	N° des folioles
T0 (cm)	28	18,2	25,8	14,5	10	9
T1 (cm)	18,1	16,8	15,5	9,7	7	7
T2 (cm)	47,9	27,2	33,8	22	11	10
T3 (cm)	36,8	24,9	26,1	18,4	10	10
T4 (cm)	43,6	25	23,4	22	11	9
T5 (cm)	47,2	35,2	32,2	24,2	11	9
T6 (cm)	48	37,4	34,5	24,7	11	11

Tableau 13 : Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement

	Poids frais des racines	Poids frais des parties aériens	poids sec des racines	Poids sec des parties aériens
T0 (g)	5,13	20,99	1,18	12,09
T1 (g)	0,58	6,38	0,1	1,96
T2 (g)	16,73	57,71	6,38	27,46
T3 (g)	11,48	39,47	3,01	17,38
T4 (g)	14,16	46,21	4,73	21,25
T5 (g)	18,5	76,42	7,04	38,2
T6 (g)	19,6	76,83	8,28	38,49

Tableau 14 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement

	(MS%) des Partie aérienne	(E%) des Partie aérienne		(MS%) des Partie aérienne	(E%) des Partie aérienne
T0	61,45%	38,55%	T0	23%	77%
T1	30,72%	62,28%	T1	17,24%	82,76%
T2	47,42%	52,58%	T2	40,82%	59,18%
T3	44,03%	55,97%	T3	26,21%	73,79%
T4	45,98%	54,07%	T4	33,40%	66,60%
T5	49,98%	50,02%	T5	38,05%	61,95%
T6	50,36%	49,64%	T6	42,24%	57,76%

Tableau 15 : l'incidence et la réduction de la maladie après (22) jours de traitement

	Incidence de la maladie après (15) jours d'infection	Incidence de la maladie après (22) jours de traitement	Réduction de la maladie
T1	75 %	100%	/
T4	50 %	25%	50 %
T5	50 %	25%	50 %
T6	50 %	25%	50 %

Liste des annexes

N°	Titre	Page
Annexe 1		
44	Aspect morphologique des plantules de tomate (Super strain) testées avant infection	I
45	Les plantules de tomate (Super strain) après quinze (15) jours d'infection	I
46	Témoins des plantules de tomate (Super strain) testées	II
47	Comparaison entre l'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules inoculées (T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection	II
48	Diversité des symptômes de la maladie de fusariose (T1, T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection	III
49	Aspect général des plantules de tomate (Super strain) T4 après vingt deux (22) jours de traitement et T5 et T6 après infection	III
50	Témoins des plantules de tomate (Super strain) après vingt deux (22) jours de traitement	IV
51	L'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules de tomate (Super strain) testées après vingt deux (22) jours de traitement	IV
52	Comparaison des racines des plantules de tomate (Super strain) T0 et T2 après (22) jours de traitement	V
Annexe 2		
7	Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après 15 jours de l'infection (poquets infectés par <i>F. oxysporum</i> (T1, T4 et T5)	VI
8	Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après 22 jours de traitement poquets traité par CMA et <i>T. viride</i> T2, T3, T4, T5 et T6)	VII
9	Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	VIII
10	Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	VIII
11	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection	VIII
12	Paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22)	IX

	jours de traitement	
13	Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement	IX
14	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement	IX
15	l'incidence et la réduction de la maladie après (22) jours de traitement	X

<p>Préparer par</p> <p>M^{lle} Boutebakh Fatima Zohra</p>	<p>Membres de jury</p> <p>Président : Mr Chahredine S.</p> <p>Examineur : Mr Rouibah M.</p> <p>Encadrant : Mme Bouziane Z.</p>
<p>Thème : Contribution à l'étude de l'aptitude des champignons mycorrhiziens arbusculaires et de <i>T. viride</i> à protéger les plantules de tomate variété (Super strain) contre <i>F. oxysporum</i> durant les premiers stades de leur développement</p>	
<p>Résumé</p> <p>C'est pour contribuer à limiter l'utilisation des produits chimiques par le développement des méthodes de lutte biologique que cette étude a été réalisée sur l'utilisation des souches des champignons mycorrhiziens arbusculaires (<i>Acaulospora sp.</i> et <i>Glomus sp.</i>) et de <i>Trichoderma viride</i> comme moyen de contrôle de <i>F. oxysporum</i>. Les résultats ont révélé que <i>F. oxysporum</i> est un agent pathogène pour les plants de tomate (Super strain), en provoquant la fusariose vasculaire de cet hôte, qui se manifeste par un jaunissement, flétrissement et nécrose des parties aériennes, et une réduction des paramètres de croissance chez les plantes. Par conséquent, l'incidence de la maladie après (15) jours d'infection et après (22) jours de traitement est de 50% et 25% respectivement pour chaque poquet (T4, T5 et T6). Alors que, les résultats ont montré que les CMA et la souche de <i>T. viride</i> se sont associées aux racines des plants de tomate. Ils ont réduit le taux de l'incidence de la maladie de fusariose 50% pour chaque poquet. De plus, ils améliorent la croissance des plantules de tomate (Super strain) qui se manifeste par un système racinaire vigoureux et un développement très important des parties aériennes. Ces résultats indiquent que les champignons mycorrhiziens arbusculaires et <i>T. viride</i> en combinaison ou séparément peuvent contribuer efficacement à la gestion écologique de champignon tellurique qui provoque des maladies vasculaire pour les plantules de tomate, et constituent de ce fait une alternative à l'utilisation des agents de biocontrol.</p> <p>Mots clés : <i>F. oxysporum</i>, tomate, mycorrhizes, <i>T. viride</i>, compétition.</p>	
<p>Abstract</p> <p>To contribute for avoiding the usage of chemical products by developing biological control methods so that, this study was carried out on the use of strains of arbuscular mycorrhizal fungi (<i>Acaulospora sp.</i> and <i>Glomus sp.</i>) and <i>Trichoderma viride</i> as a control method for <i>F. oxysporum</i>. The results revealed that <i>F. oxysporum</i> is a pathogen for tomato plants (Super strain), causing vascular disease of this host, which manifests by yellowing, wilting and necrosis of the aerial parts, and a reduction in growth parameters in plants. Therefore, the incidence of the disease after 15 days plants attack and 22 days after cure is 50% and the second results is 25% particularity (T4, T5 and T6). While, the results showed that CMA and the <i>T. viride</i> strain associated with the roots of tomato plants. They have reduced the incidence rate of fusariose disease by 50%. In addition, they improve the growth of tomato plants, which is manifested by a vigorous root system and very important development of the aerial parts. These results indicate that arbuscular mycorrhizal fungi and <i>T. viride</i> in combination or separately can effectively contribute to the ecological management of soil fungi that cause vascular disease in tomato plants, and thus provide an alternative to the use of biocontrol agents.</p> <p>Key words: <i>F. oxysporum</i>, tomato, mycorrhizae, <i>T. viride</i>, competition.</p>	
<p>المساهمة في الحد من استخدام المواد الكيميائية تطوير طرق مكافحة البيولوجية، و على هذا الأساس أجريت هذه الدراسة</p> <p>سلالات فطرية من فطريات الميكوريزا (<i>Acaulospora sp.</i>) (<i>Glomus sp.</i>) <i>Trichoderma viride</i> كوسيلة مكافحة ضد <i>F. oxysporum</i>. أظهرت النتائج أن <i>F. oxysporum</i> يعتبر لهذا ، والذي يتجلى في اصفرار ذبول ونخر الأجزاء الهوائية، وانخفاض في معايير النمو لهذه الـ</p> <p>أظهرت النتائج أن <i>F. oxysporum</i> يعتبر لهذا ، والذي يتجلى في اصفرار ذبول ونخر الأجزاء الهوائية، وانخفاض في معايير النمو لهذه الـ</p> <p>22 يوم من العلاج بـ 50 25 (T4 T5 T6) . بينما أظهرت النتائج CMA</p> <p><i>T. viride</i> (Super strain). حيث انخفض Fusariose 50 لكل عينة</p> <p>الميكوريزا <i>T. viride</i> أو بشكل منفصل يمكن أن تسد هم بشكل فعال في لمكافحة الحيوية.</p> <p>الكلمات المفتاحية : <i>F. oxysporum</i>، الطماطم ، ، الميكوريزا ، <i>T. viride</i> .</p>	

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences Agronomiques

كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master Académique**

Filière : Sciences Agronomiques

Option : Phytopharmacie Appliquée

Thème

Contribution à l'étude de l'aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires et de *T. viride* à protéger les plantules de tomate variété (Super strain) contre *F. oxysporum* durant les premiers stades de leur développement

Membres de jury:

President: Dr Chahredine S.

Examinateur : Dr Rouibah M.

Encadreur : M^{me} Bouziane Z.

Présenté par:

- Boutebakh Fatima Zohra

Session: Juillet 2019

Numéro d'ordre :...

Travail réalisé dans le laboratoire de la faculté SNV –Université de Jijel



Remerciements

Tout d'abord je remercie le bon Dieu tout puissant de la bonne santé, la volonté et la patience qu'il a donné tout le long de la période de m'ons études.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances et gratitude à toutes les personnes qui ont apporté leur aimable contribution à ce travail par leurs remarques, leurs conseils, leurs encouragements et leurs compétences et en particulier :

***Mme Bouziane Z**, notre promotrice, non seulement pour l'aide très précieuse quelle m'apporté, mais aussi pour son enthousiasme communicatif, sa patience et sa totale disponibilité pour l'encadrement de ce travail.*

*Ainsi je remercie, **Dr Chahredine S** a l'Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel qui nous à fait honneur d'accepté de présider se travaille.*

*Ainsi je remercie, **Dr Rouibah M** a l'Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel qui nous à fait d'examiné notre travaille.*

*Un grand remerciement à **Mme Khen W** pour son aide et ses conseils.*

*Je remercie vivement **Mr Abad B** et **Boudocha S** et tous les personnels de l'exploitation de **l'EX DAS Abbas** pour l'aide qu'ils nous ont apportée.*

Nous tenons aussi à remercier :

*Tout le personnel de laboratoire de **Normalys** sans exception pour leur grand aide, soutien, patience et leur extrême gentillesse.*

J'adresse mes sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail, que ce soit de près ou de loin.



Dédicace

Je dédie l'apanage de cet écrit :

*Aux plus chères à mon cœur et lumière de mon âme, mes
parents, que je profite pour les remercier pour tout :*

Maman et papa,

*A mes très chères sœurs: **Saida, Ferouz, Samiha, Ahlam &
Khawla.***

*A mes frères **Abdellah & Amine.***

*A ma belle mère « **El-Zohra** » et mon beau père « **Saadi** ».*

A mes belles sœurs et mes beaux frères.

A ma chère promotrice.

*A tous mes amis et mes proches surtout **Hadjer et Somia.***



M^{lle} Boutebakh Fatima Zohra

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	La classification de tomate	4
2	La teneur de la tomate en éléments nutritifs « pour 100g »	5
3	La classification du <i>Fusarium oxysporum</i>	16
4	Les plus importantes formes spéciales de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
5	Quelques caractères de variété étudiée	45
6	Les symptômes de la fusariose	53

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Coupe longitudinale de la fleur de la tomate	6
2	Différents organes de la tomate	7
3	Cycle biologique de la tomate	9
4	L'espèce de <i>Fusarium</i> sous le microscope optique	17
5	Cycle biologique de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	19
6	Classification de CMA selon Schubler et al., (2001) modifiée par Walker et Schubler, 2004 ;Palenzuela et al.,(2008)	25
7	Ectomycorhize et endomycorhize	26
8	Germination d'une spore	28
9	Les différents signaux moléculaires synthétisés par les deux symbiotes durant 4 phases (1, 2, 3 et 4) de l'association	29
10	Actions des hyphes extra-radicalaires des champignons mycorhizogène sur l'apport en eau et nutriments à la plante	31
11	Observation microscopique des racines mycorhizées colorées au bleu trypan	31
12	Les cinq sections systématiques de <i>Trichoderma sp.</i> et quelques-unes des espèces y appartenant	38
13	Illustration des deux sections de <i>T. viride</i> parmi les cinq reconnus par Bissett (1991)	39
14	Modes d'actions de <i>Trichoderma</i>	41
15	Photomicrographies de <i>Trichoderma viride</i>	42
16	Mécanismes de mycoparasitisme exercés par les souches de <i>Trichoderma</i>	43
17	Préparation de l'inoculum de <i>Trichoderma viride</i>	46
18	Spores des CMA (A : <i>Glomus sp.</i> et B : <i>Acaulospora sp.</i>) sous microscope optique	46
19	La multiplication des CMA avec la plante de maïs (<i>Zea mays</i>)	47
20	Préparation de l'inoculum de <i>Fusarium oxysporum</i>	48
21	Les différentes étapes de préparation des graines (dès la désinfection jusqu'à la germination)	49

22	Témoin négatif sain	50
23	Témoin de CMA	51
24	Inoculation de <i>Trichoderma vivide</i>	51
25	Inoculation de <i>F. oxysporum</i>	52
26	Inoculation du poquet de traitement T6 par <i>T. viride</i>	52
27	Les étapes de ré-isolement de <i>Fusarium oxysporum</i>	55
28	Schéma de coloration des échantillons racinaires	56
29	Méthodes de tamisage et de filtration des spores de CMA	57
30	Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	59
31	Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	59
32	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection	60
33	Incidence de la maladie de fusariose	61
34	Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par <i>T. viride</i>	62
35	Amélioration des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt-deux (22) jours de traitement	63
36	Evaluation du poids frais et sec des deux parties végétatives des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement	63
37	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement	64
38	Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par les CMA	66
39	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement	67
40	Les résultats de ré-isolement du <i>F. oxysporum</i>	68
41	Aspect macroscopique et microscopique de <i>T. viride</i> après ré-isolement	69
42	Vérification de la présence des mycorhizes au niveau des racines	69
43	résultats de ré-isolement des spores des CMA	70

sommer

	page
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur la tomate	
I.1- Définition de la tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	3
I.2- L'origine de la tomate	3
I.3- Nomenclature	3
I.4- La classification variétale	4
I.4.1- Les variétés déterminées	4
I.4.2- Les variétés indéterminées	4
I.5- Classification botanique de la tomate	4
I.6- La composition biochimique de la tomate	4
I.7- Morphologie de la tomate	5
I.7.1- L'appareil végétatif	5
I.7.1.1- Racines	5
I.7.1.2- Tiges	5
I.7.1.3- Feuilles	6
I.7.2- L'appareil reproducteur	6
I.7.2.1- Fleurs	6
I.7.2.2- Fruits	6
I.7.2.3-Graines	7
I.8- le cycle biologique de la tomate	7
I.8.1- Germination	8
I.8.2- Croissance	8

I.8.3- Floraison	8
I.8.4- Fructification/maturation	8
I.9- Importance économique de la tomate	9
I.9.1- Dans le monde	9
I.9.2- En Algérie	9
I.10- Les maladies de la tomate	10
I.10.1- Les maladies cryptogamiques	10
I.10.1.1- Pourriture grise de la tomate	10
I.10.1.2- <i>Alternaria solani</i> (Alternariose)	10
I.10.1.3- Oïdium	11
I.10.1.4- Rhizoctone	11
I.10.1.5- Mildiou	11
I.10.1.6- Fusariose	12
I.10.2- Maladies virales	12
I.10.2.1- Virus de jaunissement et feuille en cuillère de la tomate (TYLC)	12
I.10.2.2- virus mosaïque de la tomate (ToMV)	12
I.10.2.3- Virus de la maladie bronzée de la tomate (TSWV)	12
I.10.3- Maladies bactériennes	13
I.10.3.1- La moucheture bactérienne	13
I.10.3.2- Le chancre bactérien	13
I.10.4- Les ravageurs	13
I.10.4.1- La mineuse	13
I.10.4.2- Les pucerons	14
Chapitre II : L'agent pathogène	
II.1- Définition du <i>Fusarium</i>	15
II.2- Taxonomie de <i>Fusarium</i>	15
II.3- Description morphologique	16
II.4- L'écologie de <i>F. oxysporium</i>	17
II.5- <i>Fusarium oxysporum</i> phytopathogènes	17

II.6- Le cycle de développement	18
II.7- Spécificité parasitaire	20
II.8- La fusariose causée par <i>F. oxysporum</i>	20
II.8.1- Fusariose des racines et du collet (pourriture des racines)	20
II.8.1.1- Cycle évolutif	21
II.8.2- Fusariose vasculaire	21
II.8.2.1- Symptômes	21
II.8.2.2- Cycle évolutif	22
II.9- Les méthodes de lutte contre <i>F. oxysporum</i>	22
II.9.1- La lutte chimique	22
II.9.2- La lutte culturale	22
II.9.3- La lutte biologique	23
Chapitre III : Les agents de biocontrol	
III.1- Les mycorhizes	24
III.1.1- Définition des mycorhizes	24
III.1.2- Classification classique	24
A) les Glominées	25
B) les Gigasporinées	25
III.1.3- Les différents types des mycorhizes	26
III.1.3.1- Les ectomycorhizes	26
III.1.3.2- Les endomycorhizes	26
III.1.3.3- Les ectendomycorhizes	27
III.1.4- Ecologie des CMA	27
III.1.5- Les stades de contacts mycorhize-plante	27
III.1.5.1-Phase asymbiotique	27
III.1.5.2- Phase pré-symbiotique	28
III.1.5.2.1- Signaux émis par les végétaux	28
III.1.5.2.2- Signaux émis par les CMA	29
III.1.5.3- Phase symbiotique	29
III.1.6- Mécanismes d'action	30

III.1.6.1- Croissance et nutrition	30
III.1.6.2- Morphologie racinaire	31
III.1.6.3- Mécanismes de défense	32
III.1.6.3.1- Résistance aux stress abiotiques	32
III.1.6.3.2- Résistance aux stress biotiques	33
III.1.6.4- Interactions mycorhize – parasite	34
III.1.6.5- Microflore du sol	35
II.2- <i>Trichoderma</i>	36
III.2.1- Données sur le genre <i>Trichoderma</i>	36
III.2.2- Taxonomie de <i>Trichoderma</i>	36
III.2.3- Morphologie de <i>T. viride</i>	38
III.2.4- Emploi de <i>Trichoderma</i>	39
III.2.4.1- Les promesses de l'antagonisme dans le sol	39
III.2.4.2- L'antagonisme de <i>Trichoderma</i> hors du sol	39
III.2.4.3- Stimulation de la croissance de la plante	40
III.2.4.4- Induction de la résistance systémique	40
III.2.4.5- Effets de la colonisation des racines sur le métabolisme de la plante (effet bénéfique)	41
III.2.5- Mode d'action	42
III.2.6- Mycoparasitisme et enzymes lytiques	42
III.2.6.1- La Stimulation	42
III.2.6.2- La Reconnaissance et l'Enroulement	42
III.2.6.3- La pénétration et la lyse	43
III.2.7- Antibiose et métabolites secondaires	43
III.2.8- Compétition pour les nutriments et l'espace	44
Partie II : Matériels et méthodes	
1- Matériels biologiques utilisés	45
1.1- Matériel végétal	45
1.2- L'agent antagoniste	45
1.2.1- La préparation de l'inoculum de <i>Trichoderma viride</i>	45

1.3- Les champignons mycorhziens arbusculaires (CMA)	46
1.3.1- La préparation de l'inoculum de CMA	46
1.4- L'agent pathogène	47
1.4.1- Multiplication du <i>F. oxysporum</i>	47
1.5- Mise en place de l'expérience	48
1.5.1- Désinfection et pré-germination des graines de tomate (Super strain)	48
1.5.2- La préparation du sol	49
1.5.3- Le dispositif expérimental de l'essai	50
1.6- Mode d'inoculation	50
1.6.1- L'inoculation des CMA	51
1.6.2- L'inoculation de <i>Trichoderma viride</i>	51
1.6.3- L'inoculation de <i>F. oxysporum</i>	51
1.6.4- Test de combinaison	52
1.6.5- Traitement	52
1.7- La collecte des données	52
1.7.1- Mesure des paramètres de croissance des plants de tomate (Super Strain)	53
1.7.2- La vérification de la présence de l'agent pathogène, de <i>Trichoderma</i> et des CMA	54
1.7.2.1- Le ré-isolement de <i>F. oxysporum</i>	54
1.7.2.2- Le ré-isolement de <i>Trichoderma viride</i>	55
1.7.2.3- La vérification de la présence des CMA	55
1.7.2.4- Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne	55
1.7.2.5- Les paramètres d'évaluation	56
1.7.2.6- Extraction des spores de CMA à partir du sol	57
Partie III : Résultats et discussion	
I- Développement de la maladie après quinze jours d'infection	58
I.1- Effets de <i>F. oxysporum</i> sur le développement des plantules de tomate (Super strain)	58
I.1.1- Effet sur la hauteur et poids des plants de tomate (Super strain)	58

inoculés	
I.1.2- Effet de <i>F. oxysporum</i> sur les pourcentages de la matière sèche et en eau	60
I.1.3- L'incidence de la maladie de <i>F.oxysporum</i>	60
II.1- Réduction de la maladie après traitement par <i>T. viride</i>	61
II.1.1- Effet de <i>T.viride</i> sur l'incidence de la maladie	61
II.1.2- Effets de <i>T.viride</i> sur les paramètres de croissance (longueur et le poids frais et sec) des plantules de tomate (Super strain)	62
II.1.3- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par <i>T. viride</i>	64
II.2- Effet des CMA sur le développement des plantules de tomate	64
II.2.1- Estimation des paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain) mycorhizés	64
II.2.2- Estimation des paramètres d'inoculation mycorhizienne des plantes de tomate	65
II.2.3- Effets des CMA sur l'incidence de la maladie	66
II.2.4- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par CMA	66
II.3- Les tests de vérification de la présence de l'agent pathogène, de <i>Trichoderma</i> et des CMA	67
II.3.1- Test de ré-isolement de <i>F. oxysporum</i>	67
II.3.2- Test de ré-isolement de <i>Trichoderma viride</i>	68
II.3.3- Vérification de la présence des CMA	69
II.3.4- Test de ré-isolement des spores des CMA	70
III- Discussion	71
Conclusion et perspectives	74
Références bibliographiques	76
Annexe	

Liste des abréviations

ATP : Adénosine triphosphate.

°C : Degré Celsius.

CMA : Champignons mycorhizes arbusculaires.

E(%) : Pourcentage en eau.

F(%) : Fréquence de la mycorhization.

FOL : *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici*.

FORL : *F. oxysporum* f. sp. *Radicis. Lycopersici*.

Ha : Hectare.

I(%) : Intensité globale de la mycorhization.

KOH : Hydroxyde de potassium.

Max : Maximum.

Min : Minimum.

MS(%) : Pourcentage en matière sèche.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

PCR : Poluymérase chain reaction ; amplification en chaîne par polymérase.

PDA : Potato Dextrose Agar.

PH : Potentiel hydrogène.

PPA : Pré-Pénétration apparatus.

Qx : Quinto.

SAU : Superficie agricole utile.

USA : États-Unis d'Amérique.

UI : Unité internationale.

Introduction

Partie I:
Synthèse bibliographique

Introduction

La tomate (*Solanum lycopersicum*) fait partie de la grande famille des solanacées à côtés de la pomme de terre, de l'aubergine, du poivron et du piment. Considérée comme premier légume après la pomme de terre et deuxième ressource alimentaire mondiale après les céréales. Elle est adaptée à des conditions de culture très variés et destinée à la consommation en frais ou à la transformation industrielle (**Causse et al., 2000**). Elle est l'objet des nombreuses recherches scientifiques servant comme plante modèle en génétique. Elle a donné naissance à la première variété génétiquement transformée autorisée à la consommation commercialisée aux États-Unis dans les années 1990 (**Anonyme, 2010**).

Dès la levée et pratiquement jusqu'à récolte, la majorité des cultures maraîchères tel que, la tomate est confrontée à des nombreuses contraintes d'ordres biotique et abiotique. Parmi les contraintes biotiques, la pression des parasites constituent la contrainte majeure entraînant une réduction des rendements. Toutefois, la production de tomate sous serre reste toujours freinée par certaines maladies dont la fusariose des racines et du collet (*Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*) qui cause d'importantes pertes dans les cultures hors sols. Il est capable d'envahir l'ensemble vasculaire de la plante provoquant ainsi son obstruction et par la suite l'affaiblissement de la plante qui finit par mourir (**Ozbay et Newman, 2004**).

En Algérie, cette maladie rapportée pour la première fois par **Bouznad et al., (1990)**, est considérée parmi les maladies les plus importantes sur les légumineuses telles que le pois chiche où des prospections réalisées dans les différentes régions du pays, ont révélé la forte présence de cette maladie.

Par ailleurs, l'utilisation intensive et systématique des pesticides pose des problèmes environnementaux (pollution des nappes, présence des résidus dans les sols et les végétaux) et affectent aussi la santé humaine et animal. Le développement d'une agriculture durable exige l'usage des méthodes de protection des plantes alternatives respectueuses de l'homme et de l'environnement. La lutte biologique, basée sur l'utilisation des organismes naturels antagonistes des agents phytopathogènes, pourrait constituer une solution prometteuse.

Cette stratégie préventive consiste à stimuler les défenses naturelles des plantes par mycorhization et par l'utilisation des isolats du genre *Trichoderma*. Le *Trichoderma* et les CMA semblent réduire l'incidence ou la sévérité des effets causés par certains champignons phytopathogènes racinaires tels

que *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Phytophthora* et *Pythium* (**Whipps, 2004; Kubicek et al., 2003**)

Ces dernières années la lutte biologique par l'utilisation d'agents antagonistes fongiques, bactériens, et d'autre part, l'application des mycorhizes sur les plantes renforcent le système de défense chez cette dernière. En outre, cette stratégie a été envisagée contre le *Fusarium oxysporum*. Par conséquent, la lutte biologique pourrait offrir des potentialités pour la suppression de la fusariose en plein champ, particulièrement lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec des cultivars partiellement résistants et un choix adéquat de la date de semis (**Landa et al., 2004**).

C'est dans cette optique que s'inscrit la présente étude dont l'objectif est d'identifier une méthode efficace de lutte biologique qui constitue une alternative suscitant plus d'espoir dans la lutte contre les pathogènes du sol. De façon spécifique, il s'agit d'évaluer: l'effet des champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) sur *F. oxysporum*; l'effet de *Trichoderma* sur cet agent pathogène ; les effets combinés des CMA et de *Trichoderma viride* sur *F. oxysporum*. Ainsi, notre travail est composé de trois parties, la première partie porte sur l'étude bibliographique de la plante hôte (la tomate), l'agent pathogène *F. oxysporum* et les agents de biocontrol.

La deuxième partie représente la partie expérimentale qui comprend : matériels et méthodes, la troisième partie représente les résultats et discussions et enfin terminé par une conclusion et perspectives.

Chapitre I: Généralités sur la tomate



I.1- Définition de la tomate (*Solanum lycopersicum*)

La tomate est une plante herbacée de la famille des solanacées, cultivée pour son fruit. Le terme désigne à la fois la plante et le fruit charnu qui, bien qu'il soit biologiquement un fruit, est considéré comme un des légumes les plus importants dans l'alimentation humaine (**Nguyen et Schwartz, 1998**). La tomate est un aliment diététique riche en eau et pauvre en calories. Le fruit renferme aussi beaucoup d'éléments minéraux et des vitamines, dont la plus importante en quantité est la vitamine C (**Nguyen et Schwartz, 1998**).

I.2- L'origine de la tomate

La tomate est originaire d'Amérique du Sud et c'est au Mexique qu'elle a été cultivée en premier, puis a été introduite par les Espagnols au 16^{ème} siècle en Espagne et en Italie. A partir de la fin du 18^{ème} siècle, la tomate a été considérée comme un légume (avant c'était une plante ornementale), et quelques milliers des variétés ont été créées dans le passé. De nos jours, nous ne pouvons trouver couramment que quelques dizaines des variétés chez les semenciers, et une dizaine des variétés sous forme de plantons. Lors de l'achat des graines, les informations sur la maturité du légume, sur la résistance aux maladies ou la culture en pleine terre ou sous serre sont généralement indiquées sur l'emballage. Bien souvent, ces informations utiles font défaut lors de l'achat de plantons.

La tomate (*Solanum lycopersicum*) appartient à la famille des Solanaceae, à laquelle appartiennent également le piment, le poivron, l'aubergine et la pomme de terre (**Pitrat et Foury, 2004**).

I.3- Nomenclature

En 1753, le botaniste **Suédois Linnaeus** l'a nommée *Solanum lycopersicum*, mais 15 ans plus tard Philippe Miller a remplacé le nom donné par Linnaeus, par *Lycopersicon esculentum*. Bien les taxonomistes aient récemment réintroduits son nom original *Solanum lycopersicum* (**Heiser et Anderson, 1999**).

Le nom du genre *Lycopersicon* est un composite gréco- latin, il signifie «pêche de loup». Le nom *esculentum* vient du latin, il signifie «comestible». Cette comestible ne concerne ni le feuillage, ni les jeunes fruits verts, qui contiennent des alcaloïdes toxiques (tomatine et solanine). Ces alcaloïdes disparaissent des fruits au cours de leur développement (**Pitrat et Foury, 2004**).

I.4- La classification variétale

I.4.1- Les variétés déterminées

Dans ce groupe, on trouve des variétés dont la tige émet un nombre donné de bouquets à fleurs. Mais cette tige principale est terminée par un bouquet à fleurs, comme d'ailleurs les rameaux anticipés, il en résulte que faute de bourgeon terminal la croissance de la tige s'arrête d'elle-même. Elles sont utilisées généralement lors de la culture en plein champs (**Laumonnier, 1979**).

I.4.2- Les variétés indéterminées

Ces variétés présentent une tige principale poussant avec régularité et formant un bouquet à fleurs toutes les trois feuilles généralement. Il en résulte que la production des fruits est prolongée. On peut l'arrêter par un pincement du bourgeon terminal à la hauteur souhaitée. Ce groupe se caractérise par un rendement important qui s'étale sur une longue période (**Laumonnier, 1979**).

I.5- Classification botanique de la tomate

Cronquist (1981), Gausson et al. (1982), rappellent que la tomate appartient à la classification suivante (tableau 1) :

Tableau 1 : La classification de tomate (**Cronquist, 1981; Gausson et al., 1982**)

Règne	Plantae
Sous règne	Trachenobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Soloniales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Solanum ou Lycopersicum</i>

I.6- La composition biochimique de la tomate

La tomate est le fruit le plus cultivé et le plus consommé parmi les plantes horticoles dans le monde. Pour sa richesse dans la composition de ces fruits, elle constitue la principale source de nourriture dans plusieurs pays (Tableau 2) (**Anonyme, 1999**).

Tableau 2 : La teneur de la tomate en éléments nutritifs « pour 100g » (**Anonyme, 1999**)

Eléments	Teneur
Vitamine A	600 U.I
Vitamine C	601 mg
Vitamine B ₁	0.06 mg
Vitamine B ₂	0.04 mg
Niacine	0.5 mg
Calcium	7 mg
Sodium	8 mg
Fer	0.6 mg
Potassium	207 mg
Glucides	4 mg
Protéines	1 mg
Eau	94 mg

I.7- Morphologie de la tomate

I.7.1- L'appareil végétatif

I.7.1.1- Racines

Forte racines pivotantes qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité des racines latérales et adventices (**Naika et al., 2005**).

I.7.1.2- Tiges

Elles sont vertes, épaisses aux entre-nœuds. Elles disposent de deux types des poils blanchâtres : des poils simples et des poils glanduleux qui contiennent une huile essentielle, qui donne l'odeur de la tomate et la coloration verte. Elles portent les feuilles, les fleurs et les fruits. Une tige peut porter des nombreuses ramifications (appelées axillaires) et a une croissance indéterminée ou déterminée selon les variétés (**Kolev, 1976**).

I.7.1.3- Feuilles

Les feuilles sont composées de (5 à 10) folioles principales. Elles ont une disposition alternée sur la tige, longues de (10 à 25) cm et d'un certain nombre de petites folioles intercalaires ovales, un peu dentées sur les bords. Elles sont souvent repliées en forme de cuillères ou même à bords roulés en dessus (**Judd et al., 2002**).

I.7.2- L'appareil reproducteur

I.7.2.1- Fleurs

Les fleurs de la tomate sont des organes bisexués. Elles sont hermaphrodites et auto fécondes et regroupées sur le même pédoncule en bouquet lâche en inflorescence formant des grappes plus ou moins bifurquées de (3 à 8) fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides. Le tube du calice est court et velu, comporte 5 sépales, il est persistant après la fécondation et subsiste au sommet du fruit. Androcée comporte 5 étamines latérales, les anthères allongées forment un cône resserré autour du pistil ; celui-ci est constitué de deux carpelles soudés formant un ovaire super biloculaire à 2 loges et à placenta central (**Judd et al., 2002**) (figure 1).

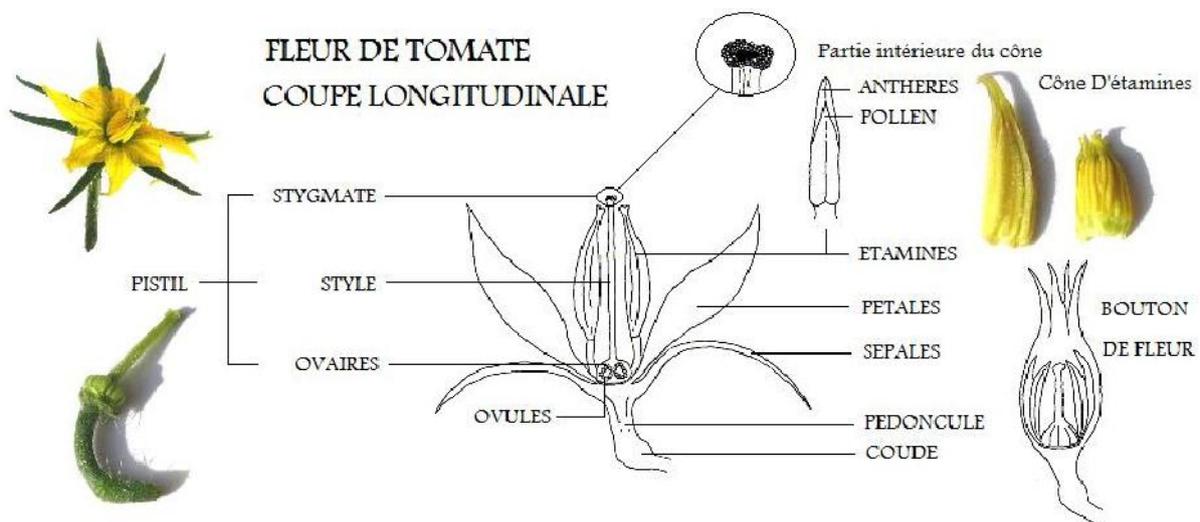


Figure 1 : Coupe longitudinale de la fleur de la tomate (**Rac, 2010**)

I.7.2.2- Fruits

Le fruit est une baie plus ou moins grosse, avec épiderme lisse brillant de forme variable (sphérique, oblongue, allongée), et des couleurs variées (blanche, rose, rouge, jaune, orange, verte, noire) selon les variétés. La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges. Le placenta

constitue la partie centrale du fruit et est à l'origine des tissus parenchymateux. Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendants des variétés (**Shankara et al., 2005**).

I.7.2.3-Graines

Les graines sont nombreuses, réparties dans des loges remplies de gel en forme de rein ou de poire, poilues, beiges, de (3 à 5) mm de long et de (2 à 4) mm de large. Elles sont recouvertes d'un mucilage, L'embryon est enroulé dans l'albumen. Le poids de mille graines est en moyenne de 3 g. Le cycle de la graine, est variable selon les variétés et les conditions de culture, il est en moyenne de (3.5 à 4) mois (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) (**Naika et al., 2005**) (figure 2).

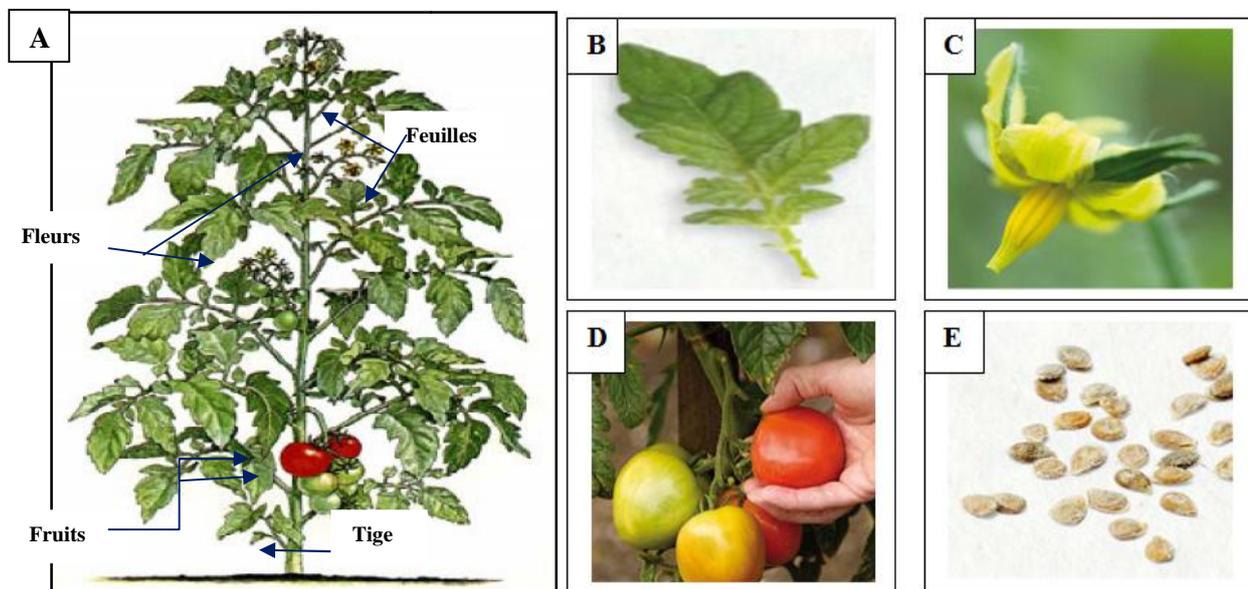


Figure 2: Différents organes de la tomate

A : la plante entier **B:** les feuilles **C :** la fleur **D:** les fruits **E :** les graines (**Shankara et al., 2005**)

I.8- le cycle biologique de la tomate

Un cycle végétatif complet de la tomate est comprend 4 phases principales il est différent d'une variété à l'autre et selon les conditions de culture, il s'étendu en général en moyenne de 3.5 à 4.5 mois (**Claude et Yves, 1999**), ces phases sont les suivantes (figure 3) :

I.8.1- Germination

La graine de tomate peut, si les conditions sont favorables. Germer immédiatement après sa dissémination et ne nécessite pas d'étape de vernalisation (culture de tomate). La germination est épigée dans de bonnes conditions (25 °C), le stade de cotylédons étalés est atteint en une douzaine des jours (**Dégrément, 2009**).

I.8.2- Croissance

La croissance est sympodiale, chaque sympode étant constitué de 3 feuilles et d'une inflorescence. Elle se poursuit ainsi de façon indéfinie, la croissance est dite indéterminée. Des ramifications, elles aussi à croissance indéterminée, partent de l'aisselle de feuille, mais on les supprime en culture.

Ainsi la tomate, plante herbacée cultivée comme plante annuelle, serait en fait une plante pérenne si elle n'était pas sensible au gel (**Claude et Yves, 1999**).

I.8.3- Floraison

La croissance continue. Deux et demi mois environ le semis, la première inflorescence apparaît. Les autres inflorescences vont apparaître au-dessus de la première, avec entre chaque inflorescence, un nombre variable des feuilles : d'une à quatre. La floraison s'échelonne donc de base en haut. La floraison dure 1 mois à 1 mois et demi, c'est-à-dire de deux mois et demi à trois et demi- quatre mois après le semis (**Dégrément, 2009**).

I.8.4- Fructification/maturation

Elle débute durant la phase de floraison. Elle commence par la nouaison des fruits de l'inflorescence de base et se poursuit par les inflorescences supérieures au fur et à mesure de l'apparition des inflorescences et de la fécondation des fleurs.

Les fleurs se développent, grossissent et après avoir atteint leur taille définitive, ils commencent par perdre leur coloration verte au profit du jaune puis au rouge de plus en plus accentué. Cette phase dure environ deux mois, soit de quatre à six mois après le semis.

La durée du cycle végétatif complet de la tomate est de 4 à 5 mois environ pour les semis direct en pleine terre et de 5 à 6 mois pour les plants repiqués. En contre saison, le cycle végétatif s'allonge et il peut atteindre 7 mois (Viron, 2010) (figure 3).

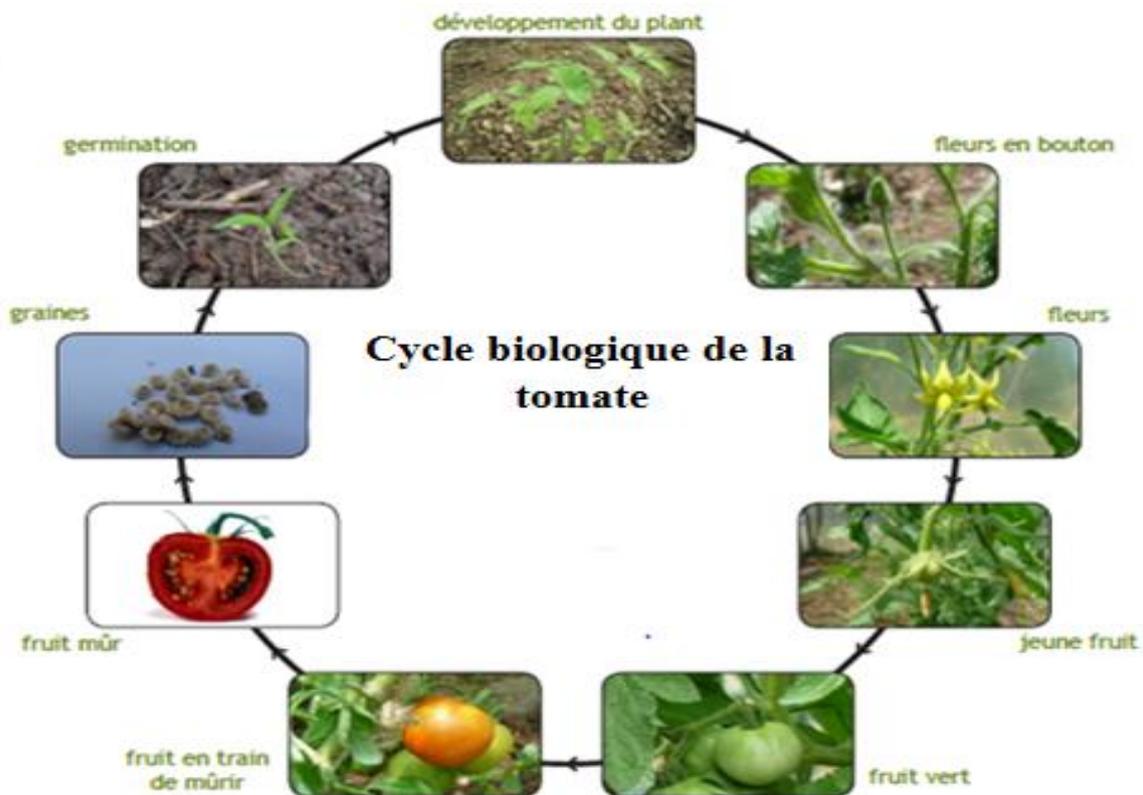


Figure 3 : Cycle biologique de la tomate (viron, 2010)

I.9- Importance économique de la tomate

I.9.1- Dans le monde

La tomate est l'une des principales productions légumières dans le monde, et particulièrement dans les pays tropicaux et les pays du bassin méditerranéen, elle est cultivée dans plus de 130 pays sur une surface avoisinante 2,5 millions Ha (Blancard, 2009).

I.9.2- En Algérie

La culture de la tomate en Algérie se place en seconde position après la pomme de terre. Il est occupé une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne.

Près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (Madr, 2009).

La tomate est principalement cultivée dans les régions Est : Annaba, El Taref, Guelma, Skikda, avec une superficie agricole utile (SAU) de plus de 60 % (Snoussi, 2010).

I.10- Les maladies de la tomate

Différentes maladies rencontrées sur la tomate de la levée et pratiquement jusqu'à leur récolte, les cultures de tomate sont sujettes à des maladies ayant pour causes divers agents pathogènes, nématodes, virus, bactéries, champignons et insectes.

I.10.1- Les maladies cryptogamiques

I.10.1.1- Pourriture grise de la tomate

Est considérée parmi les maladies les plus redoutables en culture sous serre, elle est causée par *Botrytis cinerea*, ce champignon peut attaquer toutes les parties de la plante principalement les feuilles, la tige et le fruit. La maladie se manifeste sous forme de taches beiges en anneaux concentriques par fois en forme de flamme en plus des chancres de couleurs gris beige légèrement déprimés avec un duvet grisâtre constitué des fructifications conidiennes du champignon. Sur fruit, on observe une pourriture molle avec affaiblissement des tissus qui débute généralement au niveau des sépales ou pétales desséchés. On peut aussi observer des anneaux blanchâtres appelés taches fantômes.

Une humidité relative de 90% et une température (17 à 23) °C sont les facteurs qui favorisent cette maladie. *Botrytis* est un champignon de faiblesse, alors lors de l'effeuillage, ébourgeonnement. Il y a une propagation importante de l'infection (El akel et al., 2001).

I.10.1.2- *Alternaria solani* (Alternariose)

Cette maladie est induite par *Alternaria solani* provoquant des taches foliaires nécrotiques, de contour arrondi ou irrégulier, d'une dimension de l'ordre d'un centimètre, présentant une zonation plus ou moins régulière, souvent entourées d'un halo jaune. En plus de taches foliaires, l'alternariose peut aussi provoquer des graves lésions sur les tiges, Sur les fruits, il induit l'apparition des taches concentriques déprimées à la base du pédoncule.

Le développement de cette maladie est favorisé par l'humidité élevée et des températures entre (18 et 25) °C. Les plantes mal fertilisées ou très chargées en fruits seraient plus sensibles. L'alternariose est transmissible par les semences (**Strandberg, 1992**).

I.10.1.3- Oïdium

Le champignon *Leveillula taurica* est responsable des taches jaunes sur le dessus des feuilles, des spores blanches et poudreuses se développent sur ces taches, tant sur le dessus que le dessous des feuilles. En cas d'infection grave, on constate une sénescence des feuilles et des baisses de rendement. L'agent pathogène n'infecte ni les fruits, ni les tiges le développement de la maladie est favorisé par une humidité relative comprise entre (50 et 70)% et une température entre (20 et 25) °C (**El akel et al, 2001**).

I.10.1.4- Rhizoctone

Est une maladie causée par *Rhizoctonia solani* qu'est un champignon tellurique responsable de fonte des semis, il peut entraîner des lésions brun rougeâtre sur toutes les parties de la graine germée. Il produit aussi des chancre situés au collet.

Il est particulièrement présent dans les sols maraichères ayant porté à plusieurs reprises des cultures légumineuse. Il semble pouvoir se développer aussi bien dans les sols humides et lourds que les sols plus légers et plus secs à des températures comprises entre (15 et 26) °C (**Blancard, 1988**).

I.10.1.5- Mildiou

Le mildiou, causé par *Phytophthora infestans*, est l'une des maladies les plus dévastatrices trouvées dans la culture de tomate à travers le monde.

Le pathogène *Phytophthora infestans* forme sur feuille de larges taches, d'abord jaunâtres puis brunes, si les conditions sont favorables le pourtour reste claire à la face supérieure et couvert d'un duvet blanchâtre à la face inférieure. Et sur fruit on observe des taches brunes marbrées.

Le cycle de vie de l'agent pathogène, peut être complété en 3-4 jours, l'accumulation rapide de l'inoculum se produit généralement dans les champs ou sous abris pendant la saison favorable, soit température moyenne entre (20 et 22) °C et une humidité relativement élevée, par contre une atmosphère sèche et des températures proches de 30°C détruisent le pathogène (**Céspedes et al., 2013**).

I.10.1.6- Fusariose

Selon **Blancard (2009)**, la fusariose causée par le champignon tellurique *Fusarium oxysporum f. sp.* est parmi les maladies les plus dévastatrices de tomate.

Les symptômes extérieures de cette maladie apparaissent d'abord comme un jaunissement des feuilles du bas, souvent d'un seul côté de la plante. Celle-ci se fane et meurt lentement. Le tissu ligneux des plantes malades est coloré en brun rougeâtre, en stries longitudinales.

A l'extérieur des tiges, on observe l'apparition des racines adventives avortées. La fusariose est favorisée par les températures élevées (optimum 28 °C). La fusariose est transmissible par les semences.

I.10.2- Maladies virales

I.10.2.1- Virus de jaunissement et feuille en cuillère de la tomate (TYLC)

Le virus qui est transmis par *Bemisia tabaci* (la mouche blanche) dans les pépinières cause un arrêt de croissance, une chlorose marginale et un recroquevillèrent en cuillère des feuilles. La production est fortement réduite lorsque les symptômes apparaissent avant la floraison. La mouche blanche est surtout présente de septembre à décembre (**Trottin-Caudal, 2011**).

I.10.2.2- Virus mosaïque de la tomate (ToMV)

Le symptôme dépendra de la variété, l'âge de la plante au moment de l'infestation, et l'état de l'environnement. Le virus provoque : marbrures et rugosité des feuilles, nanisme. Des rendements réduits et roussissement des fruits. La transmission se fait par des pucerons (**Trottin-Caudal, 2011**).

I.10.2.3- Virus de la maladie bronzée de la tomate (TSWV)

Les symptômes du TSWV sont très variés. Sur les feuilles, on peut observer un symptôme de mosaïque vert clair à vert foncé, des taches chlorotiques à nécrotiques, parfois en anneaux, apparaissant sur les faces supérieures puis inférieures, des plages rouge brun, plus nombreuses et confluentes à la base des folioles, qui deviennent légèrement enroulées (**Trottin-Caudal, 2011**).

I.10.3- Maladies bactériennes

I.10.3.1- La moucheture bactérienne

Est causée par la bactérie *Pseudomonas syringae* elle s'installe sur les feuilles, la maladie se manifeste sous forme de minuscules taches noires, entourées d'un halo jaune constituant le symptôme le plus caractéristique.

Sur fruit, Apparaissent des petites lésions superficielles brunes circulaires pouvant entraîner sa déformation est causé par la bactérie *Xanthomonas campestris*, qui provoque des gales bactériennes, se manifeste sous forme de taches sur toutes les parties aériennes de la plante. Ces taches sont souvent plus grosses que celles de la moucheture sur fruit, de petites pustules brunâtres d'aspect liégeux, sont observées. Au grossissement du fruit, ces gales s'entourent d'un halo huileux (Blancard, 1988).

I.10.3.2- Le chancre bactérien

Est causé par la bactérie *Clavibacter michiganensis*. La maladie se manifeste souvent par un flétrissement, souvent unilatéral, qui débute par les feuilles de la base. Les folioles s'incurvent sur les bords avant de flétrir. Des stries noires apparaissent souvent sur les pétioles et sur les tiges.

Sur tige, une coupe longitudinale permet de montre un fil blanchâtre, jaunâtre ou brunâtre au niveau des tissus vasculaires. La décoloration de la moelle et son détachement des tissus vasculaires (Blancard, 1988).

I.10.4- Les ravageurs

I.10.4.1- La mineuse

Les larves de *Tuta absoluta* creusent des mines dans les feuilles au point d'avoir les deux épidermes de la face supérieure et inférieure transparents. Sur fruit, des galeries peuvent être observées sur les sépales et au niveau de la tige, on observation des perforations et dessèchements sur la partie haute de la plante. Le seuil de développement de *Tuta absoluta* est de (7 à 9) °C selon les stades du ravageur.

Toutefois, à 4 °C, ces larves se maintiennent en conditions de laboratoire. Des températures constantes de 35 °C entraînent un arrêt de son développement. Par contre il serait maintenu dès qu'il y a alternance des températures de 25°C à 35°C (Trottin- Caudal, 2011).

I.10.4.2- Les pucerons

Leurs piqûres provoquent crispation ou l'enroulement des feuilles. Ils sont localisés sous les feuilles. Les pucerons secrètent un miellat sur lequel se développe la fumagine.

Dans les conditions de l'abri, les pucerons se multiplient très rapidement : à 20 °C le temps moyen de doublement de la population est de 2,4 à 5,1 jours. La durée de développement est très influencée par la température, à 20 °C elle est d'environ 8.9 jours (**Trottin- Caudal, 2011**).

Chapitre II: L'agent pathogène



II.1- Définition du *Fusarium*

Le genre *Fusarium*, décrit pour la première fois par **Linke** en **1809**, appartient à la famille des Tuberculariacées, dans le groupe des Hyphomycètes (champignons filamenteux). L'absence de reproduction sexuée permet de rattacher ces champignons aux Deutéromycètes (champignons imparfaits), regroupement artificiel de formes asexuées (ou anamorphes) variées, certaines espèces de *Fusarium* ont une forme sexuée, dite également forme parfaite ou téléomorphe, appartenant aux genres *Nectria* ou *Gibberella* dans l'ordre des Hypocréales, au des Ascomycètes. Comme pour tous les champignons, la classification originelle des *Fusarium* est basée sur des critères cultureux et surtout morphologiques établis par des observations microscopiques. Le caractère commun aux *Fusarium* est la production de macroconidies pluricellulaires en forme de croissant. Leur rattachement aux Tuberculariacées est lié à la formation des macroconidies sur des fructifications différenciées appelées sporodochies. D'autres types des spores asexuées peuvent être produits: des microconidies unicellulaires ou bicellulaires des formes variées, ainsi que des chlamydo-spore, spores de résistance. Les critères morphologiques utilisés pour la classification des *Fusarium* sont la forme et la taille des macroconidies, la présence ou absence des microconidies et des chlamydo-spores ainsi que leur forme, et la structure des conidiophores (**Gams et Nirenberg, 1989**).

II.2- Taxonomie de *Fusarium*

La multitude de systèmes taxonomiques proposés n'a pas contribué à simplifier l'identification de *Fusarium*. Cependant (**Nelson et al., 1983**) ont réalisé un travail de synthèse basé sur des nouvelles descriptions morphologiques ainsi que la sélection de critères communs aux classifications antérieures. Ces auteurs ont reconnu 30 espèces.

Depuis quelques années, les systématiciens ont en effet recours à de nouvelles méthodes, essentiellement moléculaires. Ces méthodes permettent non pas de remplacer, mais de compléter les études systématique classique reposant sur des critères morphologiques basée sur une approche phylogénétique, la systématique moléculaire présente l'avantage de rendre compte de l'évolution des organismes, ce qui facilite l'établissement des relations entre espèces et donc leur positionnement taxonomique (tableau 3) (**Mycobank, 2014**).

Tableau 3 : La classification du *Fusarium oxysporum* (Mycobank, 2014)

Classe	Sordariomycetes
Sous classe	Hypocreomycetidae
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	<i>Fusarium</i>
Espèce	<i>Fusarium oxysporum</i>

II.3- Description morphologique

Au niveau macroscopique, l'aspect cultural de *Fusarium oxysporum* sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) correspond à un mycélium aérien de croissance rapide, et de couleur variable allant du blanc au rose ou violet. Cependant, l'aspect des souches de *F. oxysporum* peut fréquemment varier d'une culture à l'autre après des repiquages successifs, voire dans une même culture où des sections de couleurs ou d'aspects différents peuvent apparaître (Burnett, 1984).

Au niveau microscopique, *F. oxysporum* se caractérise par: microconidies abondantes généralement monocellulaires, ovales ou réniformes, produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides courts.

Macroconidies fusiformes, également abondantes, comportent quatre à six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied.

Les chlamydospores sont présentes, solitaires ou en paires, lisses ou rugueuses, globuleuses terminales ou intercalaires de 5 à 15 µm de diamètre, ce sont des organes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région conidie qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée. Les organes massifs producteurs de spores; sont deux types. La sporodochie, est un organe fructifère forme d'axes ramifiés porteurs à leur extrémité les monophialides donnant naissance aux macroconidies. Les sporodochies peuvent être dispersées dans le mycélium aérien et invisible à l'œil nu dans les cultures. Lorsque les sporodochies sont rassemblées, elles apparaissent sous forme de pustules des quelques millimètres de diamètre visible à l'œil nu (Summerel et al., 1992) (figure4).

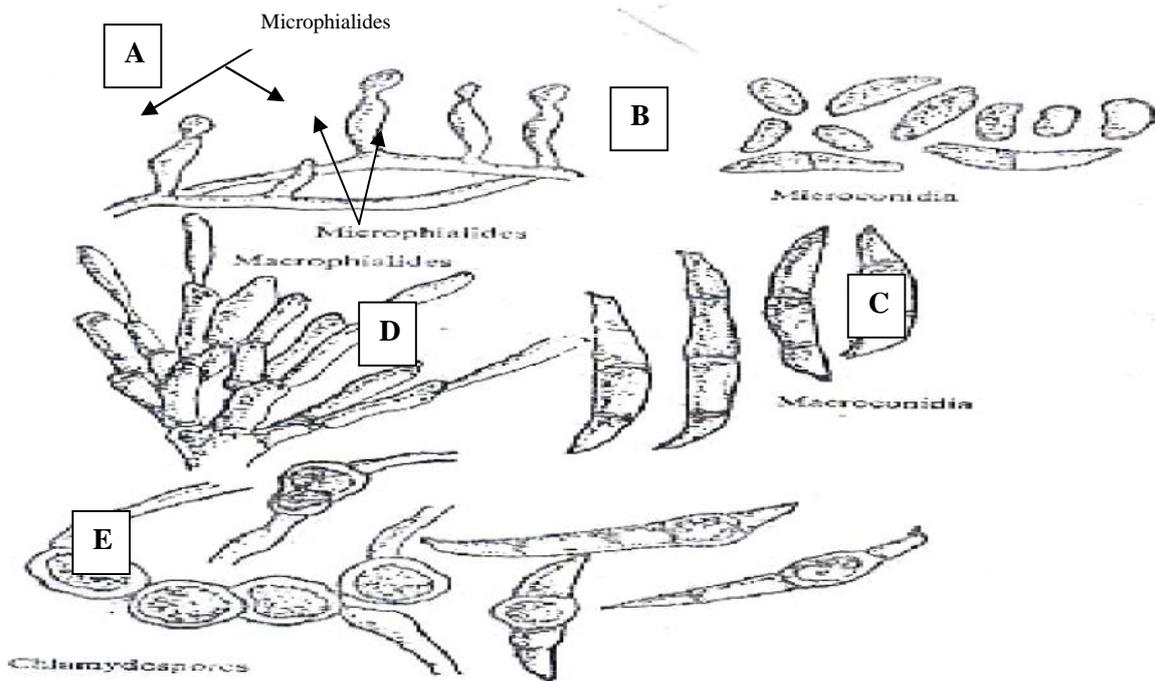


Figure 4 : L'espèce de *Fusarium* sous le microscope optique (Summerel et al., 1992)

A : Microphialides B : Microconidia C : Macroconidia D : Macrophialides E : chlamydospores

II.4- L'écologie de *F. oxysporium*

Chez les végétaux, *F. oxysporum* est un parasite tellurique qui commence son cycle de développement en infectant les racines et en envahissant les tissus conducteurs induisant une infection systémique. Le champignon migre dans les vaisseaux via les flux ascendants. Dans un hôte résistant, cette progression est stoppée dans les cribles au niveau desquels on observe des tyloses obstruants.

II.5- *Fusarium oxysporum* phytopathogènes

Fusarium oxysporum est une espèce fréquente parmi les *Fusarium* du sol, elle peut représenter jusqu'à 70% des isollements de *Fusarium* est couramment dénombrée à 10^3 propagules/g de sol (Ocamb et Juzwik, 1995) (tableau 4). C'est une espèce essentiellement saprophyte, mais elle a pourtant un rôle de premier plan en pathologie végétale. Il infecte les cultures maraîchères sous serres (tomate, melon, concombre), les palmeraies et bananeraies, et les cultures de coton. Certaines souches pathogènes provoquent des symptômes de pourriture racinaire. Mais la plupart des *F. oxysporum* pathogènes sont responsables de trachéomyose, maladie qui affecte le système vasculaire des plantes. On parle alors de fusariose vasculaire. Le mycélium colonise les tissus corticaux puis pénètre dans le cylindre central des racines, avant d'envahir l'ensemble des vaisseaux. L'infection entraîne un jaunissement des feuilles d'abord unilatéral puis généralisé, et

aboutit au flétrissement, au dessèchement, et enfin à la mort de la plante (**Ocamb et Juzwik, 1995**).

Tableau 4 : Les plus importantes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (**Massiaen et Cassini, 1981**)

Champignon	Hôte
<i>Fusarium oxysporum f.sp. betae</i>	Betterave
<i>Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum</i>	Concombre
<i>Fusarium oxysporum f.sp. fabae</i>	Fève
<i>Fusarium oxysporum f.sp. phasioli</i>	Haricot
<i>Fusarium oxysporum f.sp. lentis</i>	Lentille
<i>Fusarium oxysporum f.sp. melonis</i>	Melon
<i>Fusarium oxysporum f.sp. albedinis</i>	Palmier dattier
<i>Fusarium oxysporum f.sp. niveum</i>	Pastèque
<i>Fusarium oxysporum f.sp. batatas</i>	Patate douce
<i>Fusarium oxysporum f.sp. pisi</i>	Pois
<i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i>	Tomate

II.6- Le cycle de développement

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en l'absence de la plante-hôte, ils mènent une vie saprophyte sur des débris végétaux et les matières organiques. Les *Fusarium* sont très abondants dans le sol, les isollements effectués indiquent qu'un gramme du sol renferme près de 10^3 propagules (**Smith et al., 1965**), et les *F. oxysporum* représentent (40-70)% de la population fusarienne totale. Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme des spores des résistances qu'on appelle des chlamydospores ou ils passent dans un état de dormance.

En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines. Après pénétration dans une cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisant ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent intra cellulièrement 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 microconidies aisément véhiculées par la sève à l'extérieur, ils se

formant des organes fructifères à la surface des feuilles appelées sporodochies et développement des macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes (figure 5).

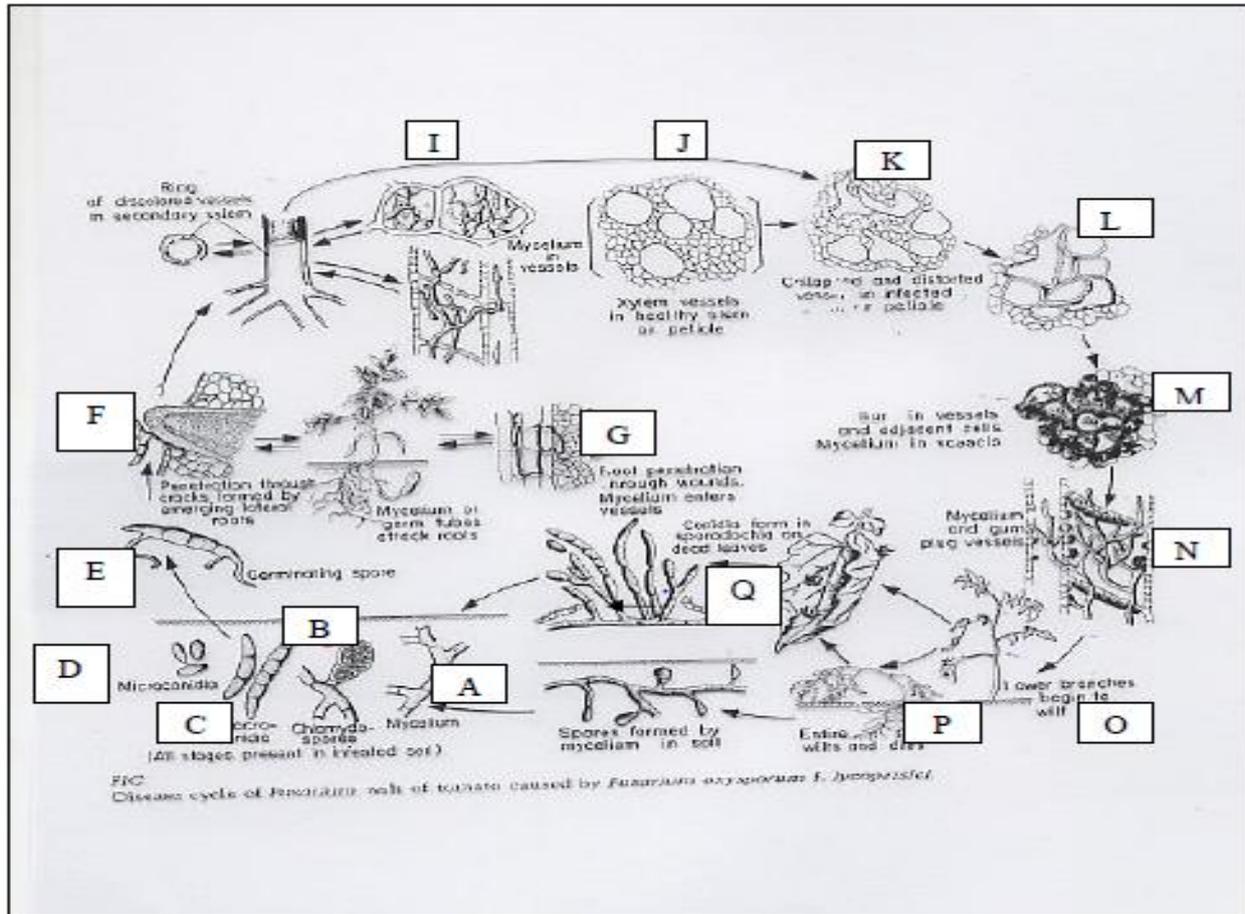


Figure 5 : Cycle biologique de *Fusarium oxysporum*f.sp. *lycopersici* (Agrios, 2005).

- A : Mycélium ;
- B : Chlamidospores ;
- C : Macroconidies ;
- D : Microconidies ;
- E : Spores qui germent ;
- F : Pénétration au niveau d'une racine latérale ;
- G : Pénétration dans la racine au niveau d'une blessure ;
- I : Mycélium dans les vaisseaux ;
- J : Vaisseaux du xylème d'une tige saine ;
- K=L : Effondrement et distorsion des vaisseaux dans une tige infectée ;
- M : Gomme dans les vaisseaux et les cellules adjacentes ;
- N : Mycélium et bouchon vasculaire ;
- O : Début d'apparition des symptômes ;
- P : Flétrissement et mort de la plante ;
- Q : Spores formées par mycélium dans le sol.

II.7- Spécificité parasitaire

Les souches pathogènes de *F. oxysporum* sont en général inféodées à une seule espèce végétale. Cette étroite spécificité d'hôte a conduit à définir les concepts de formes spéciales et des races physiologiques, critères intra spécifique qui différencient par leur plantes hôtes des souches morphologiquement identique. Une forme spéciale rassemble des souches pathogènes d'une même espèce végétale. Par exemple, les souches appartenant aux formes spéciales *lycopersici* ou *meloniss* ont responsables de la fusariose vasculaire de la tomate ou de melon, respectivement (Agrios, 2005).

II.8- La fusariose causée par *F. oxysporum*

Chez plusieurs espèces végétales, *F. oxysporum* est responsable des manques à la levée, des pourritures racinaires suivies de brunissements basaux, des flétrissements entraînant le dessèchement complet des plantes (Blancard, 2009).

La tomate est sujette à deux maladies fusarienne : la flétrissure fusarienne classique causée par *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (FOL) et la pourriture des racines et du collet causée par *F. oxysporum* f. sp. *Radicis. Lycopersici* (FORL). Cette dernière est connue parmi les maladies les plus dévastatrices de cette culture à travers le monde (Blancard, 2009).

II.8.1- Fusariose des racines et du collet (pourriture des racines)

La fusariose des racines et du collet est une maladie importante de la tomate de serre; elle a aussi été signalée sur la tomate de plein champ. La maladie peut affecter sévèrement de jeunes plantules de tomate et les tuer, mais elle attaque surtout les plantes qui portent des fruits. Sur la tomate de serre, les symptômes apparaissent habituellement justes avant la première cueillette. Les plantes infectées se remarquent souvent par l'amincissement marqué du sommet de leur tige. Le flétrissement des plantes débute par les feuilles du haut, et les tissus vasculaires prennent une coloration brun rougeâtre qui s'étend vers le haut de la tige sur 5 à 25 cm (Alexander, 1945). Par la suite, les feuilles inférieures deviennent brunes fauve en commençant par la pointe, et finissent par mourir. Les symptômes de flétrissement diminuent lorsque le temps est frais et nuageux, après la cueillette des fruits et l'arrosage des plantes. Des racines adventives peuvent se former sur la tige au-dessus des lésions. Les racines des plantes infectées montrent des lésions foncées brun rougeâtre qui rejoignent souvent les lésions présentes sur les hypocotyles. De petites lésions brun grisâtre apparaissent sur les racines principales au point d'émergence des racines secondaires. Les fruits des plantes affectées sont flasques et n'ont pas leur couleur brillante habituelle (Armstrong et

Armstrong, 1981). Les plantes mortes se couvrent de masses externes bien visibles de mycélium blanc rosâtre ou saumon.

II.8.1.1- Cycle évolutif

On ne sait comment le parasite s'introduit dans les zones et provoque la maladie. Il peut survivre dans le sol sous forme des chlamydospores, ainsi que dans les grosses racines et les mottes d'argile qui sont difficiles à stériliser. La fonte des semis survient parfois dans des plateaux de semis ou chez des plantules gravement atteintes; les symptômes ressemblent alors à ceux que causent les *Pythium*. Ceux-ci peuvent s'exprimer sous forme d'un flétrissement soudain des plantes adultes infectées, ce qui entraîne une mort précoce, ou sous forme d'un flétrissement graduel qui coïncide avec la mort progressive et acropétale des feuilles. Ces plantes peuvent alors survivre jusqu'à la fin de la saison et faire une poussée de croissance après que la plupart des fruits ont été cueillis. L'infection des plantules se produit dans les sols contaminés ou à partir des microconidies présentes dans l'air et qui proviennent des débris des plants des tomates. Le champignon pénètre dans les racines et les tissus corticaux de l'hypocotyle par les blessures causées par l'émergence des racines secondaires, et aussi directement par l'épiderme. Les macroconidies sont probablement dispersées par l'eau des systèmes d'irrigation mobiles ou par le vent. La température optimale à l'expression des symptômes se situe entre 15 et 18C° (**Alexander, 1945**).

II.8.2- Fusariose vasculaire

La fusariose vasculaire de la tomate est une maladie répandue et particulièrement dévastatrice dans les serres chaudes. Le parasite peut survivre sur des espèces déférentes, et comme saprophyte en association avec les racines fibreuses d'autres plantes (**Alexander, 1945**).

II.8.2.1- Symptômes

Sur les jeunes plantes, les premiers symptômes qui apparaissent sont la décoloration des nervures et la chlorose des feuilles inférieures suivies de l'épinastie des feuilles plus âgées causée par l'affaissement des pétioles. Souvent, les plantes infectées au stade plantule flétrissent et meurent peu après. Les plantes plus âgées qui sont sévèrement affectées peuvent flétrir et mourir subitement si le temps est favorable au développement du parasite. En général, les premiers symptômes s'intensifient jusqu'à ce que la plante entière montre des symptômes. Les plantes demeurent rabougries et montrent parfois des symptômes tels la formation des racines adventives, le flétrissement des feuilles et des tiges, la défoliation, la nécrose marginale des feuilles restantes jusqu'à la mort de la plante. Un changement de couleur sur un côté seulement de la tige peut se

produire durant les stades ultimes de la maladie et de nouvelles pousses apparemment saines sont produites à partir de la base, alors que le sommet de la tige présente des symptômes graves. Les tissus ligneux des plantes atteintes présentent une coloration brunâtre. Les fruits peuvent parfois être infectés, pourrir et tomber. Les racines peuvent aussi être infectées et rabougries, et des racines secondaires plus petites pourrir complètement (**Armstrong et Armstrong, 1981**).

II.8.2.2- Cycle évolutif

La dissémination sur de grandes distances peut se faire par la semence, par des plants sans symptômes ou par le sol qui adhère aux plants lors du repiquage. Une fois établi, le champignon survit sous forme de chlamydospores dans le sol et dans les débris des racines. Une faible intensité lumineuse, un pH bas, des tissus végétaux carencés en potassium et des températures du sol avoisinant 28 °C, des jours courts, sont favorables à la maladie. L'augmentation des niveaux d'azote sous forme de nitrates réduit la sensibilité au flétrissement. Les blessures causées au système racinaire des plants par des manipulations brutales favorisent la maladie (**Armstrong et Armstrong, 1981**).

II.9- Les méthodes de lutte contre *F. oxysporum*

II.9.1- La lutte chimique

Il s'agit de l'utilisation des fongicides à action systémique ou endothérapique. Ainsi, l'utilisation d'un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine permet de désinfecter un sol contaminé par *F. oxysporum*. En effet, le bromure de méthyle possède une forte capacité de pénétration dans le sol et assure une bonne stérilisation. Mais ces produits sont peu stables dans le sol et risquent de favoriser la sélection des souches résistantes. De plus, en les utilisant de façon répétitive et pendant de longues années, ces produits chimiques risquent de nuire à l'environnement. C'est ainsi que l'utilisation de chloropicrine fut totalement interdite ces dernières années (**Dubost et Hethener, 1968**).

II.9.2- La lutte culturale

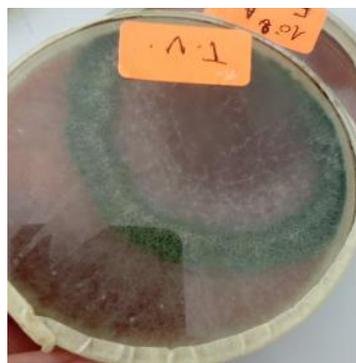
La lutte culturale est un ensemble de mesures prophylactiques visant à réduire le potentiel d'inoculum et à limiter la dissémination du *Fusarium oxysporum*. Ces mesures consistent à arracher et à brûler toutes les plantes infectées, à utiliser des semences saines, à observer une rotation des cultures permettant de réduire l'inoculum de *F. oxysporum* (**Davis et Aegerter, 2010**). La

solarisation du sol permet également d'éliminer la plupart des propagules des espèces du genre de *Fusarium*.

II.9.3- La lutte biologique

Au regard de l'intérêt accordé à la préservation de l'environnement, à la pérennité des ressources naturelles et surtout à la réduction de l'utilisation des substances chimiques, la lutte biologique est très intéressante, mais son application sur le terrain reste faible. Par exemple, les recherches ont montré que l'utilisation de genre *Trichoderma* peut être un moyen de contrôle biologique efficace, capable de limiter la propagation et la sévérité de la fusariose dans la tomate (**Davis et Aegerter, 2010**). De même, la mycorhization de tomate par CMA permet une bonne croissance et une résistance de la tomate aux attaques de *F. oxysporum* (**Besserer et al., 2008**).

Chapitre III: les agents de biocontrol



III.1- Les mycorhizes

III.1.1- Définition des mycorhizes

Les plantes vasculaires terrestres sont capables d'établir des symbioses avec des nombreux micro-organismes. Au niveau des racines, les champignons mycorhiziens pour donner ce qu'on appelle une association mycorhiziennes. Trois principaux types d'associations mycorhiziennes sont repertories: les ectomycorhizes, les endomycorhizes et les ectendomycorhizes. Les formes les plus répandues sont les endomycorhizes à arbuscules. En effet, ces symbioses ont été recensées chez 80% des plantes terrestres (**Smith et Read, 2008**).

L'interaction mycorhizienne se caractérise par un transfert bi-directionnel de nutriments. Les substances carbonées sont nécessaires à ses besoins énergétiques proviennent de la plante. L'estimation du carbone transféré de la plante vers le champignon mycorhizien varie de 4 à 20% du carbone total chez la plante. Les CMA, en échange du carbone fourni par la plante, améliorent la nutrition hydrique et minérale de celle-ci.

La grande majorité des végétaux terrestres vivent en étroite collaboration avec des nombreux organismes du sol parmi lesquels existent les champignons mycorhiziens jouent un rôle primordial. Ces champignons biotrophes obligatoires sont capables de coloniser près de 90% des plantes terrestres (**Smith et Read, 2008**) et sont présents dans différents milieux. Cette symbiose mycorhizienne est observable chez de nombreuses espèces végétales, qu'il s'agisse des mousses, des fougères, des gymnospermes et des angiospermes (monocotylédone et dicotylédone). Cette symbiose est d'ailleurs retrouvée chez des plantes cultivées à grande échelle, comme le blé, le maïs, le riz et le soja. Parmi les espèces végétales formant peu ou pas ce type d'association, nous pouvons distinguer les plantes qui appartiennent aux familles des Brassicaceae, Chenopodiaceae et Urticaceae, sans oublier le genre *Lupinus* (**Smith et Read, 2008**).

Les CMA produisent un grand nombre des spores rondes à paroi épaisse, d'un diamètre de 50 à 100 µm contenant environ 2.10^3 noyaux par spore et stockant de grandes quantités d'éléments carbonés, principalement sous forme de lipides de réserve (**Jeffries et al., 2007**).

III.1.2- Classification classique

La taxonomie des CMA était basée sur la morphologie des spores ; celles qui ont une morphologie similaire et forment un seul type de paroi sporale sont apparentées phylogénétiquement (**Auger, 2001**).

Azcon-Aguilar et Barea (1996); ont classé les CMA dans l'ordre des Glomales, subdivisé en deux sous ordres Glominées (formant des vésicules) et les Gigasporinées.

A) les Glominées regroupent deux grandes familles, les Glomacées représentées par les genres *Glomus* et *Sclerocystis* et les Acaulosporacées par *Acaulospora* et *Entrophospora*.

B) les Gigasporinées comprennent trois familles, les Gigasporacées représentées par *Gigaspora* et *Scutellospora*, les Archaeosporacées représentées par le genre *Archaeospora* et les Paraglomacées par le genre *Paraglomus*.

Actuellement, les CMA appartiennent au phylum des Glomeromycota, ce dernier est constitué d'une seule classe, celle des Gloméromycètes qui est subdivisée en quatre ordres, dix familles et treize genres (figure 6). Cette classification, basée sur celles de **Schubler et al. (2001)**, a été modifiée par des nombreux auteurs (**Walker et Schubler, 2004 ; Palenzuela et al., 2008**).

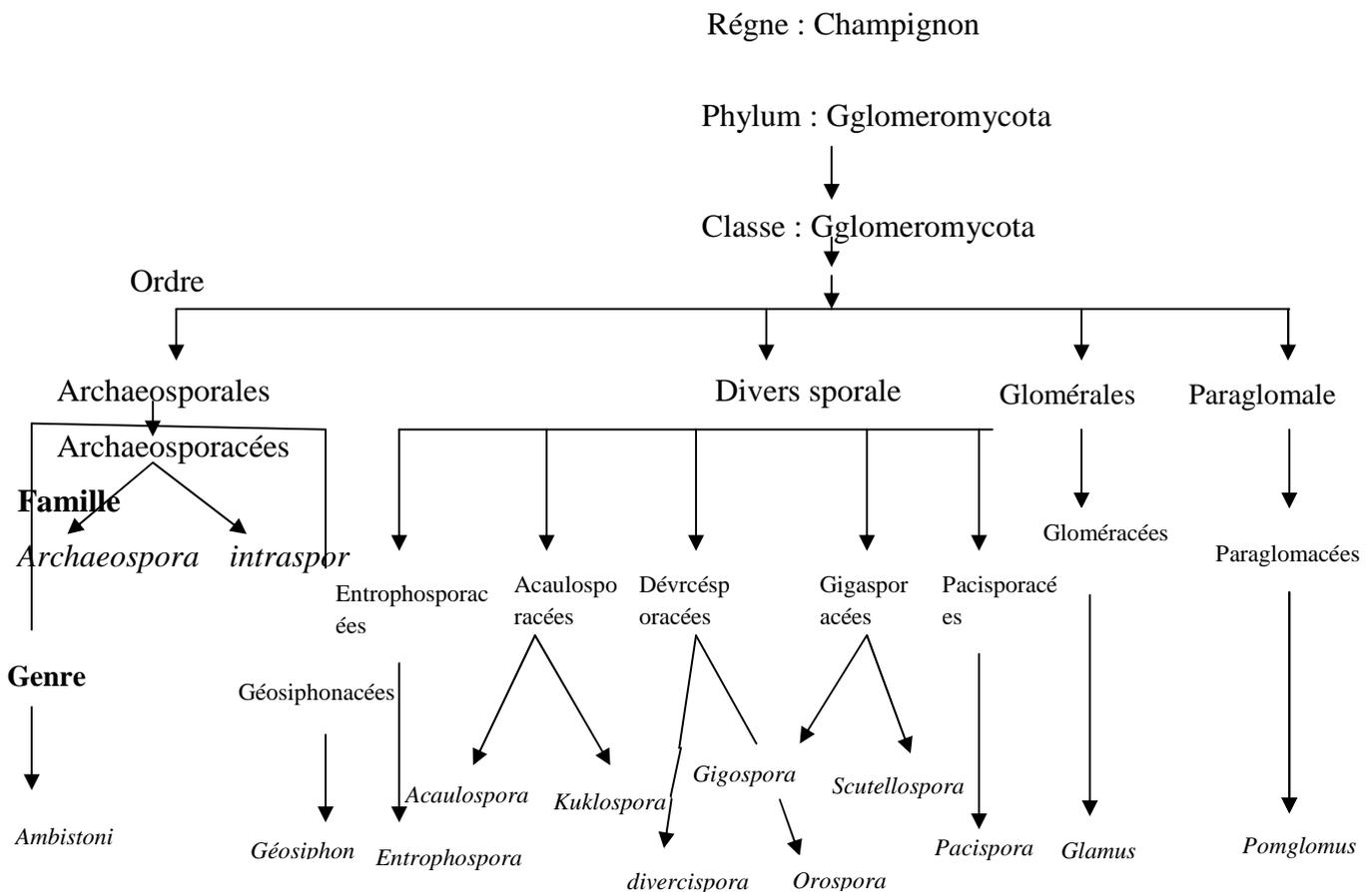


Figure 6 : Classification de CMA selon **Schubler et al., (2001)** modifiée par **Walker et Schubler, 2004 ;Palenzuela et al.,(2008)**

III.1.3- Les différents types des mycorhizes

III.1.3.1- Les ectomycorhizes

Ces champignons supérieurs se retrouvent dans le sous-bois parce que, sauf exception, ils ne forment des mycorhizes qu'avec les plantes ligneuses, arbres ou arbustes. Beaucoup de ces champignons produisent des carpophores sur le tapis forestier. La symbiose ectomycorhizienne ne concerne que 3 % des espèces végétales (**Mousain, 1991**) (Figure7).

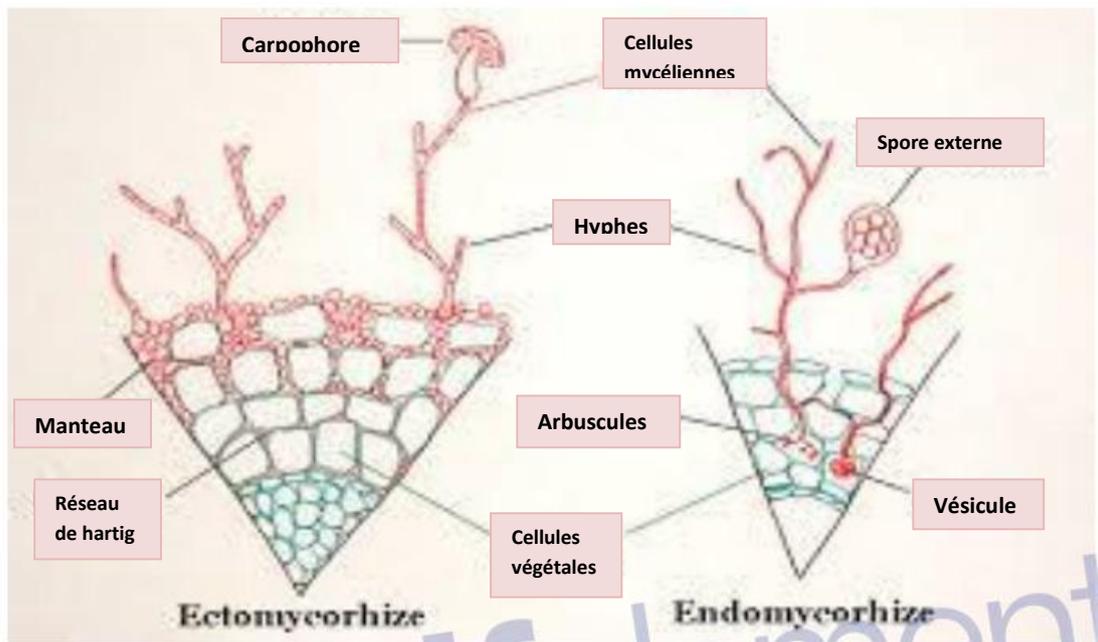


Figure 7: Ectomycorhize et endomycorhize (**Mousain, 1991**)

III.1.3.2- Les endomycorhizes

Les champignons endomycorhiziens ne sont pas spécifiques et sont normalement associés aux plantes comme les plantes forestières agricoles et horticoles. Ces symbiotes à colonisation intracellulaire corticale, forment des arbuscules, des vésicules ou des hyphes, ne se cultivent pas et ne sont pas visibles qu'après coloration. Les champignons mycorhiziens de type arbusculaire (CMA), regroupés dans le phylum Glomeromycota, sont des champignons filamenteux coenocytiques qui colonisent à la fois le sol et les racines en établissant un pont entre la rhizosphère et la plante. Les hyphes extra-racinaires augmentent le volume de sol (eau et minéraux) accessible à la plante alors que les hyphes intra-racinaires se propagent dans les espaces intercellulaires, se gonflent en vésicules selon leur génotype et forment des arbuscules intracellulaires créant une importante zone interface entre les cellules des deux partenaires. (**Mousain, 1991**) (figure7).

III.1.3.3- Les ectendomycorhizes

Il arrive que les ectomycorhizes et les endomycorhizes soient présents en même temps sur une racine, on parle alors d'ectendomycorhizes, le premier type est minoritaire et concerne surtout les arbres, le second est majoritaire et concerne presque tous les végétaux. Ils montrent simultanément, un manteau réduit ou absent qui possède un réseau de Hartig bien développé, des structures des ectomycorhizes et des hyphes qui pénètrent dans les cellules racinaires, des structures des endomycorhizes (**Mousain, 1991**).

III.1.4- Ecologie des CMA

Par leur biotrophie obligatoire, les CMA acquièrent des sites écologiques très contrastés. Ils maintiennent la fertilité des sols, la finesse des arbres et l'absorption des nutriments (**Jeffries et al., 2007**).

L'absence de spécificité du partenaire végétal des CMA a été souvent démontrée par (**Smith et al., 1988**), en dépit de la très forte association entre les deux partenaires. Des études moléculaires ont confirmé qu'aux champs les espèces de CMA sont spécifiques à leur plante.

III.1.5- Les stades de contacts mycorhize-plante

III.1.5.1-Phase asymbiotique

La germination de la spore et ramification de l'hyphes germinatif. Dans des conditions favorables, les spores peuvent germer spontanément et produire un hyphes germinatif et quelques ramifications primaires sans stimulus exogène. Lorsqu'un partenaire végétal est à proximité, les hyphes germinatifs se cloisonnent et le cytoplasme se rétracte dans la spore (**Bonanomi et al., 2009**) (figure 8). Les spores des CMA sont capables de germer et d'entrer à nouveau en dormance de nombreuses fois si des signaux racinaires ne sont pas perçus (**Bonanomi et al., 2009**). Dans tous les cas, l'essentiel des réserves énergétiques des spores initiales est conservé.

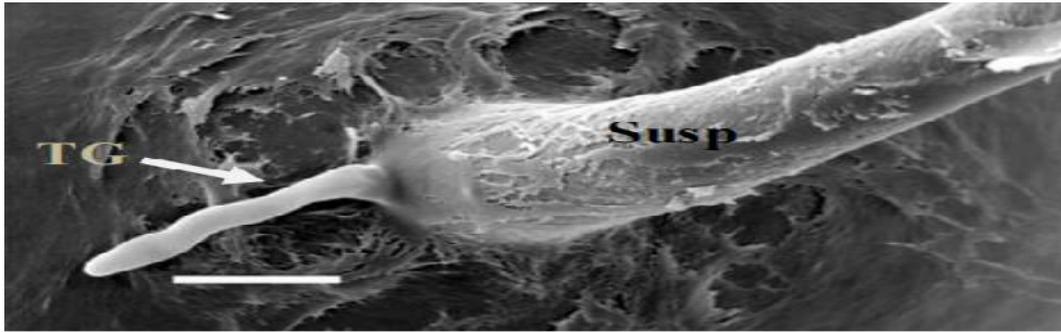


Figure 8 : Germination d'une spore (Dalpé *et al.*, 2005)

TG : tube germinatif sortant de la paroi de l'hyphes suspenseur (**Susp**)

III.1.5.2- Phase pré-symbiotique

C'est le dialogue entre une plante et un champignon mycorhizien. Avant le premier contact physique, les deux partenaires de la symbiose émettent des signaux dans le sol qui leur permettent d'être informés de leur présence respective. Un certain nombre de gènes impliqués dans l'établissement de la symbiose seront alors activés (Bonfante *et al.*, 2009).

III.1.5.2.1- Signaux émis par les végétaux

Les plantes produisent des exsudats racinaires capables de stimuler la germination, d'induire une ramification des hyphes et de modifier l'activité métabolique du CMA, dénommées «branching factors», ces molécules ont été identifiées comme étant des strigolactones, un dérivé des apocaroténoïdes (Besserer *et al.*, 2008). Les strigolactones provoquent chez le champignon l'oxydation des acides gras et la production d'ATP, ces réponses étant dépendantes d'une NADH déshydrogénase et d'une oxydase alternative dans la chaîne respiratoire (Besserer *et al.*, 2008).

En plus des strigolactones, d'autres molécules ont été décrites comme potentiellement perçues par les CMA, même si leur rôle reste encore à définir. Différents flavonoïdes ou polyamines ont montré un effet sur la germination des spores ou la ramification des hyphes (Bonanomi *et al.*, 2009) (figure 9).

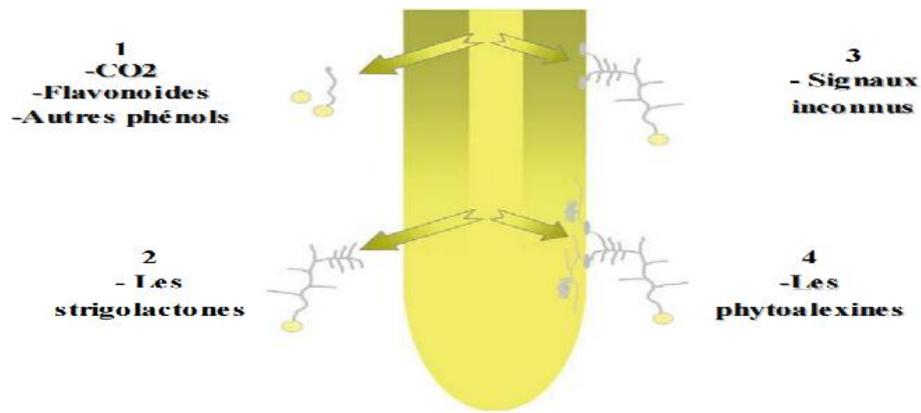


Figure 9: Les différents signaux moléculaires synthétisés par les deux symbiotes durant 4 phases (1, 2, 3 et 4) de l'association (**Bonanomi et al., 2009**)

1 : Germination de la spore et croissance des hyphes ; **2 :** Ramification des hyphes ;
3 : Développement des appressoria ; **4 :** Croissance intra-racinaire et formation des arbuscules.

III.1.5.2.2- Signaux émis par les CMA

De même que pour les signaux «Nodfactors» émis par les *Rhizobiums*, les CMA produisent des molécules diffuses qui leur permettent d'être reconnus par les plantes. Ces molécules appelées «Mycfactors» induisent l'activation de gènes chez la plante hôte (**Bonfante et al., 2009**). Parmi ces molécules sécrétées par le champignon (LCO : lipochito-oligosaccharides) ont été récemment décrites comme jouant un rôle dans la préparation de la plante à la colonisation mycorhizienne arbusculaire. Ces composés favorisent la mycorhization des plantes lorsqu'ils sont ajoutés de manière exogène, et induisent également la formation des racines latérales (**Bonfante et al., 2009**). Une fois ces premiers signaux échangés, les deux partenaires mettent en place une régulation génique propre à l'établissement de la symbiose.

III.1.5.3- Phase symbiotique (colonisation des racines de l'hôte)

Le champignon forme une structure renflée au contact de l'épiderme appelée hyphopode. Les cellules végétales réorganisent leur cytosquelette et forment un système membranaire de pré-pénétration (PPA) pour (pré-pénétration apparatus), qui va permettre au champignon d'entrer dans la racine et d'atteindre la zone corticale de la racine pour y développer des structures hyper-ramifiées appelées arbuscules, lieu d'échanges entre les partenaires (**Genre et al., 2005**). Ces structures sont entourées d'une membrane plasmique péri-arbusculaire séparant le champignon du cytoplasme végétal et assurant les échanges entre le champignon et la plante grâce à des transporteurs spécifiques. Les arbuscules ont une durée de vie limitée estimée en moyenne à 5- 8

jours. Actifs pendant 4 à 5 jours, les arbuscules entrent ensuite en sénescence et sont complètement éliminées de la cellule végétale qui retrouve son état initial (**Javot et al., 2007**).

De manière concomitante au développement dans la racine, le champignon va se développer dans le sol. Le mycélium extra-racinaire s'organise en un réseau très dense d'hyphes, qui peut former jusqu'à plusieurs mètres d'hyphes par cm^3 de sol (**Genre et al., 2005**). Ces structures vont puiser eau et sels minéraux puis les transporter vers la racine. C'est aussi à ce moment-là que le champignon va former de nouvelles spores, structures de reproduction et de dissémination des CMA, complétant ainsi son cycle de vie.

III.1.6- Mécanismes d'action

Les premières investigations relatives au potentiel des CMA comme agent de lutte biologique datent des années 1960 alors qu'on réalisait à peine l'impact bénéfique de ces organismes sur la croissance et la survie des plantes. Plusieurs des mécanismes d'action répertoriés jusqu'à maintenant agissent de manière indirecte sur les affections parasitaires. Ils concernent l'amélioration de la nutrition de la plante, la transformation de la morphologie végétale, la modification de la microflore et de la composition des sols. D'autres actions plus directes impliquent la stimulation des mécanismes de défense par la plante et la compétition entre mycorhizes et parasites pour l'espace, les sites d'infection et les éléments nutritifs (**Singh et al., 2000**).

III.1.6.1- Croissance et nutrition

Connaissant le fonctionnement général des mycorhizes, l'augmentation de la croissance et de la santé générale des plantes colonisées se traduit par une vigueur accrue qui leur permet de mieux tolérer les stress environnementaux dont ceux causés par diverses maladies. Cette réduction de la susceptibilité aux infections n'est généralement efficace que lorsqu'une symbiose fonctionnelle s'établit préalablement à l'attaque du parasite car, dans la majorité des cas, ces derniers, une fois en contact avec leur hôte, envahissent nettement plus rapidement les tissus végétaux que les champignons mycorhiziens (**Azcon-Aguilar et Barea, 1996**) (figure 10).

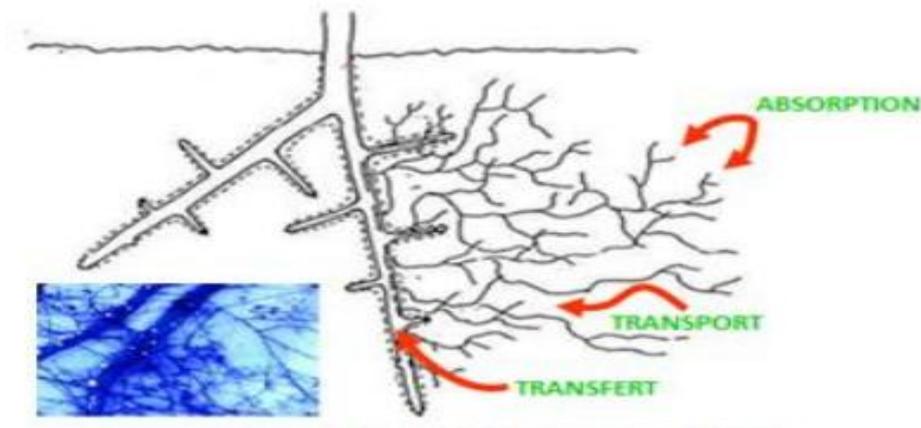


Figure 10 : Actions des hyphes extra-radicalaires des champignons mycorrhizogène sur l'apport en eau et nutriments à la plante (Azcon-Aguilar et Barea, 1996)

III.1.6.2- Morphologie racinaire

Chez certaines plantes, la colonisation mycorhizienne entraîne une ramification accrue du système racinaire, un raccourcissement des racines adventives, une augmentation des racines fines ou une transformation de l'architecture racinaire liée aux proportions respectives des catégories des racines. C'est le cas pour les espèces ligneuses : peuplier, platane, prunier, ainsi que pour des plantes herbacées telles que le poireau, la tomate (Gamalero et al., 2004) et le fraisier. La ramification intense des racines induite par la mycorhization s'accompagne d'une intensification des exsudats racinaires qui serait responsable de modifications de la microflore et d'interactions directes avec les parasites (figure 11).

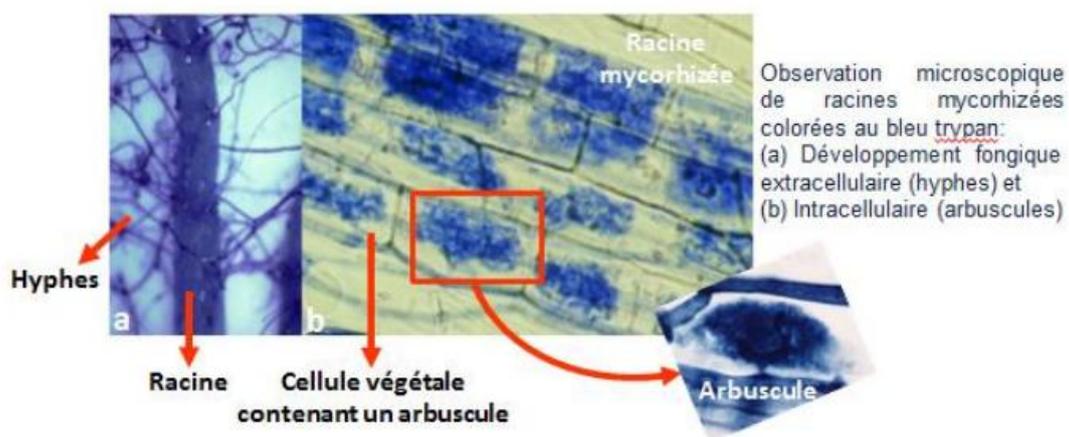


Figure 11 : Observation microscopique des racines mycorhizées colorées au bleu trypan : (a) développement fongique extra cellulaire (hyphes) et (b) intracellulaire (arbuscules) (Azcon-Aguilar et Barea, 1996)

III.1.6.3- Mécanismes de défense

La colonisation mycorhizienne prédispose les plantes à réagir rapidement aux attaques des parasites. Cette protection indirecte se traduit au niveau cellulaire par des réactions anatomiques, métaboliques et physiologiques, ainsi que par l'induction ou la suppression de divers mécanismes de défense liés aux phytoalexines, phénols, peroxydases, chitinases, β -glucanases, lignification, déposition de callose et diverses autres protéines liées à la pathogenèse. Les plantes colonisées produisent davantage d'éthylène dans leurs racines (**Harrier et Watson, 2004**). Ils ont constaté que chez certains couples « plante - mycorhize » une augmentation du taux de lignification des parois cellulaires de l'endoderme et des tissus vasculaires, et un dépôt de callose, ce qui peut expliquer la restriction des propagules mycorhiziennes au seul cortex racinaire. Cette lignification accrue constitue une barrière de protection pour la racine contre la pénétration des parasites et s'accompagne d'une accumulation de composés phénoliques (**Gamalero et al., 2004**). En ce qui concerne l'effet des phytoalexines et aux gènes codant des processus de défense, leur induction varie selon les complexes plante - mycorhize – parasite ; leur activité augmente généralement en début de colonisation pour disparaître une fois la symbiose établie. Les phytoalexines peuvent être induites à la fois localement chez des cellules colonisées par les arbuscules mais aussi dans les tissus racinaires non colonisés. L'activité des peroxydases et l'accumulation des phénols mises en place lors d'une infection parasitaire se retrouvent généralement inhibés au fur à mesure de l'établissement de la colonisation mycorhizienne, mais ne sont jamais détectées au niveau des cellules corticales habitées d'arbuscules (**Harrier et Watson, 2004**), alors qu'elles peuvent être localement stimulées dans l'épiderme de la plante. Les enzymes hydrolytiques chitinase et β -glucanase jouent un rôle de protection, étant impliquées dans la dégradation des parois cellulaires. À ce titre, elles sont reconnues pour leur activité antifongique. En résumé, une colonisation mycorhizienne bien établie entraîne des changements considérables des mécanismes de défense de la plante pour contrer l'action des certains parasites (**Auger, 2001**).

III.1.6.3.1- Résistance aux stress abiotiques

Une meilleure croissance des plantes mycorhizées a été observée dans des conditions de sécheresse de salinité et sur des milieux pollués par les éléments traces métalliques, les fongicides et les polluants organiques persistants. La tolérance des plantes mycorhizées à ces différents stress abiotiques serait attribuée à un ensemble des processus physiologiques dont, une meilleure nutrition minérale et hydrique conduisant à un meilleur développement de la plante (**Auger, 2001**). Le mycélium pouvant explorer un volume de sol beaucoup plus important que les racines et ayant

accès à un réservoir hydrique plus important, peut ainsi aider au maintien de l'équilibre hydrique et minéral de la plante (**Auger, 2001**).

Il a également été rapporté que la protection des plantes par la mycorhization contre le stress salin résulterait d'une augmentation et/ou d'une meilleure sélection dans le prélèvement des nutriments, de l'accumulation de composés osmorégulateurs, d'une augmentation de l'activité photosynthétique ou encore d'une limitation de la déshydratation des feuilles (**Auge, 2001; Ruiz-Lozano et al., 1995**). De plus, une accumulation plus élevée de proline (molécule d'ajustement osmotique) et de glucides solubles a été décrite chez les plantes mycorhizées (**Ruiz-Lozano et al., 1995**). Ces molécules sont connues pour protéger les structures subcellulaires, pour maintenir les activités enzymatiques et limiter les dommages oxydatifs induits par les radicaux libres en condition de stress.

Quant à la survie des plantes mycorhizées par des CMA dans des milieux pollués, une plus faible accumulation des polluants dans ces plantes ou une diminution de leur transport des racines vers les parties aériennes peuvent être à l'origine de cet effet protecteur. Il a été démontré que les éléments traces métalliques, par exemple, étaient séquestrés dans les vacuoles et les parois fongiques, préservant ainsi les tissus végétaux (**Rivera-Becerril et al., 2002**). D'une façon générale, il a été suggéré que la symbiose mycorhizienne à arbuscules diminuerait les effets de divers stress abiotiques (salinité, sécheresse, pollution ...) chez les plantes en atténuant le stress oxydant par induction des systèmes antioxydants enzymatiques (superoxyde dismutase, ascorbate-peroxydase, guaicol-peroxydase, catalase) et non enzymatiques (ascorbate et glutathion) (**Rivera-Becerril et al., 2002**). Ces systèmes antioxydants permettent l'élimination des espèces réactives de l'oxygène générées en condition de stress et par conséquent, la protection des lipides membranaires et de l'ADN contre les dommages oxydatifs.

III.1.6.3.2- Résistance aux stress biotiques

La protection des plantes apportée par la colonisation mycorhizienne résulterait d'une combinaison de cinq principaux mécanismes d'action (**Wehner et al., 2010**):

- La stimulation de la croissance de la plante par une meilleure nutrition, une meilleure santé végétale et la compensation par la symbiose des dommages causés par l'agent phytopathogène.
- La compétition directe ou indirecte entre les CMA et les organismes phytopathogènes, liées à la disponibilité des nutriments.

La transformation morphologique et architecturale de la racine, ce qui peut altérer la dynamique infectieuse du pathogène. La déposition de callose et de pectine et l'activation de la voie des phenylpropanoïdes résultant en l'accumulation de lignine chez les plantes mycorhizées seraient impliquées dans la protection de la plante (**Pozo et al., 2007**). De plus, les CMA induisent la formation des racines latérales plus épaisses (**Rivera-Becerril et al., 2002**).

- La modification de la microflore et de l'augmentation du taux de matière organique dans les sols. Ces changements peuvent mener à la stimulation de la production de composés par la microflore avec une activité antagoniste contre certains pathogènes racinaires. Il a été montré, par exemple, que des souches de *Pseudomonas fluorescens* rhizosphériques, produisent plus de 2,4-diacetyl-phloro-glucinol, antibiotique conférant une protection chez les plantes contre *Gaeumannomyces graminis*, dans un sol contenant *Glomus intraradices* (**Pozo et al., 2007**).

- L'induction ou la suppression de certains mécanismes de défense des plantes, notamment les mécanismes enzymatiques. L'accumulation de protéines de défense, notamment des protéines PR (pour « Pathogen Related ») et l'implication des voies de signalisation de l'acide jasmonique, de l'éthylène et de l'acide salicylique, connus pour jouer un rôle majeur dans la régulation des mécanismes de défense des plantes, semblent être à l'origine de ces processus de protection (**Pozo et al., 2007**).

III.1.6.4- Interactions mycorhize – parasite

Lors d'infections parasitaires diverses, ils ont noté que dans 50 % des cas les CMA réduisent la croissance de parasites, alors que dans 32 % des cas elles suppriment leur action néfaste et dans seulement 16 % des cas le développement des mycorhizes est négativement affecté par le parasite (**Pinochet et al., 1996**). Il est reconnu que le pouvoir protecteur des mycorhizes dépend de la nature du parasite (bactérie, champignon, virus) et diminue d'efficacité proportionnellement à l'augmentation de la virulence du parasite et à la concentration des propagules de ce dernier. De plus, une réduction de l'incidence d'une maladie peut dépendre d'une résistance accrue de la plante et la baisse d'activité mycorhizienne peut impliquer une compétition directe des antagonistes pour les éléments nutritifs et la disponibilité des sites d'infection. Par le biais de techniques d'immunofluorescence, il a été démontré que les virus se concentrent de préférence dans les cellules colonisées par les arbuscules, sites d'activité métabolique élevée. Le virus y bénéficie des échanges intensifs de minéraux, de protéines et d'acides nucléiques entre la plante et ses symbiotes mycorhiziens (**Smith et Gianinazzi-Pearson, 1988**).

III.1.6.5- Microflore du sol

L'activité microbienne des sols contribue considérablement à sa fertilité par le biais de synergies entre microorganismes, des compétitions et des parasitismes. Les hyphes extra-racinaires des mycorhizes à arbuscules peuvent constituer à eux seuls jusqu'à 80 % de la masse d'hyphes/ cm³ de sol (**Kabir et al., 1997**). Cette microflore influence l'environnement physicochimique de la rhizosphère et contrôle diverses interactions microbiennes du sol.

L'activité mycorhizienne se traduit généralement par une augmentation de la diversité et de l'abondance des microorganismes du sol, notamment les antagonistes des parasites. Ces modifications de la microflore varient selon les paramètres éco-physiologiques et les souches mycorhiziennes testées, et peut affecter l'ensemble de la microflore ou encore l'une ou l'autre de ses composantes (**Jeffries et al., 2007**).

Il a également été mis en évidence que les mycorhizes peuvent stimuler l'exsudation d'antibiotiques par les racines et les bactéries du sol. Contrairement aux pesticides qui possèdent généralement un large spectre d'action envers la microflore, les multiples implications des mycorhizes dans la rhizosphère peuvent modeler la microflore microbienne de façon à remédier au déséquilibre causé par la prolifération excessive d'un parasite. Certaines bactéries du sol secrètent des métabolites capables d'altérer la perméabilité des parois des cellules racinaires, d'en augmenter l'exsudation, de stimuler le développement des symbiotes mycorhiziens et la colonisation des racines (**Jeffries et al., 2007**).

Certaines composantes de cette microflore interagissent avec les CMA à la manière d'agents de lutte biologique. C'est le cas du *Gliocladium virens* Mill. et du *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn qui, lorsqu'appliqués à une plante colonisée parasitée, stimulent à la fois la colonisation racinaire et réduisent l'incidence de la maladie (**Kabir et al., 1997**).

II.2- *Trichoderma*

III.2.1- Données sur le genre *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma Pers. :Fr.* décrit par **Persson** en **1874**, est utilisé depuis les années 1930 dans la lutte biologique appliquée en agriculture. Différentes espèces de ce genre ont montré leur efficacité dans la lutte contre des agents phytopathogènes aériens et telluriques. Depuis, différents travaux sur la taxonomie de ce genre basés sur les critères morphologiques, biochimiques et moléculaires, sur les mécanismes impliqués dans l'antagonisme.

L'efficacité de la protection chimique n'est pas toujours satisfaisante, et ses effets sur l'environnement ne sont pas négligeables. Cependant la possibilité d'une protection par des auxiliaires biologiques devient une solution alternative envisageable. Durant ces dernières années, un grand nombre de bactéries et des champignons antagonistes des *Pythium spp.* ont ainsi été mis en évidence, mais les résultats les plus intéressants et les plus solidement établis ont été obtenus avec des *Trichoderma spp.* (**Harman et al., 1989**).

La résistance des sols à d'autres parasites est presque toujours attribuée au genre *Trichoderma*, capable de posséder toutes les armes du parfait antagoniste : antibiose, compétition, mycoparasitisme, interviennent selon les circonstances : *T. viride Pers.*, *T. harzianum Rifai*, *T. hamatum (Bon.)*, *T. pseudokoningii Rifai*.

Il se trouve par ailleurs que certaines souches de *Trichoderma spp.* semblent exercer une action stimulatrice sur la croissance des plantes, aussi bien *in-vitro*, dans des conditions contrôlées et en l'absence de tout agent pathogène, que dans des substrats de culture (**Harman et al., 1989**).

III.2.2- Taxonomie de *Trichoderma*

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de discussions. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects culturels et la morphologie des appareils sporogènes, ainsi que sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaires (**Gams et Bissett, 1998**).

Le système taxonomique de Bissett est aussi appuyé, entre autres, par des approches de biologie moléculaire (PCR), pour répondre au positionnement de nouvelles espèces de *Trichoderma*

identifiées (dont les formes téléomorphes sont souvent non identifiées) et reste le plus fiable actuellement (**Gams et Bissett, 1998 ; Bissett, 1991**).

Les espèces de *Trichoderma* ainsi que leurs rares formes téléomorphes observées sont classées parmi les Ascomycètes du genre *Hypocrea*.

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente comme suit (**Bissett, 1991**) (figure 12).

Règne	Fungi
Embranchement	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Ordre	Hypocreales
Famille	Hypocreaceae
Genre	<i>Trichoderma</i>
Espèce	<i>T.viride</i>

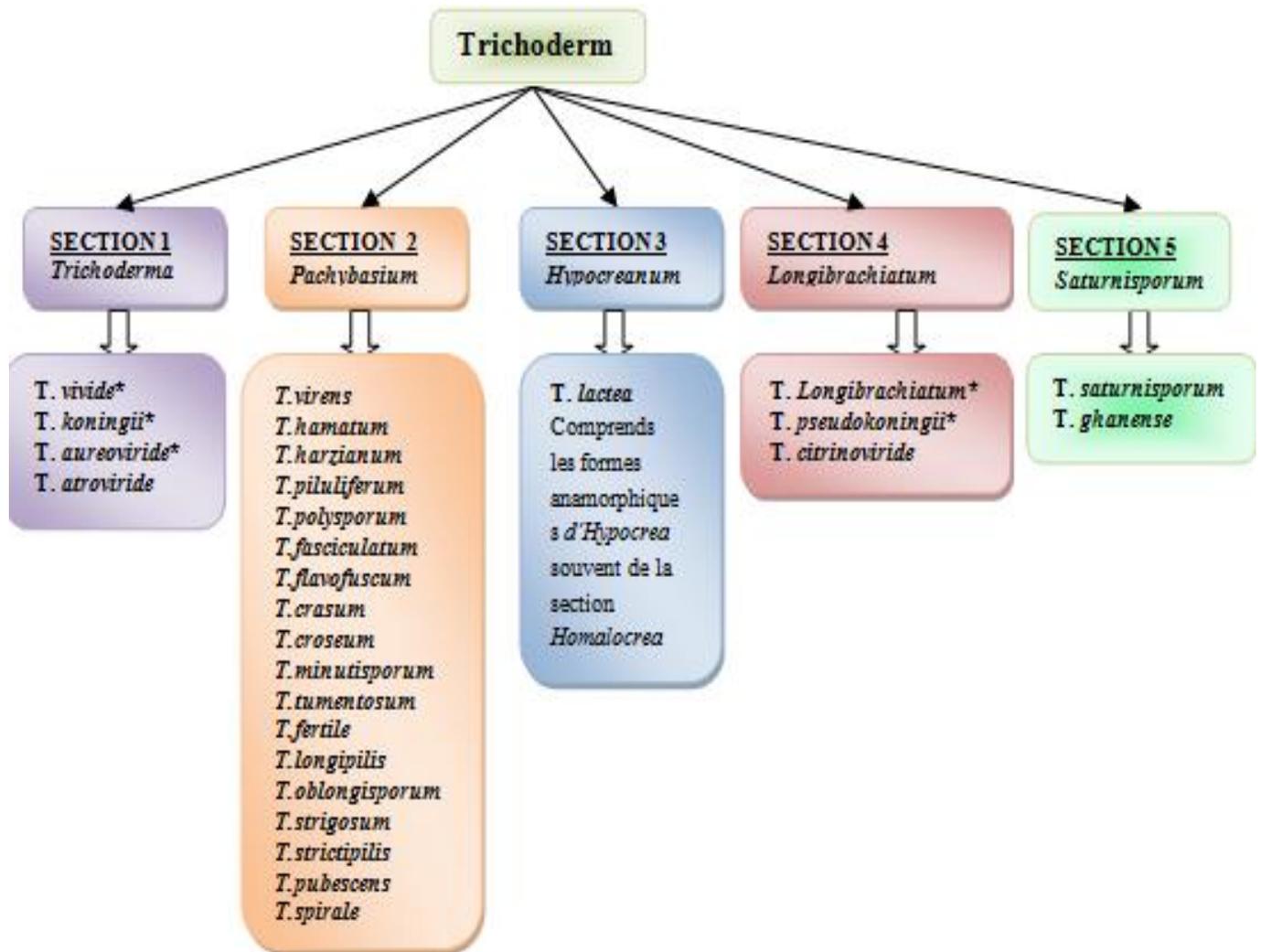


Figure 12 : Les cinq sections systématiques de *Trichoderma sp.* et quelques-unes des espèces y appartenant, selon **Bissett (1991)**

III.2.3- Morphologie de *T. viride*

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium.

D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se superpose à la culture.

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale.

Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (**Bissett, 1991**) (figure 13).

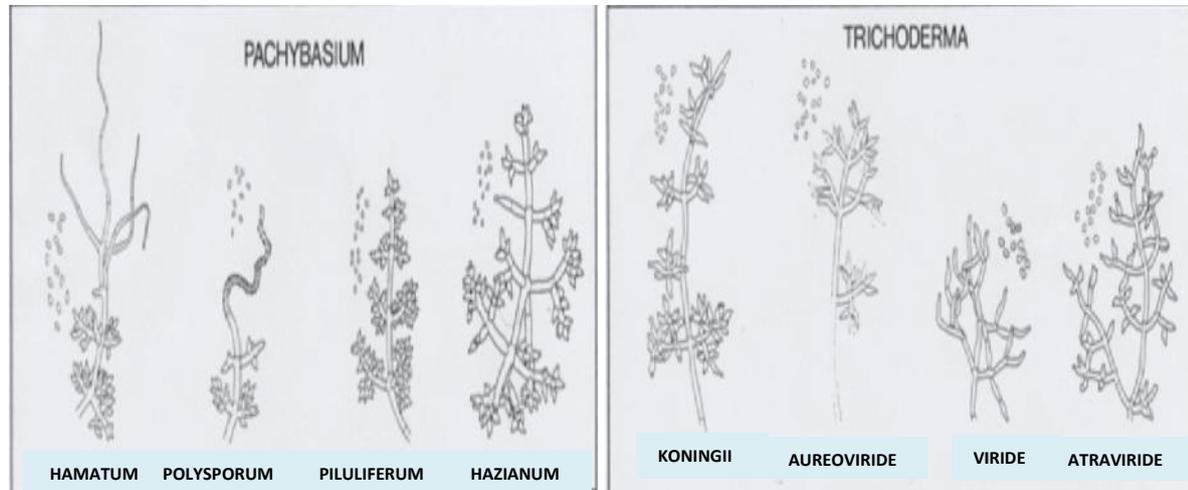


Figure13 : Illustration des deux sections parmi les cinq reconnus par **Bissett (1991)**

III.2.4- Emploi de *Trichoderma*

III.2.4.1- Les promesses de l'antagonisme dans le sol

Les propriétés antagonistes de *Trichoderma* sont connues depuis longtemps mais leur intervention, mise en évidence dans plusieurs sols suppressifs, a récemment relancé leur intérêt contre certains parasites classiques. D'après **Liu et Baker, (1980)**, la résistance à *Rhizoctonia solani Kühn*, persistante en sols acides, serait imputable à *T. harzianum* produisant de la β -1,3-glucanase et de la chitinase, il attaque et lyse le mycélium.

Le genre *Trichoderma* a été expérimenté avec succès contre des *Fusarium*, des *Pythium* (**Liu et Baker, 1980**).

III.2.4.2- L'antagonisme de *Trichoderma* hors du sol

Bien qu'il soit un partenaire exceptionnel des microbiocénoses d'organes aériens, le *Trichoderma* y a été introduit comme auxiliaire de lutte contre certains parasites, avec des suspensions des spores de *T. viride*. Pour le pêcher, le traitement est curatif, alors qu'aucun fongicide n'est actif, si l'on injecte les spores dans le tronc sous forme liquide ou pâteuse (**Dubos et Ricad, 1974**).

L'hyperparasitisme de *T. viride* est clairement établi sur des cibles telles que *Botrytis cinerea* Pers. et *Sphaeropsis malorum* Peck ; son mycélium est capable de s'enrouler autour des hyphes et même de les perforer pour s'installer à l'intérieur. En fin, il faut signaler que *T. viride* protège les souches d'arbres abattus de l'envahissement par *Heterobasidium (Fomes) annosum* (Fr.) Cke. Différentes espèces de *Trichoderma* se comportent donc en puissants antagonistes lorsqu'on les introduit dans la biocénose du sol ou des sites d'infection aériens (**Bulit, 1978**).

III.2.4.3- Stimulation de la croissance de la plante

Les souches de *Trichoderma* peuvent influencer la croissance de la plante, augmenter la disponibilité des nutriments, améliorer la production au champ et augmenter la résistance vis-à-vis de la maladie. **Cutler et al., (1993)**, ont travaillé sur l'activité biologique des métabolites secondaires produits par *T. koningii* et *T. harzianum*. Ils ont trouvé qu'ils fonctionnent comme des régulateurs pour la croissance de la plante. *Trichoderma* produit aussi des acides organiques (gluconic, citric et fumaricacids) qui diminuent le pH du sol et permet la solubilisation des phosphates, des micronutriments comme le fer et le magnésium. Plusieurs autres effets bénéfiques pour la plante, tels que la résistance aux stress abiotiques, l'amélioration de l'efficacité photosynthétique et la meilleure utilisation de l'azote, sont déclenchés.

III.2.4.4- Induction de la résistance systémique

Trichoderma se limite à une implantation sur les premières couches des cellules des racines.

L'implantation de *Trichoderma* est arrêtée par le dépôt de callose qui sert de barrière à la plante. La synthèse de substance chimique par *Trichoderma* peut provoquer l'induction de la résistance systémique des plantes (**Enkerli et al., 1999**). Les molécules libérées par *Trichoderma* induisent la résistance des plantes en stimulant la synthèse des différentes molécules tel que l'hydroperoxyde lyase, la peroxydase et la xylanase (figure 14).

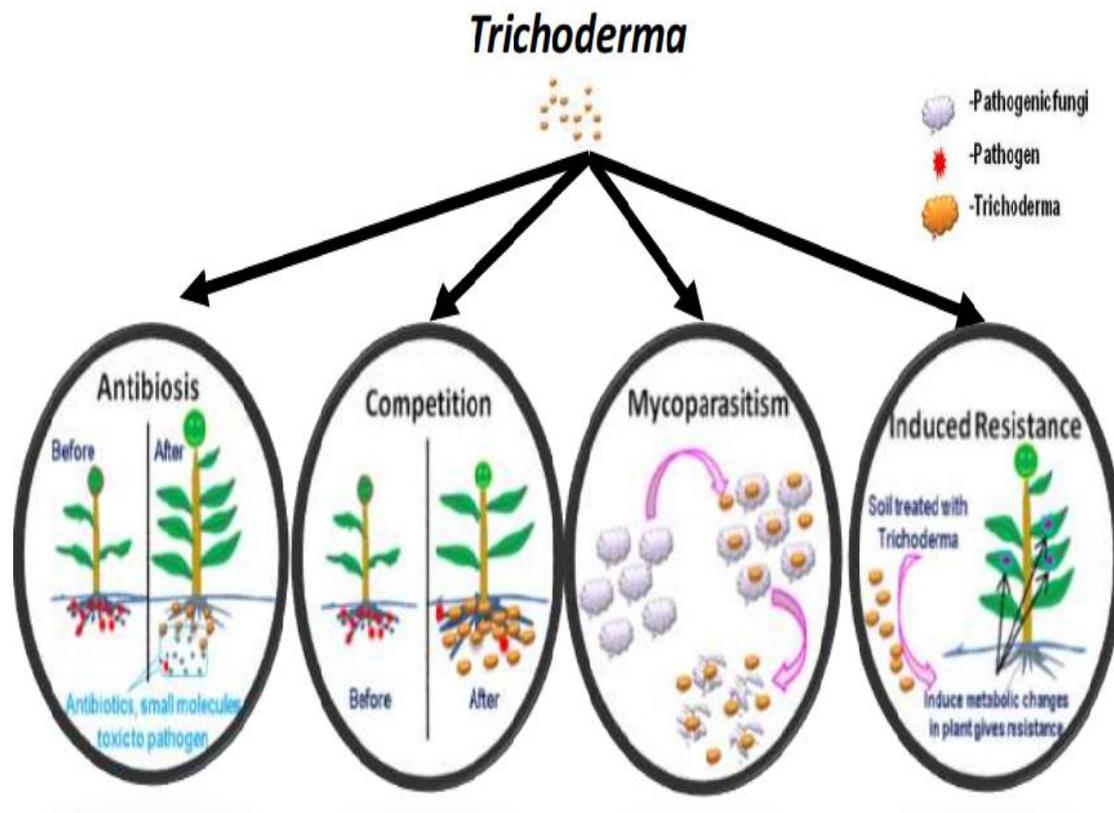


Figure 14 : Modes d'actions de *Trichoderma* (Enkerli et al., 1999).

III.2.4.5- Effets de la colonisation des racines sur le métabolisme de la plante (effet bénéfique)

Plusieurs études ont montré que la colonisation des racines résulte de l'augmentation des enzymes de défense incluant différentes peroxidases, chitinases, β -1,3-glucanase et la voie de lipoxygénase hydroperoxyde lyase (Harman et al., 2004). La fixation de *Trichoderma* sur les racines des plantes favorise l'absorption et la concentration de quelques éléments nutritifs (cuivre, fer, phosphore, manganèse et le sodium) à partir de la solution du sol. Cette augmentation de l'absorption des éléments nutritifs indique une amélioration du mécanisme actif d'absorption des éléments nutritifs. Yedidia et al., (2000), ont prouvé que l'association de *Trichoderma* avec les racines réduit les maladies des racines par l'activation de la réponse de la défense des plantes. En plus de son efficacité vis-à-vis de l'azote, cet organisme aide à assimiler différents éléments présents dans la solution du sol tels que le cobalt, le nickel, le plomb, le magnésium, le manganèse, le cuivre, le bore, le zinc, l'aluminium et le sodium (figure 15).

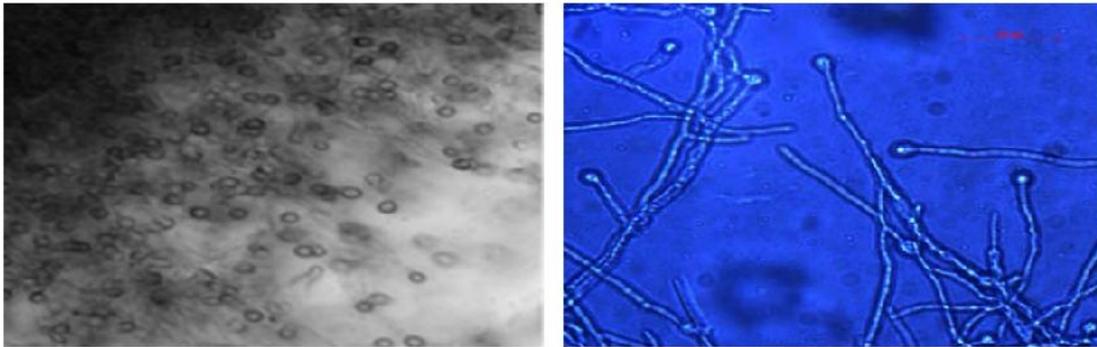


Figure 15 : Photomicrographies de *Trichoderma viride* (Yedidia et al., 2000)

III.2.5- Mode d'action

Le genre *Trichoderma* a été expérimenté avec succès contre des *Fusarium*, des *Pythium* et des *Phytophthora* (Dubos et Ricard 1974).

III.2.6- Mycoparasitisme et enzymes lytiques

L'abondance de *Trichoderma sp.* dans les écosystèmes est due à leur production élevée d'enzymes hydrolytiques et leur mycoparasitisme basé sur la sécrétion d'un ensemble complexe dégradant la paroi cellulaire de divers hôtes. Un système multi-enzymatique important a été décrit chez des espèces de *Trichoderma* : les cellulases, les chitinases, -1,3-glucanases, -1,6-glucanases et des protéases (Howell 2003).

III.2.6.1- La Stimulation

Trichoderma sp. perçoit la présence de son hôte, ses hyphes se dirigent directement vers lui par chimiotropisme. Différentes espèces peuvent suivre différents modèles d'inoculation, mais en général, il catalyse la libération des oligomères de la paroi fongique du champignon cible, et à leur tour en induisent l'expression des endochitinases qui attaqueront le champignon cible avant le contact (Brunner et al., 2003).

III.2.6.2- La Reconnaissance et l'Enroulement

L'attachement se fait par la liaison des glucides de la paroi fongique du *Trichoderma* à des lectines sur le champignon cible. Une fois que le *Trichoderma* est attaché, il s'enroule autour de l'agent pathogène et forme des appressoriums contenant des concentrations élevées des solutés osmotiques tels que le glycérol (Benitez et al., 2004) (figure 16).

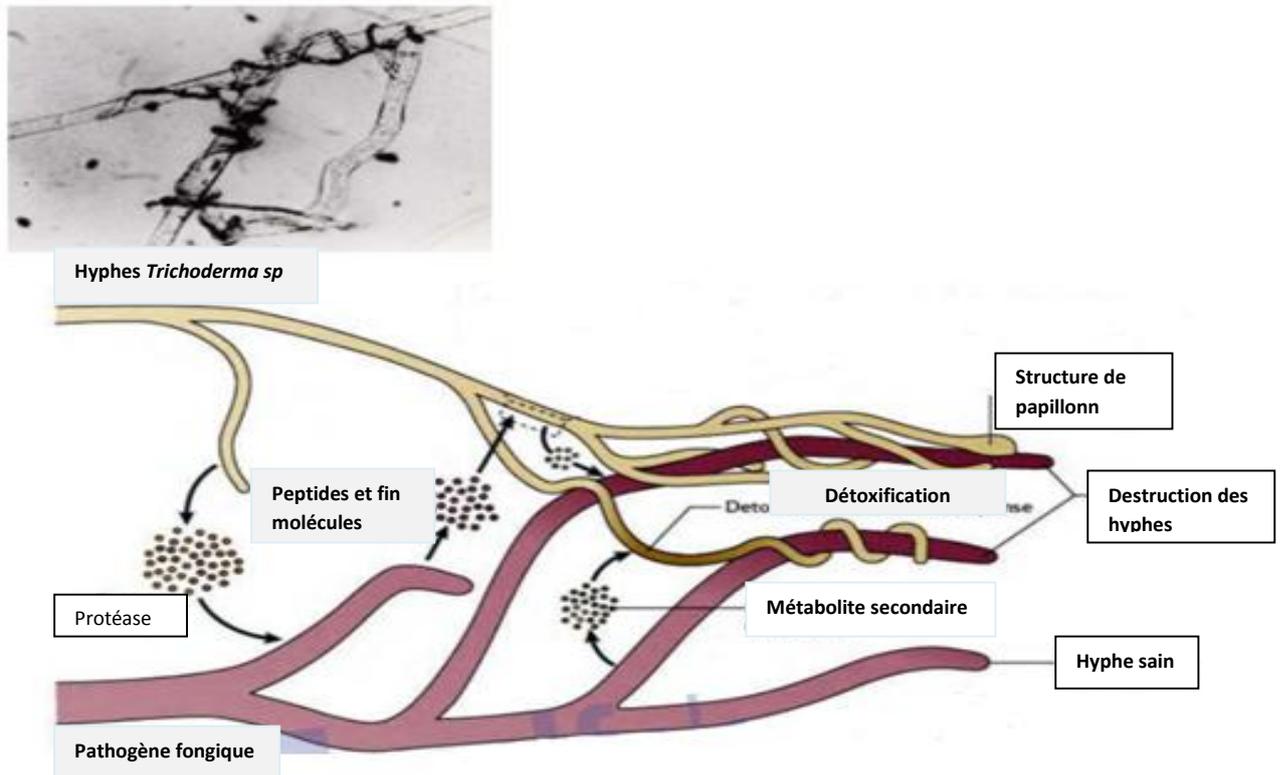


Figure 16 : Mécanismes de mycoparasitisme exercés par les souches de *Trichoderma*

(D'après **Druzhininina et al., 2011**)

III.2.6.3- La pénétration et la lyse

La production des enzymes lytiques et des peptaiboles permet l'entrée des hyphes de *Trichoderma* dans les hyphes du parasite et facilite ainsi l'assimilation du contenu cellulaire de l'hôte (**Howell, 2003**).

III.2.7- Antibiose et métabolites secondaires

L'antibiose est le processus de sécrétion des composés antimicrobiens par des champignons antagoniste pour lutter contre les agents pathogènes dans leurs zones de croissance. Les *Trichoderma* sp. produisent des antibiotiques potentiels mais aussi plus de 100 métabolites avec une activité antibiotique, y compris de Pyrones, Terpènes et des Polypeptides utilisés dans la chimio-taxonomie des espèces (**Keszler et al., 2000**).

III.2.8- Compétition pour les nutriments et l'espace

La compétition pour le carbone, l'azote et d'autres facteurs de croissance, ainsi que la celle pour l'espace ou les sites spécifique d'infection, sont utilisées par les agents de lutte biologique. *Trichoderma sp.* a une forte capacité à utiliser et métaboliser les nutriments du sol, qui le rend plus compétitif à de nombreux micro-organisme du sol (**Benitez et al., 2004**). *T. harzianum* est capable de contrôler *Botrytis cinerea* agent de la pourriture gris chez le raisin en colonisant les floraux et éliminant le pathogène de son site d'infection.

Partie II:

Matériels et méthodes



1- Matériels biologiques utilisés

1.1- Matériel végétal

Nous avons utilisé la variété de tomate : Super strain (Agreto vegetable seeds), elle nous a été procurée par des distributeurs de semences, leurs caractères sont résumés dans le tableau suivant (tableau 5) :

Tableau 5 : Quelques caractères de variété étudiée

Variété	Super strain
Pureté	99%
Taux de germination	89%
Type	Traditionnelle
L'origine de la variété	USA
Traitement de semence	Thiram
Calibre	100g- 250g
Résistance aux maladies	Moyennement résistante

1.2- L'agent antagoniste

L'agent de lutte biologique *Trichoderma viride* a été isolé du sol provenant de la région agricole de Jijel, a été utilisé dans des tests de confrontation directe et à distance *in-vitro* afin de prouver leur activité inhibitrice contre différents agents phytopathogènes. Identifier au laboratoire de Mycologie Appliquée et Biotechnologie Microbienne le guide de détermination (**Botton et al., 1990**). Université Constantine 1.

1.2.1- La préparation de l'inoculum de *Trichoderma viride*

La multiplication de *Trichoderma viride* a été réalisée dans des boîtes de Petri contenant un milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar, 200g pomme de terre, 20g D-glucose, 20g agar, 1L eau distillé, ajuster le pH à 6 et stérilisé le milieu (**Davet et Rouxel, 1997**)) préalablement autoclavé pendant 25 mn sous une pression de 1 bar et une température de 120 °C. Ces boîtes sont ensuite incubées à la température de 25 °C pendant 6 jours. A la fin de l'incubation, pour préparer la suspension conidienne (figure 17), 10 ml d'eau distillée stérile a été versée à la surface de chaque colonie. A l'aide d'une pipette pasteur coudée, la surface mycélienne est raclée légèrement afin de

libérer les conidies. La concentration conidienne a été évaluée à l'aide d'une cellule Thoma, puis ajusté à 10^6 conidies/ml avec de l'eau distillée stérile (Davet, 1979).



Figure 17 : Préparation de l'inoculum de *Trichoderma viride*

1.3- Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA)

Les champignons mycorhiziens arbusculaires sont constitués de deux souches: la souche 1 (*Glomus sp.*) et de la souche 2 (*Acaulospora sp.*) extraites du sol provenant de la région agricole de Bouhamdoune. Jijel (figure18), clé de référence (Dalpé, 2005 ; Fortin et al., 2011). Identifiés au laboratoire de contrôle de qualité. Université Mohamed Seddik Benyahia. Jijel.

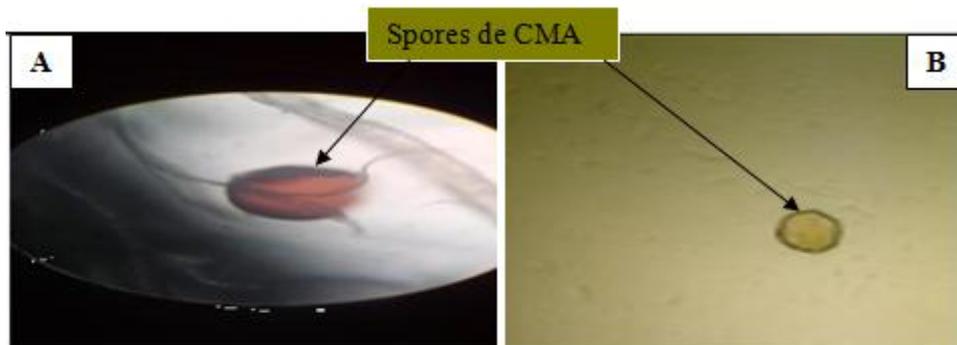


Figure 18 : Spores des CMA (A : *Glomus sp.* et B : *Acaulospora sp.*) sous microscope optique

1.3.1- La préparation de l'inoculum de CMA

La production d'inoculum consiste à multiplier les deux souches de CMA au laboratoire de contrôle de la qualité et de conformité (laboratoire Normalys « 06, Rue Ibn Khaldoune 18000. Jijel – en face du siège de la Daïra de Jijel »). Cette pré-mycorhization a pour but d'enrichissement de la terre en inoculum mycorhizien.

A cet effet, des plantes de maïs (*Zea mays*), sont cultivées dans des pots contenant 500 g du sol stérile, inoculés par 20 ml d'inoculum pour chaque souche de CMA. Ces pots sont arrosés régulièrement par de l'eau robinet. La multiplication d'inoculum est obtenue après deux (2) mois de culture, et il est constitué d'un mélange des spores, des fragments des racines mycorhizées de maïs et du sol (figure 19) (Haro, 2011).

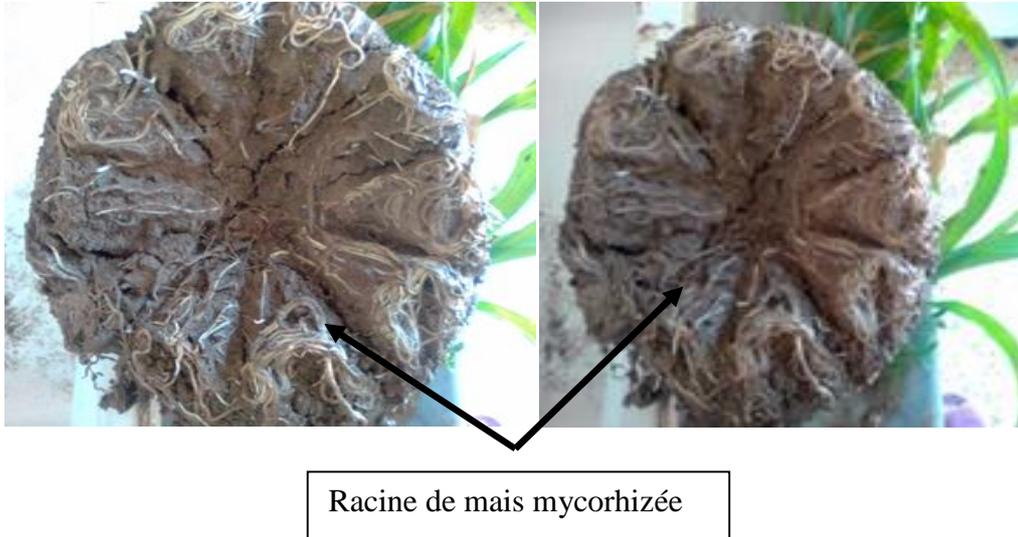


Figure 19: La multiplication des CMA avec la plante de maïs (*Zea mays*)

1.4- L'agent pathogène

L'isolat de *F. oxysporum* a été obtenu sur base d'isolement réalisé à partir des palmes du palmier dattier présentant des symptômes de la fusariose, prélevée de la région d'Oumache. Biskra. L'identification de l'agent pathogène a été réalisée microscopiquement et ce, d'après les caractéristiques des macroconidies, des phialides et des chlamydo-spores, selon la clé de détermination présentée par (Nelson et al., 1983).

1.4.1- Multiplication du *F. oxysporum*

La multiplication de l'inoculum a été réalisée en ensemençant des fragments d'isolat pur dans des boîtes de Petri contenant chacune un milieu PDA. Les boîtes de Petri sont ensuite incubées à une température de 25°C pendant 8 jours. Pour la préparation de la suspension conidienne, 10 ml d'eau distillée stérile sont versés à la surface de chaque colonie (figure 20). A l'aide d'une pipette Pasteur coudée, la surface mycélienne est raclée légèrement afin de libérer les conidies. La concentration conidienne a été évaluée à l'aide d'une cellule Thoma, puis ajustée à 10^6 conidies /ml avec de l'eau distillée stérile (Benhamou et al., 1997).



Figure 20 : Préparation de l'inoculum de *Fusarium oxysporum*

Le test rapide de pathogénicité a consisté à inoculer des graines de tomate (Super strain) sur milieu gélosé avec l'isolat de *F. oxysporum* identifier en raison de montrer la capacité de cet isolat d'induire des symptômes de la fusariose sur les plantes de la tomate.

Le test rapide de pathogénicité sur les graines a consisté à tremper des graines de tomate (Super strain), préalablement désinfectées à l'eau d'javel 1% pendant cinq (05) mn, dans une suspension conidienne de *F. oxysporum* à 10^6 conidies/ml. Puis ces graines infestées sont ensemencées sur un milieu gélosé contenu dans deux boîtes de Petri à raison de dix graines par boîte. Une boîte de Petri contenant un milieu gélosé et dix graines de tomate non inoculées a servi de témoin. Sept jours plus tard, le taux de germination a été évalué à 50% de germination pour les graines infestées contre 100% de germination pour le témoin (Hajlaoui et al., 2001).

1.5- Mise en place de l'expérience

Notre expérience menée du 03 mars 2019 dans la localité d'Emir Abdelkader, le but est d'évaluer le bénéfice potentiel de l'application des mycorhizes et *T. viride* sur la croissance des plantules de tomate (Super strain). L'expérience a été réalisée en plein champ. La température de jour était de 18 °C et la température de nuit 6 °C, l'humidité relative de 80% et la photopériode de 12 heures.

1.5.1- Désinfection et pré-germination des graines de tomate (Super strain)

Les graines de tomate (Super strain) sans défauts physiques visuels ont été sélectionnées. Celles-ci ont été désinfectées superficiellement par trempage dans l'eau d'javel à 1% pendant cinq (05) minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile afin d'éliminer les traces de l'eau d'javel. Après séchage, les graines étaient mises aseptiquement dans des boîtes de Petri stériles contenant des papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile, à raison de 20 graines réparties

uniformément sur toute la surface de la boîte. La germination des graines était assurée par incubation de ces boîtes dans une étuve réglée à 20 °C pendant 4 à 5 jours (figure 21). Une fois pré-germées, les graines étaient repiquées dans des pots contenant de la tourbe préalablement stérilisée par autoclavage pendant 30 min sous une pression de 1bar et une température de 120 °C (Benhamou *et al.*, 1997).

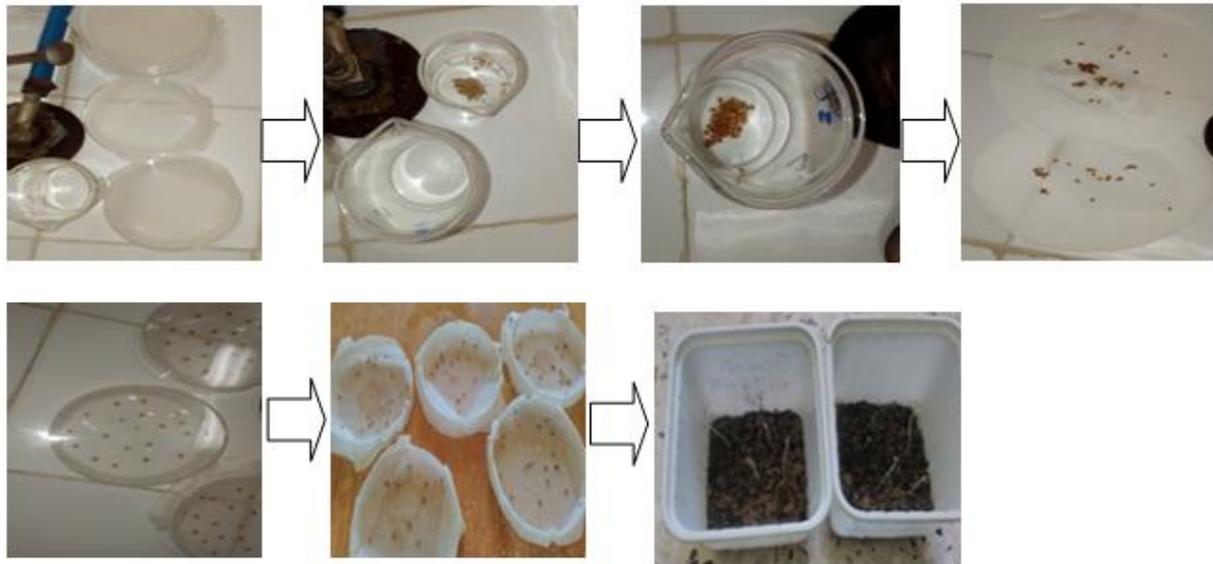


Figure 21 : Les différentes étapes de préparation des graines (dès la désinfection jusqu'à la germination)

1.5.2- La préparation du sol

La préparation du sol a été réalisée en effectuant un volume équilibré à raison de 50% du sol, et 50% de fumier. Le sol et le fumier ont été tamisés pour éliminer les gros débris pouvant empêcher la germination. Le mélange a été stérilisé dans une étuve à une température de 150 °C pendant une heure. Après refroidissement, le mélange a servi à remplir les sachets en polyéthylène (7,5 cm de diamètre et 12 cm de hauteur); puis arrosé pour stabiliser le sol. Ce dernier a été laissé au repos pendant 10 jours pour permettre la reprise de son activité biologique du sol. Dix (10) jours après stabilisation du sol, le repiquage des plantules de tomate était réalisé lorsque ces dernières atteignaient le stade de deux feuilles bien étalées (Elad *et al.*, 1980). La transplantation des plantules était réalisée dans le mélange préparé. Les plantules de tomate sont arrosées régulièrement chaque deux (2) jour par de l'eau normale. Les pots (sachets) sont arrosés chaque quinze (15) jours avec une solution nutritive par litre de KH_2PO_4 : 1 g ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,5 g ; NaNO_3 : 1g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: des traces; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 1g préparé selon la méthode de Hoagland *et Arnon* (1950), avec une Légère modification.

1.5.3- Le dispositif expérimental de l'essai

Le dispositif expérimental est composé de sept (7) traitements et en quatre (4) répétitions

T0: Témoin négatif sain ;

T1 : Témoin positif *Fusarium oxysporum* ;

T2: Témoin de CMA ;

T3 : Témoin de *T. viride* ;

T4 : Test d'infection *F. oxysporum* traité par *T. viride* seul ;

T5 : Test d'infection *F. oxysporum* traité par CMA seul ;

T6: Test de combinaison CMA et *Trichoderma viride*.

1.6- Mode d'inoculation

Les plantules de tomate variété ont été inoculées par injection au niveau du système racinaire, selon la technique de **Souna et al.**, (2010), dans la suspensions des conidies de 10^6 spore/ml pour *T. viride* et *F. oxysporum* pour chaque isolat, par l'ajout de 40 g du sol contenant les racines de *Zea mays* associées avec les CMA. Le témoin négatif a subit uniquement un trempage des racines dans l'eau distillée stérile pendant une heure (figure22).



Figure 22 : Témoin négatif sain

1.6.1- L'inoculation des CMA

L'inoculation des CMA a été faite juste avant le repiquage et chaque poquet de repiquage des traitements T2 et T6 a reçu 40 g d'inoculum de CMA (figure 23).



Figure 23 : Témoin de CMA

1.6.2- L'inoculation de *Trichoderma viride*

L'inoculation de *Trichoderma viride* a été faite juste après le repiquage par injection de la zone rhézosphérique des racines des plants de tomate par une suspension conidienne de 10^6 conidies/ml; (chaque poquet de repiquage des traitements T3 et T6 a reçu 10 ml d'inoculum de *Trichodenna viride*) selon la méthode de **Davet en 1979** (figure 24).



Figure 24 : Inoculation de *Trichoderma viride*

1.6.3- L'inoculation de *F. oxysporum*

L'inoculation de *F. oxysporum* a été faite après repiquage. Ainsi, chaque plant de tomate T1, T4, T5 a reçu au niveau du collet et des racines 10 ml d'inoculum de *F. oxysporum* à 10^6 conidies/ml (figure 25).



Figure 25 : Inoculation de *F. oxysporum*

1.6.4- Test de combinaison

Chaque plant de tomate T6 a reçu avant le repiquage, les souches de CMA (40 g d'inoculum mélangé avec le sol et les racines de *Zea mays*), et 10 ml d'inoculum de *Trichoderma viride* à 10^6 spore/ml injecté au niveau des racines (figure 26).



Figure 26 : Inoculation du poquet de traitement T6 par *T. viride*

1.6.5- Traitement

Après quinze jours (15) d'infection, le poquet qui a subi l'inoculum juste après le repiquage (T4), est traité par *T. viride*. Alors que, les poquets T5 et T6 sont subis un traitement préventif après repiquage selon la méthode de (Woo *et al.*, 1996).

1.7- La collecte des données

La notation des symptômes de la fusariose a été réalisée quinze jours (15) après l'infection par *F. oxysporum* à partir de la date d'inoculation (18/03/2019). La mesure de l'état sanitaire des plants est

basée sur une échelle de notation des symptômes de la fusariose (**Vakalounakis et Fragkiadakis, 1999**) (tableau 6) comprenant quatre valeurs:

Tableau 6 : Les symptômes de la fusariose (Vakalounakis et Fragkiadakis, 1999)

Valeurs	Symptômes
1	plante saine ;
2	léger jaunissement, légère pourriture du collet et des racines secondaires et pourriture du collet ;
3	jaunissement important des feuilles avec ou sans flétrissement, rabougrissement des plantes, pourriture sévère du pivot et des racines secondaires, pourriture importante du collet et brunissement des vaisseaux de la tige ;
4	mortalité de la plante.

Sur la base de ces notations, on a calculé l'incidence de la maladie (%) en utilisant la formule suivante (**Song et al., 2004**) :

(Le nombre des plants infecté / Le nombre totale des plantes inoculés) *100

La réduction de l'incidence de la maladie (%) a été calculée selon la formule suivante (**Song et al., 2004**) :

$$\left(\frac{\text{Incidence de la maladie du témoin inoculé} - \text{incidence de la maladie des plants traités}}{\text{Incidence de la maladie du témoin inoculé}} \right) *100$$

1.7.1- Mesure des paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain)

Les parties aérienne et racinaire des plantes de chaque pot ont été prélevées afin d'évaluer l'effet de chaque isolat fongique. Différents paramètres de croissance ont été mesurés : la taille, le nombre des feuilles et folioles. Ces mesures ont été effectuées sur un plant de tomate par pot et quatre pots par condition (témoin négatif sain, témoin positif de *F. oxysporum*, témoin de *T. viride*, témoin des mycorhizes, test d'infection par *F. oxysporum* traité par *T. viride* seul, test d'infection par *F. oxysporum* traité par CMA seul et le test de combinaison (*T. viride* et les CMA)) (**Caron et al., 2002**).

a- La taille a été mesurée à partir du collet jusqu'à l'apex de la dernière feuille du brin principal. Ainsi que, on mesurant la longueur des racines et des feuilles et leur largeur.

b- Le nombre des feuilles et folioles.

c- Les poids secs et frais des parties aérienne et racinaire de chaque plant ont été pesés avant et après séchage dans l'étuve à 60 ° C pendant 48 h et pendant 4 jours. Le pourcentage de matière sèche pour la partie aérienne et le système racinaire a été calculé avec la formule suivante :

$$\% \text{ matière sèche} = 100 - ((\text{poids frais} - \text{poids sec}) / \text{poids frais}) * 100.$$

Le pourcentage en eau a été calculé avec la formule suivante :

$$\% \text{ en eau} = 100 - (\% \text{ matière sèche}).$$

1.7.2- La vérification de la présence de l'agent pathogène, de *Trichoderma* et des CMA

1.7.2.1- Le ré-isolement de *F. oxysporum*

Le ré-isolement de *F.oxysporum* a été fait conformément à la méthode d'isolement à partir du sol par la méthode de dilution et à partir des fragments du différents organes de la plante donc, différentes parties (racine, tiges et feuilles) des échantillons des plants de tomate présentant des symptômes de la fusariose ont été coupés en fragments d'environ 1 cm, puis désinfectés superficiellement par trempage dans de l'eau de javel à 1% pendant cinq (05) minute. Les fragments sont ensuite rincés avec de l'eau distillée stérile et séché entre 2 papiers filtre stérile. Une fois séchés, les fragments sont déposés dans des boîtes de Petri contenant le milieu PDA. Les boîtes de Petri ont été mises en incubation à une température de 25 °C pendant six (06) jours. La purification de *F. oxysporum* a été réalisée en repiquant successivement des fragments de colonie fongique. L'identification de l'agent pathogène a été réalisée au microscope, d'après les caractéristiques des macroconidies, des phialides et des chlamydozoospores la forme et la couleur rose des colonies (**Woo et al., 1996**) (figure 27).



Figure 27 : Les étapes de ré-isolément de *Fusarium oxysporum*

1.7.2.2- Le ré-isolément de *Trichoderma viride*

Un gramme (1 g) de l'échantillon du sol de chaque traitement (T3, T4 et T6) ayant reçu la souche de *Trichoderma viride* a été introduite dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée stérile. A l'aide d'une pipette Pasteur, cinq (05) gouttelettes de la solution du sol ont été déposées dans des boîtes de Petri contenant un milieu PDA. Ces boîtes de Petri ont été mises en incubation sous une température de 25°C pendant six (06) jours. A la fin de l'incubation, l'identification est faite sur la base des caractères cultureux du champignon et des organes de fructifications (colonie, phialides et conidies) (McGovern et al., 1992).

1.7.2.3- La vérification de la présence des CMA

A la fin de l'expérimentation, un prélèvement aléatoire d'environ 1 g des racines fines de chacun des traitements modalité (T2, T5 et T6) ayant reçu les souches de CMA a été fait. Ces racines ont été colorées au laboratoire de contrôle de qualité. Université Mohamed Seddik Benyahia. Jijel.

1.7.2.4- Mise en évidence de la colonisation mycorhizienne

Pour la détection de la colonisation des racines par les CMA, un traitement et une coloration préalable des racines sont nécessaire. Pour cela, la méthode de Phillips et Haymann (1970) est utilisée avec une légère modification. Les racines sont d'abord lavées sous l'eau du robinet pour éliminer les débris et les particules du sol, ces racines sont coupées en morceaux, de 1cm de long, placées dans un bain de potasse (KOH) (10%) et chauffée à une température de 90 °C durant 30 mn pour vider les cellules, rincées dans l'eau distillée stérile trois (03) fois successives afin

d'éliminer toute trace de KOH, et placées dans une solution de bleu coton à 0,05% pendant 30 mn à une température de 90 °C (figure 28).

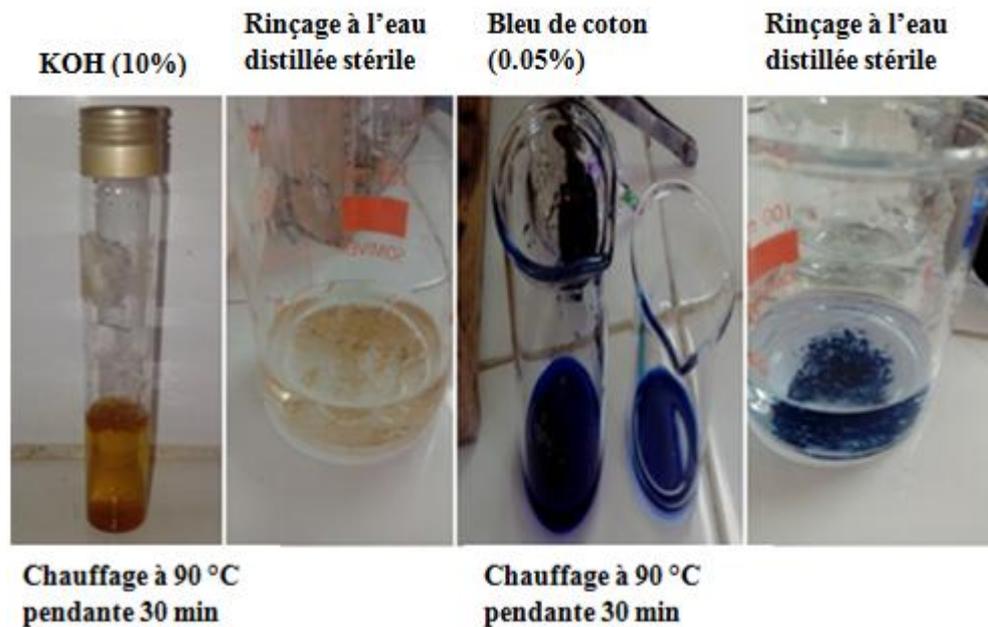


Figure 28: Schéma de coloration des échantillons racinaires

Les fragments des racines d'environ 1 cm de longueur prélevés de chaque échantillon coloré ont été disposés parallèlement entre lame et lamelle. La mycorhization s'observe à l'examen au microscope photonique (X40) par une coloration bleue foncée des structures fongiques dans les racines.

1.7.2.5- Les paramètres d'évaluation

L'importance de la mycorhization est appréhendée à l'aide des paramètres suivants:

* Fréquence de la mycorhization F(%) :

$$F(\%) = (\text{nombre de fragments mycorhizés} / \text{nombre total}) \times 100$$

C'est le paramètre le plus utilisé.

* Intensité globale de la mycorhization I(%) :

$$I(\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / \text{nombre total des fragments.}$$

n_5 , n_4 , n_3 , n_2 et n_1 : représentent les nombres de fragments mycorhizés notés respectivement 5, 4, 3, 2 et 1 (Giovannetti et Gianinazzi-Pearson, 1994).

1.7.2.6- Extraction des spores de CMA à partir du sol

Les spores, qui sont un inoculum, ont été extraites et comptées dans le sol étudié. Un échantillon de 40 g a été prélevé. Les spores ont été séparées des particules des sols selon une méthode de tamisage par voie humide, adaptée de **Gerdemannet Nicholson (1963)** est utilisée avec une légère modification (figure 29). Le sol, dispersé dans 5 litre d'eau de robinet, a été versé sur le haut d'une série des tamis superposés du bas en haut selon la valeur grandissante de leur ouverture de maille (100 mm, 1 mm et 500 um). L'eau obtenue sera filtrée par des papiers filtres stériles, chaque fraction retenue a été observée à la loupe binoculaire afin de déterminer les spores. Dans un deuxième temps, les spores ont été triées sur la base de leur forme, de leur texture et de leur couleur afin d'identifier les différents morphotypes présents. Pour ce faire, nous avons utilisé des spécimens-types référencés sur le site INVAM [**I**nternational **C**ulture **C**ollection of (**V**esicular) **A**rbuscular **M**ycorrhizal **F**ungi] (<http://invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions>).

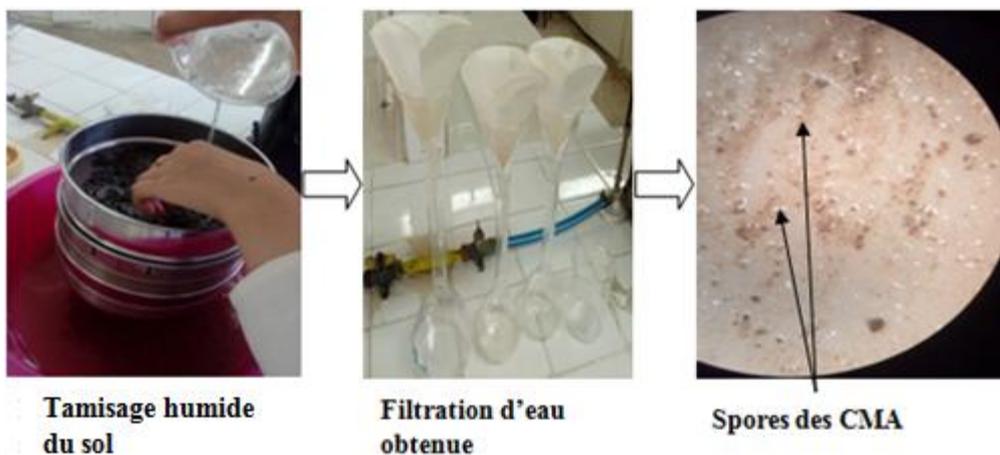


Figure 29 : Méthodes de tamisage et de filtration des spores de CMA

Partie III: **Résultats et discussions**



I- Développement de la maladie après quinze jours d'infection

I.1- Effets de *F. oxysporum* sur le développement des plantules de tomate (Super strain)

De très nombreux moyens ont été proposés pour estimer l'action du *Fusarium* en tant que parasite vasculaire de la tomate. Le plus généralement, on utilise des éléments d'observations liés à l'expression d'un ou plusieurs des symptômes externes induits par le champignon qui sont : des taches chlorotiques, jaunissement, nécrose et mort de la plante.

Il est à noter que les plantules de tomate (Super strain) inoculées par *F. oxysporum* ont montré un démarrage difficile (T1 et T4). Il semble donc que *Fusarium oxysporum* peut être considéré comme le principal auteur des perturbations enregistrées chez les plantules de tomate.

De plus, La progression de la maladie a été plus rapide et plus forte au niveau de (T1 et T4) par rapport aux autres poquets de traitements (T5 et T6) qui ont connu une faible progression de la maladie (figure 45, annexe 1). Le témoin négatif comportant des plantules préalablement trempées dans l'eau distillée stérile, n'ont montré aucun symptôme de maladie sur aucune partie des plantes, qui sont par conséquent intactes (figure 44, annexe 1), (tableau 9, annexe 2).

I.1.1- Effet sur la hauteur et poids des plants de tomate (Super strain) inoculés

Alors que, Les mesures des paramètres de croissance (la longueur, la largeur, le poids frais et sec, le nombre des feuilles et des folioles) (figure 46 et 47 ; annexe 1), (tableau 11 et 12 ; annexe 2) apparaissent faibles, des différences dans la réaction des plantules à l'inoculum de *F. oxysporum* apparaissent nettement quand on examine leur effet sur les hauteurs et les poids. Donc, la longueur des tiges du plants inoculés reste inférieure à 8.3 cm des poquets (T1 et T4) avec un diamètre plus faible de (9 - 6.5 et 8) cm et (9.5 - 8.3 et 10.5) cm correspond aux racines, tiges et feuilles respectivement, de plus, on a mesuré la largeur des feuilles, le nombre des feuilles et des folioles pour les même poquets qui est de 1.5 cm, (6 et 7), est de 2 cm, (5 et 6) respectivement. Les poquets qui sont subis un traitement préventif (T5 et T6) ont présenté des longueurs des racines, tiges et feuilles important, de largeur et nombre des feuilles et folioles qui sont des (9 - 7.5 - 9 et 2.5) cm, (5 et 7) ; (25 - 17.5 - 20 et 5.6) cm et de (9 et 11). Alors que, les plants témoins ont présenté la plus forte croissance variant de (19.5 - 11 et 10) cm, et la largeur des feuilles atteint 2 cm avec un nombre des feuilles et folioles qui est de (9 et 9) respectivement (tableau 11 ; annexe 1), (figure 30).

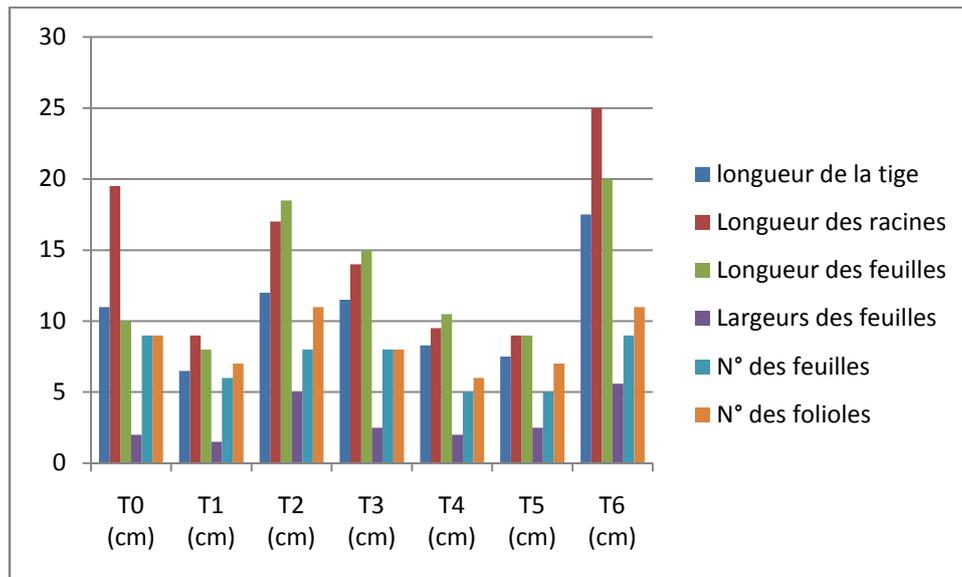


Figure 30 : Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

Les plantules de tomate ont montré des réductions importantes de poids frais et sec des parties aérienne et racinaire des poquets (T1, T4) qui atteignent (3.5 et 0.38 ; 0.2 et 0.02) g et de (1.9 et 0.21 ; 0.2 et 0.02) g respectivement comparativement au témoin sain (T0 et T3) qui atteignent (6.2 et 1.21 ; 0.9 et 0.02) g et de (5.1 et 0.65 ; 1.2 et 0.12). Les poquets qui ont subi un traitement préventif (T5 et T6) ont présenté un poids frais et sec plus important des deux parties végétatives qui atteignent (2.9 et 0.35 ; 0.2 et 0.03) g et (20.6 et 6.06 ; 3.5 et 0.83) g respectivement. Le témoin sain (T0) et (T2) présentent un poids frais et sec important pour les mêmes parties végétatives (6.2 et 1.21 ; 0.9 et 0.13) g et de (19.8 et 5.95 ; 3.29 et 0.80) g respectivement (figure 44 et 45 ; annexe 1), (tableau 12 ; annexe 2), (figure 31).

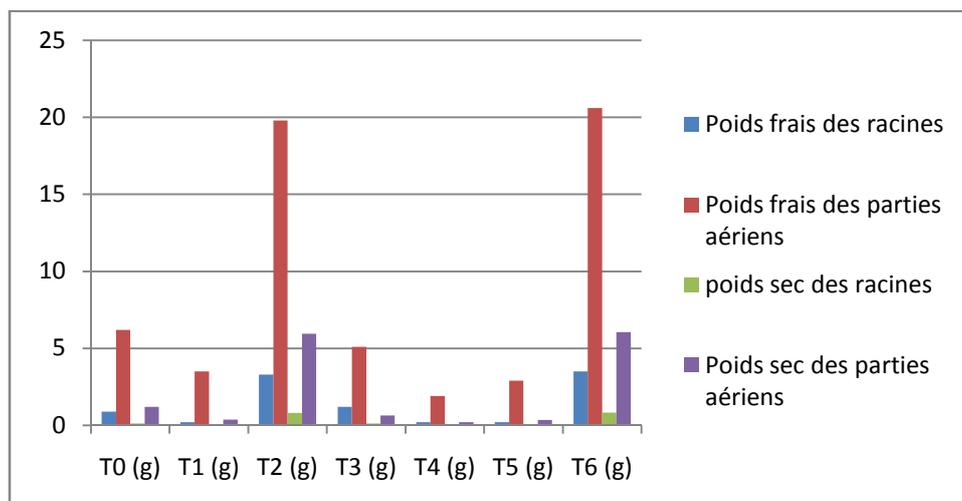


Figure 31 : Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

I.1.2- Effet de *F. oxysporum* sur les pourcentages de la matière sèche et en eau

Concernant la concentration de la matière sèche des parties aériennes et racinaires des poquets (T1 et T4), il y a un effet de l'agent pathogène qui se traduit par les dommages causés sur les organes végétatifs des plants. Cependant, les pourcentages enregistrés étaient de (10.85% et 10%) et (11.05% et 10%) que le témoin sain et T3 était de (19.51% et 14.44%) et (12.74% et 10%) respectivement. En effet, les pourcentages en eau des deux poquets (89.15% et 90%) et (88.95% et 90%) respectivement, étaient plus proches que le témoin sain et *T. viride* (T0 et T3), soit respectivement (80.49% et 85.5%) et (87.26% et 90%) ce qui prouve que les plantes apparaissent résistantes au début de l'infection. Par ailleurs, les pourcentages en matière sèche des parties aériennes et racinaires des poquets (T5 et T6) étaient plus grands que le témoin sain, (12.06% et 15%) et (29.41% et 23.71%) respectivement, alors que, le témoin sain qui a enregistré une valeur de (19.51% et 14.44%) respectivement. En outre, on a enregistré une variabilité des pourcentages en eau selon les poquets et l'état de chaque traitement qui sont de (87.94% et 85%) et (70.59% et 76.29%) respectivement comparativement au témoin (80.49% et 85.56%) (figure 32), (tableau 13 ; annexe 2).

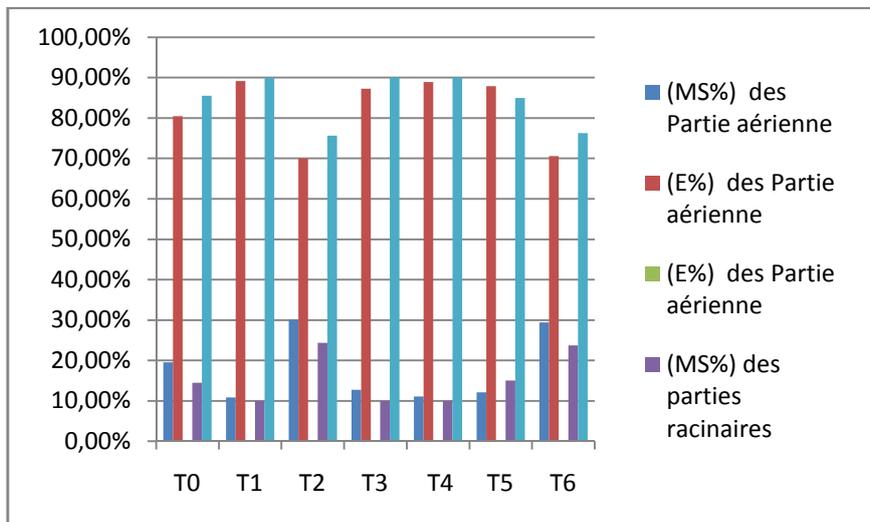


Figure 32 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection

I.1.3- L'incidence de la maladie de *F.oxysporum*

Les résultats obtenus confirment la pathogénicité de *F. oxysporum* qui produit de décoloration au niveau des feuilles et du collet des plantules de tomate (Super strain). Cependant, l'incidence de la maladie après (15) jours d'infection était de 50%, alors que, on a enregistré une diminution de cette

incidence après (22) jours de traitement, car les plantules ont récupère leurs activités de résister contre ce pathogène, qui est de 25% pour les poquets de traitement (T4, T5 et T6). Par ailleurs, les résultats obtenus ont révélé que l'incidence de la maladie de poquet T1 est plus forte qui est de 75% après (15) jours d'infection. Cette incidence augmente avec le temps parce que la maladie se progresse graduellement est atteint 100% après (37) jours d'infection. (tableau 17; annexe 2), (figure 33).

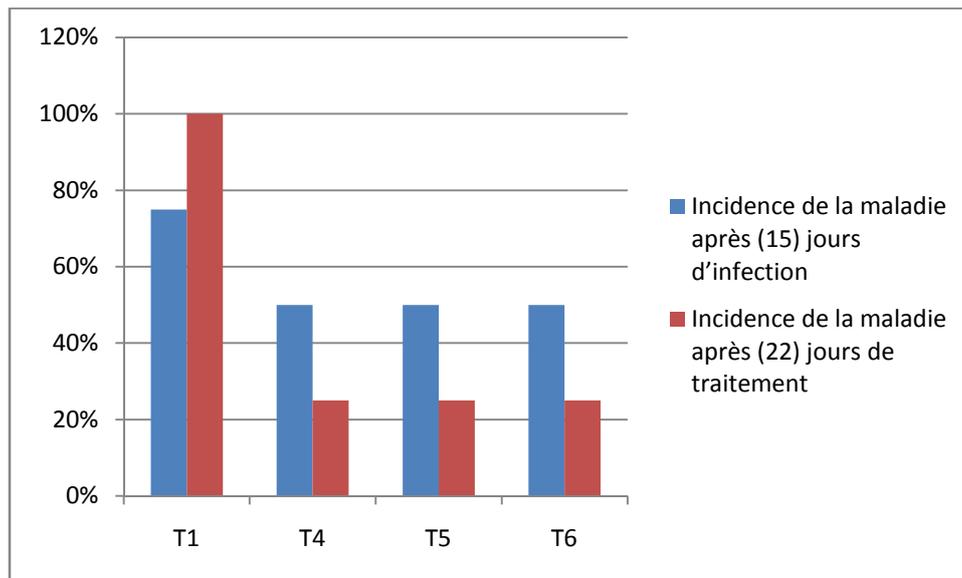


Figure 33 : Incidence de la maladie de fusariose

Certaines plantules (T4, T5 et T6) sévèrement atteinte montrent une prolifération des racines adventives (figure 48 ; annexe 1), cela est sûrement dû à un mécanisme de défense mis en place par la plante pour remplacer son système racinaire endommagé et assurer sa survie et son approvisionnement en eau et sels minéraux.

II.1- Réduction de la maladie après traitement par *T. viride*

II.1.1- Effet de *T.viride* sur l'incidence de la maladie

Les résultats obtenus ont révélé une réduction de l'incidence de la maladie qui atteint (50%) pour chaque poquet de traitements (T4 et T6). La comparaison des plants traités par *T.viride* (T4 et T6), par rapport à celles des plantes témoins sain n'a révélé aucune différence. Mieux encore, les plants traités par l'agent de biocontrol ont eu une croissance végétative plus importante (Figure 38 ; annexe 1). Ces résultats montrent ainsi l'efficacité de *T. viride* qui a put arrêter et même éliminer la maladie. Cela s'explique par une activation du système de défense de la plante. La comparaison du système racinaire des plants traités par *T.viride* (T4 et T6) à celui des plants témoins inoculés (T1)

(Figure 50 et 51 ; annexe 1), montre une nette différence entre les deux. En effet, pour les plants traités par *T.viride*, le système racinaire se développe normalement et aucun brunissement ou pourriture ne sont observés. Cette résistance se traduit par un développement normal des plants de tomate présentant un système racinaire vigoureux en le comparant au témoin sain (figure 34), (figure 52 ; annexe 1).

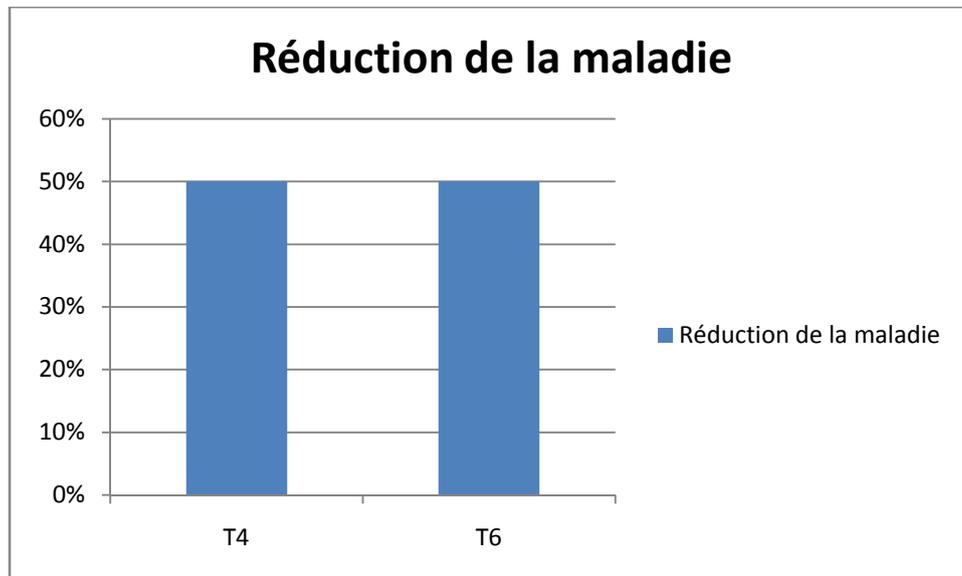


Figure 34 : Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par *T. viride*

II.1.2- Effets de *T. viride* sur les paramètres de croissance (longueur et le poids frais et sec) des plantules de tomate (Super strain)

Selon les résultats obtenus la croissance en longueur des plantules des poquets (T3, T4 et T6) ont une meilleure croissance des racines, tiges et feuilles qui est de (24.9 - 36.8 et 26.1), (25 - 43.6 et 23.4) et (37.4 - 48 et 34.5) cm respectivement. De même, la largeur, le nombre des feuilles et des folioles était de 18.4 cm (10 et 10), 22 cm (11 et 9) et 24.7 cm (11 et 11), comparativement de ceux enregistré chez le témoin sain qui est de (18.2 - 28 et 25.8) cm et de 14.5 cm (10 et 9) (figure 35), (tableau 14 ; annexe 1), (figure 49 ; annexe 1).

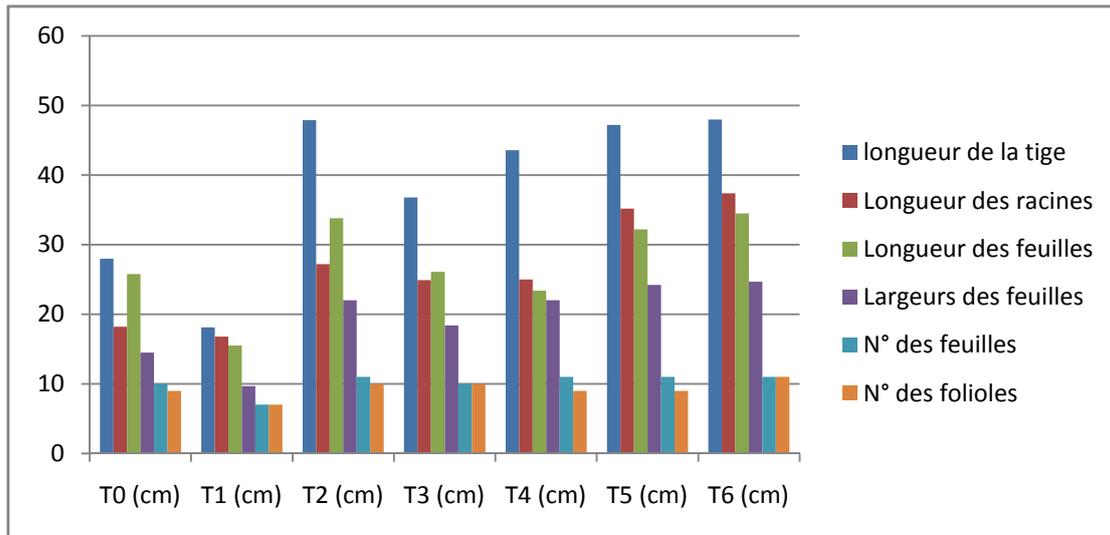


Figure 35 : Amélioration des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt-deux (22) jours de traitement

En effet, l'estimation du poids frais et sec des parties racinaires et aériennes a montré un grand poids qui est de (11.48 et 3.01 ; 39.47 et 17.38), (14.16 et 4.73 ; 46.21 et 21.25) et (19.6 et 8.28 ; 76.83 et 38.49) g respectivement comparativement au témoin sain qui est représenté par (5.13 et 1.18 ; 20.99 et 12.09) g respectivement (figure 36) (figure 50 et 51 ; annexe 1) (tableau 15 ; annexe 2).

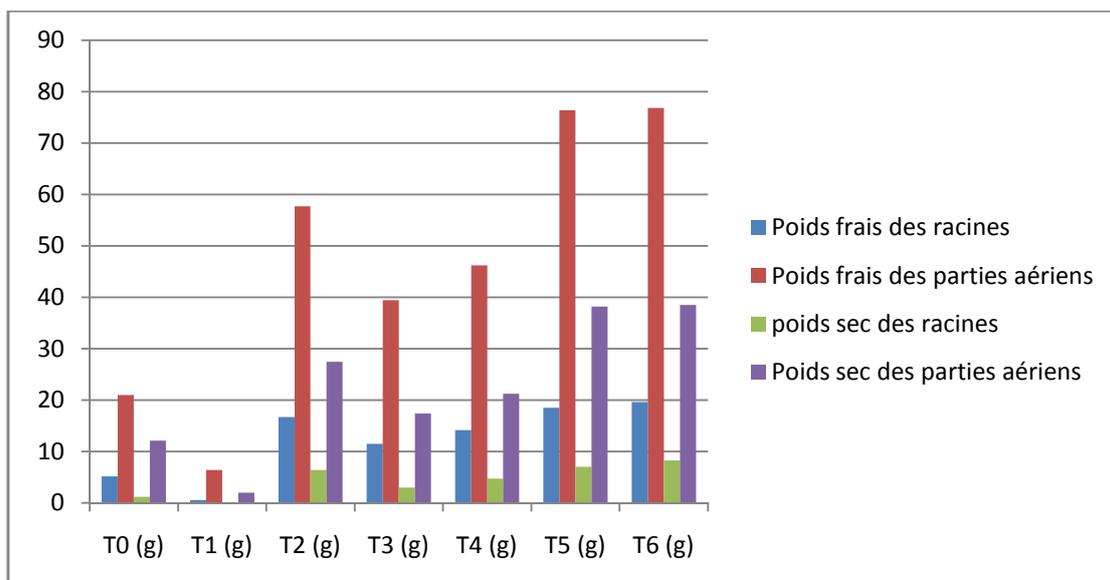


Figure 36 : Evaluation du poids frais et sec des deux parties végétatives des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement

II.1.3- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par *T. viride*

Les résultats obtenus ont révélé que les pourcentages en matière sèche des parties aériennes et racinaires du poquet (T4) est de (45.98% et 33.40%) respectivement comparativement au témoin sain et de *T. viride* (T0 et T3) qui ont révélé plus grand (61.45% et 23%) et (44.03% et 26.21%) respectivement. Par conséquent, les pourcentages en eau des deux parties végétatives sont importante dans le poquet (T4) est de (54.07% et 66.60%) respectivement et comparativement au témoin sain et *T. viride* (T0 et T3) qui sont de (38.55% et 77%) et (55.97% et 73.79%) respectivement. (figure 37), (tableau 16 ; annexe 2).

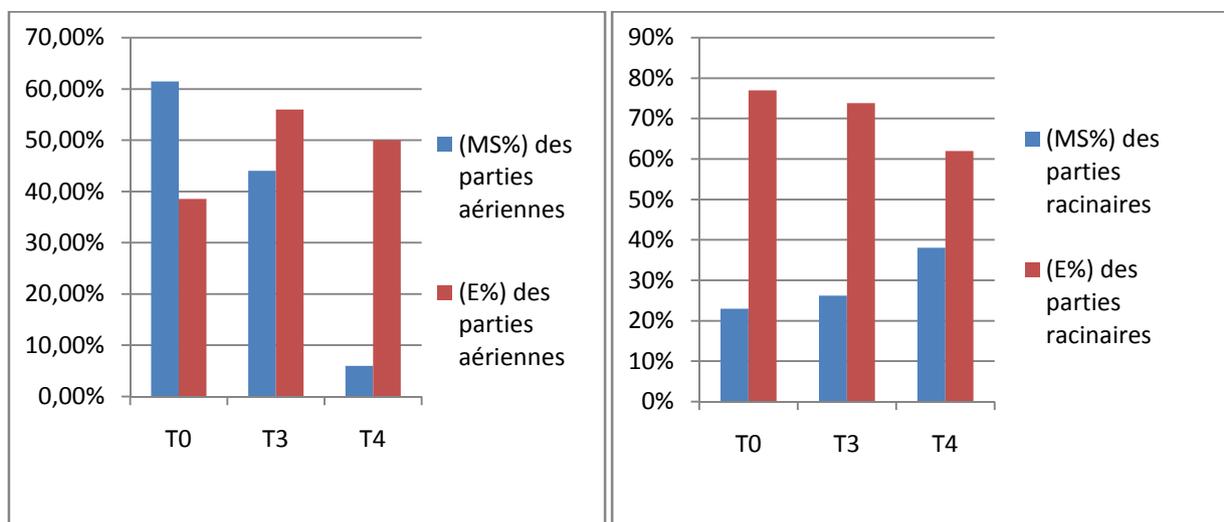


Figure 37 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement

II.2- Effet des CMA sur le développement des plantules de tomate

A ce jour, le potentiel des CMA dans la protection des plantes a été décrit le plus souvent dans le cas d'infections racinaire, mais très peu dans les maladies foliaires. De plus, l'effet protecteur des CMA a été rapporté dans le cadre d'interactions plantes/champignons nécrotrophe comme *Botrytis*, mais pas du tout dans le cas des agents fongiques biotrophes comme oïdium.

II.2.1- Estimation des paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain) mycorhizés

Les résultats des mesures des paramètres de croissance des plants de tomate (la longueur des racines, des tiges, longueur et largeur des feuilles, le nombre des feuilles et des folioles, poids frais et sec des parties racinaires et aériennes) sont présentés dans le (tableau 14 et 15; annexe2).

Les résultats montrent que la mycorhization stimule la croissance des plantules de tomate (Super strain) inoculées par rapport au témoin sain ; son effet se manifeste par :

- L'augmentation des paramètres de croissance des plants mycorhizés par rapport au témoin sain et,
- L'importance du chevelu racinaire chez les plants inoculés.

Les résultats obtenus montrent une différence de croissance entre les plants de tomate mycorhizés (T2, T5 et T6) et le témoin sain. Donc, les plantules inoculées par CMA ont une longueur des racines plus importante qui atteint (27.2 - 35.2 et 37.4) cm respectivement que celle des plantules de témoin sain non mycorhizées est de 18.2 cm (figure 49 et 51 ; annexe 1). Par ailleurs, la longueur des tiges et des feuilles des même poquets de traitement représente (47.9 et 33.8), (47.2 et 32.2) et (48 et 34.5) cm respectivement. De plus, on a constaté que les feuilles des plants mycorhizés apparaissent très large avec (22 ; 24.2 et 24.7) cm et un stade de 11 feuilles pour chaque poquet et un nombre des folioles de (10; 9 et 11) (tableau 14; annexe 2). Trois mois de croissance, les poids de la matière sèche et fraîche aérienne et racinaire des plants inoculés été plus grands que le témoin, une augmentation a été enregistrée (27.46 et 57.71 ; 6.38 et 16.73), (38.2 et 76.83 ; 7.04 et 18.5) et (38.49 et 76.83 ; 8.28 et 19.6) g. Alors que, chez le témoin est de (12.09 et 20.99 ; 1.18 et 5.13) g respectivement (figure 50 et 51 ; annexe1), (tableau 15 ; annexe 2).

Les résultats obtenus ont révélé que la combinaison entre l'inoculum des CMA et de *T.viride* a eu des effets sur les paramètres de croissance des plants de tomate (Super strain) inoculés (T6), qui s'est manifesté par une croissance vigoureuse et un système racinaire plus développé. De cet essai il en ressort que la meilleure croissance des plants de tomate a été obtenu après inoculation par combinaison entre les CMA et *T. viride*, suivi par des plants inoculés par les CMA seul (T5), et enfin le test d'inoculation par *T. viride* seul (T4), comparativement aux témoins sain (T0) et témoin inoculée (T1) (figure 49, 50 et 51; annexe 1), (tableau 14 et 15 ; annexe 2). Les résultats révèlent que le traitement des plantules de tomate par CMA et *T.viride* ont eu un effet synergique pour le contrôle de *F.oxysporum*. En effet, le traitement avec ces deux agents de biocontrol séparément ont un effet inférieur qu'en synergie.

II.2.2- Estimation des paramètres d'inoculation mycorhizienne des plantes de tomate

On constate que la fréquence de mycorhization (F) atteint un niveau de 68.75%. Quant l'intensité de colonisation du cortex racinaire (I) est faible, elle est de 26.75%. Ceci est dû à la courte durée de

vie des arbuscules (une à trois semaines) qui dégénèrent ensuite pour être remplacés par les hyphes et des vésicules qui persistent jusqu'à la mort de la cellule.

II.2.3- Effets des CMA sur l'incidence de la maladie

La mycorhization des plants de tomate permet une bonne croissance et une réduction de la sévérité des attaques dues à *F.oxysporum*. Alors que, la réduction de l'incidence de la maladie était de 50% pour les poquets (T5 et T6). La comparaison des plants traités avec les CMA à celles de témoin sain ont eu une croissance végétative plus importante (tableau 17 ; annexe 2), (figure 38). Ces résultats montrent ainsi l'efficacité des mycorhizes qui ont pu arrêter et même éliminer la maladie.

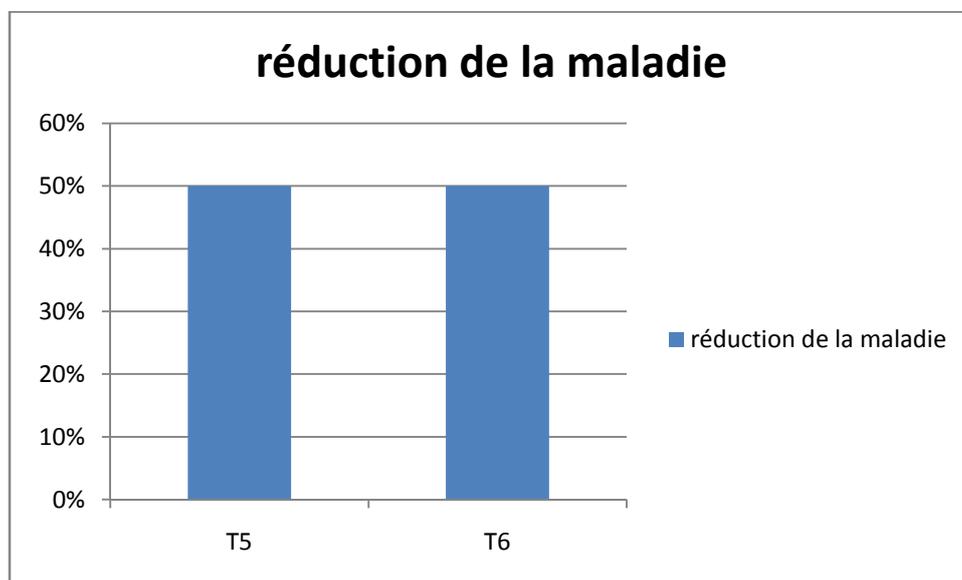


Figure 38 : Réduction de l'incidence de la maladie après traitement par les CMA

II.2.4- Evaluation des pourcentages de la matière sèche et en eau après traitement par CMA

Alors que, les pourcentages en matière sèche des parties aériennes et racinaires des poquets (T2, T5 et T6) sont atteints (47.42% et 40.82%), (49.98% et 38.05%) et (50.36% et 42.24%) respectivement comparativement au témoin sain (61.45% et 23%) respectivement. De plus, on a constaté que les pourcentages en eau sont plus grands que ce du témoin, ce qui indique le rôle majeur des CMA d'améliorer l'absorption en eau qui est de (52.58% et 59.18%), (50.02% et 61.95%) et (49.64 et 57.76%) respectivement et par rapport au témoin (38.55% et 77%) (figure 39), (tableau 16 ; annexe 2).

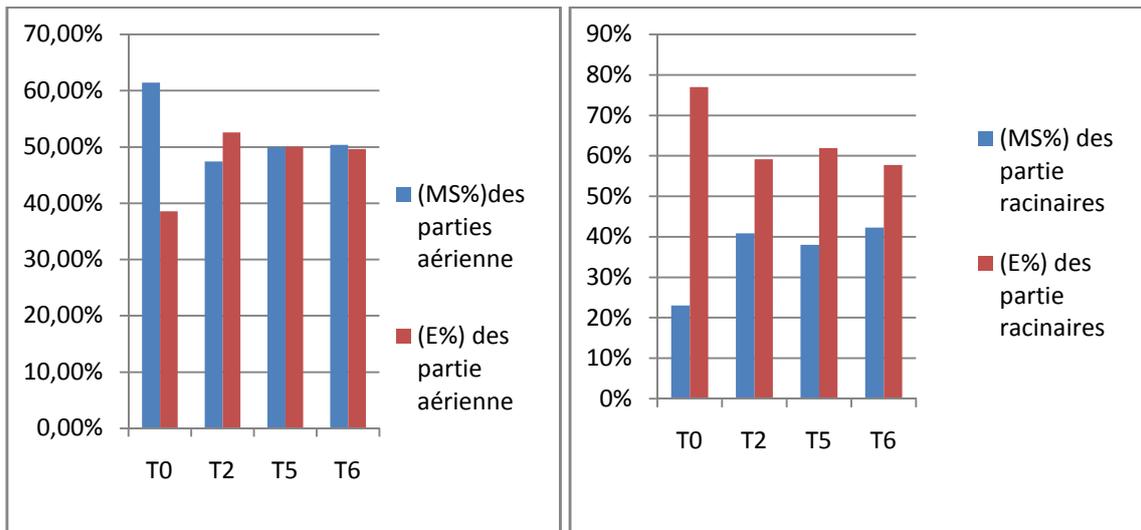


Figure 39 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement

II.3- Les tests de vérification de la présence de l'agent pathogène, de *Trichoderma* et des CMA

II.3.1- Test de ré-isolément de *F. oxysporum*

Le ré-isolément à partir des fragments des racines, tiges et feuilles des plants de tomate présentant les symptômes de fusariose, ainsi que à partir du sol. D'après, les caractéristiques de macroconidies, microconidies, des phialides, de chlamydospore, la forme et la couleur rose des colonies, ce ré-isolément prouve la présence de *F. oxysporum* (figure 40).

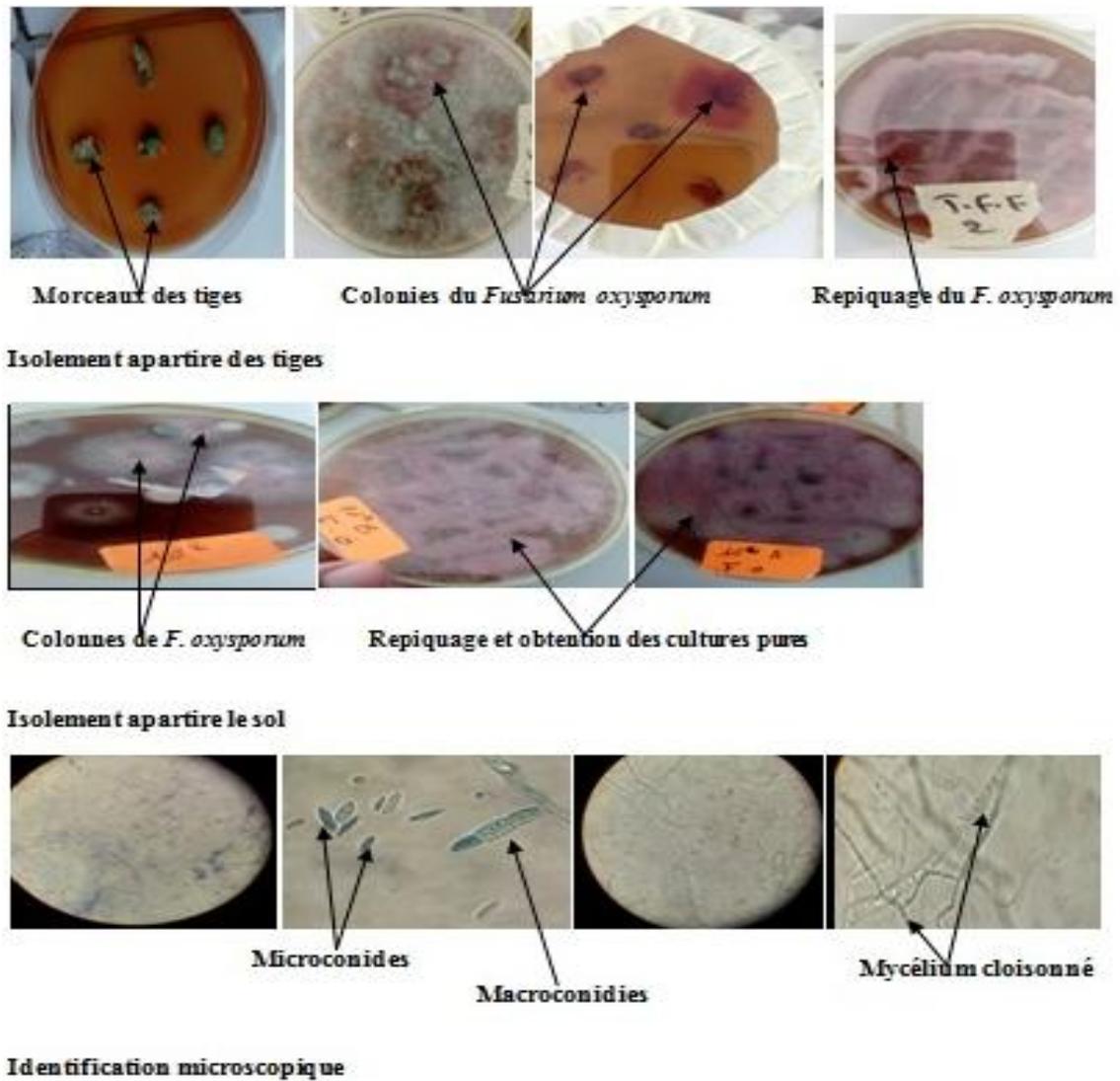


Figure 40 : Les résultats de ré-isolément du *F. oxysporum*

II.3.2- Test de ré-isolément de *Trichoderma viride*

Le ré-isolément à partir d'échantillons du sol prélevé dans les traitements de l'expérimentation sur *F. oxysporum*. D'après les caractères cultureux du champignon et des organes de fructification (colonie, phialides et conidies), ce ré-isolément prouve la présence du *Trichoderma viride* (figure 41).

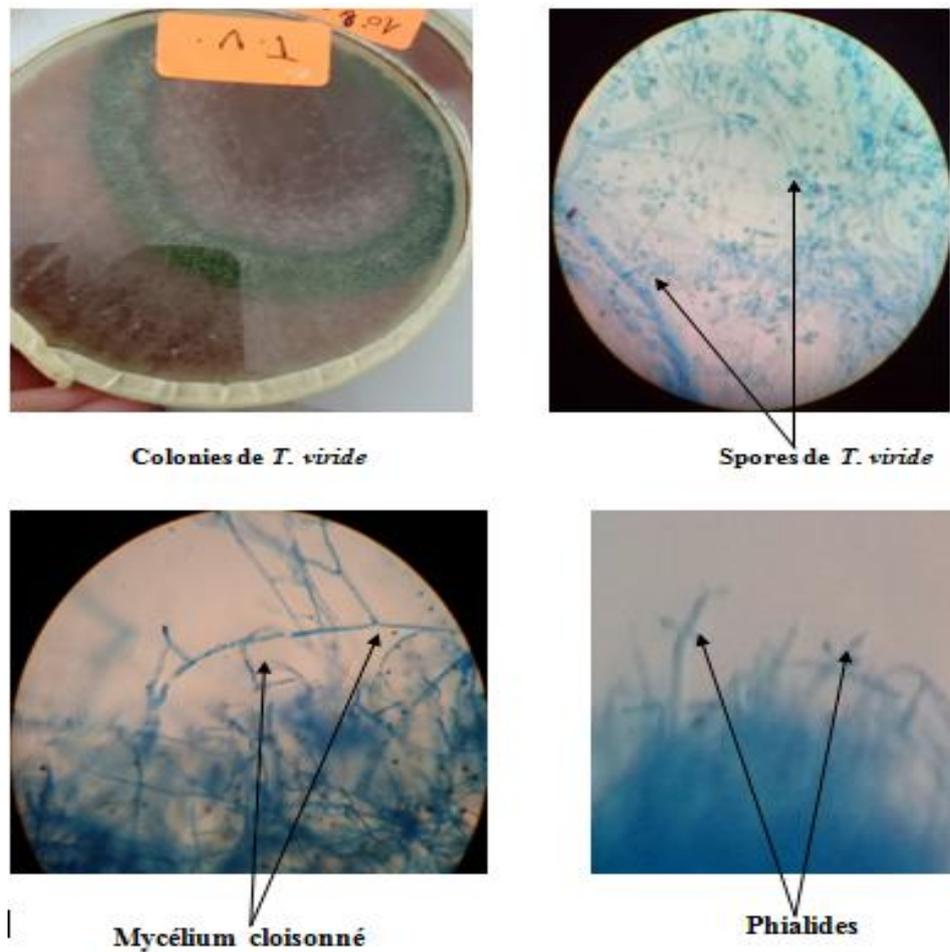


Figure 41 : Aspect macroscopique et microscopique de *T. viride* après ré-isolément

II.3.3- Vérification de la présence des CMA

Les racines observées après coloration ont montré la présence des champignons mycorhiziens arbusculaires. Plusieurs formes (mycélium extra-racinaire et intra-racinaire, arbuscules, vésicules et spores) ont été observées, ce qui prouve la présence des CMA (figure 42).

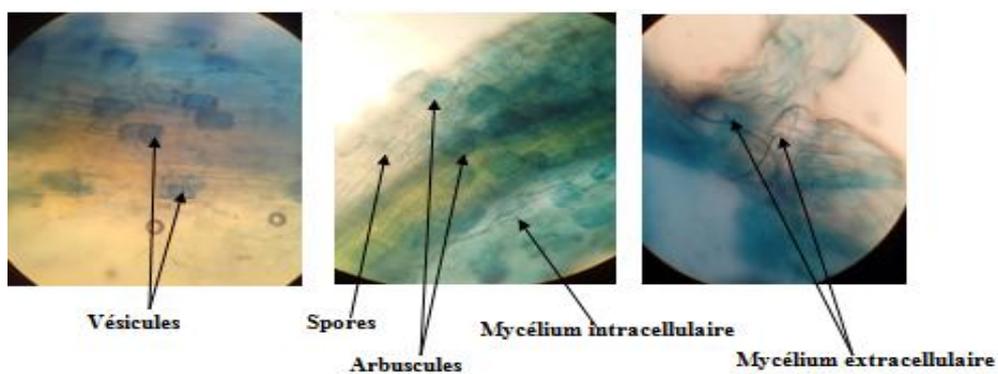


Figure 42 : Vérification de la présence des mycorhizes au niveau des racines

II.3.4- Test de ré-isolement des spores des CMA

L'examen microscopique du tamisat du sol inoculé avec les CMA, monté entre lame et lamelle dans une goutte de glycérol, a permis de prouver la présence des spores qui ont une morphologie à ceux inoculés du sol d'étude (figure 43).



Figure 43 : résultats de ré-isolement des spores des CMA

III- Discussion

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'effet de chaque souche fongique (CMA et *T.viride*) sur les paramètres de croissance des plantules de tomate (Super strain) et leur pouvoir de lutter contre le *F.oxysporum*.

Les symptômes engendrés sur les plantules de tomate correspondent donc à une situation de privation d'eau extrême liée à un envahissement massif des vaisseaux conducteurs dans lesquels *Fusarium oxysporum* sporule abondamment. Donc, nos résultats se rapprochent à ce qui démontrés par (Agrios, 2005), selon la plante, les symptômes sont très variables. Ils se manifestent par un éclaircissement de la nervure, nécrose, brunissement et la chlorose des feuilles suivie de leur dessèchement. En cas d'attaque sévère, la plupart des plantes flétrissent et meurent rapidement, tandis que les plantes les moins affectées deviennent chétives et non productives.

Du même, (Nelson et al., 1983) ont décrit les événements structuraux chez la plante infectée correspondant aux symptômes primaires (pourriture des racines et du collet), et seront responsables des symptômes secondaires de flétrissements de la partie aérienne de la plante. En effet, la présence de mycélium et des microconidies, éventuellement aggravées par les réponses locales de défenses de la plante (notamment avec la formation de tyloses, et la sécrétion de gommages), vont occasionner un blocage du transport d'eau dans les vaisseaux infectés.

Dans la majeure partie des cas, ces symptômes traduisent différents états d'évolution de la maladie qui, par l'intermédiaire d'une échelle de notation, conduisent à établir un indice de gravité (Summerell et Rugg, 19920).

Les effets des traitements sur la progression de la fusariose en plein champ montrent que la souche de *Trichoderma viride* a eu un effet antagoniste sur *F. oxysporum* ralentissant ainsi l'apparition et la progression de la fusariose. Cet effet antagoniste pourrait s'expliquer par une inhibition de la croissance mycélienne et un hyper-parasitisme de *F. oxysporum* par *Trichoderma viride*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Howell (2003).

De même, Harrier et Watson (2004) ont prouvé que les plantes inoculées avec des CMA sont plus résistantes aux attaques des champignons pathogènes. Selon Fortin et al., (2011), les CMA peuvent intervenir dans la rhizosphère ou dans les tissus racinaires pour protéger les racines contre les champignons pathogènes. Ainsi, dans la rhizosphère, les agents pathogènes sont confrontés à la compétition et à l'antagonisme; tandis que dans les tissus racinaires, les plantes agressées par les agents pathogènes réagissent en produisant des substances antibiotiques grâce aux CMA.

Les effets des traitements sur l'évolution du diamètre de croissance en hauteur, largeur et la biomasse racinaire et aérienne révèlent que les CMA et *T. viride* ont eu un effet synergique pour le contrôle de *F. oxysporum*.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'autres auteurs comme **Caron et al., (2002)**, **Souna et al., (2010)** ayant montré que *T. harzianum* a un pouvoir d'inhibition de la croissance mycélienne de *F. oxysporum* et permet au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et contrer ainsi l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Par ailleurs, **Mousain (1991)**, a montré que les souches de CMA ont de nombreuses vertus telles que l'amélioration de la surface absorbante du système racinaire, la sélectivité de l'absorption.

On a constaté que les plantes mycorhizées ont une teneur en eau plus élevée et une meilleure efficacité d'utilisation de l'eau. Ceci est en concordance avec les résultats qui ont été obtenus pour la teneur en eau dans la partie aérienne de la plante. Par contre, le fait d'avoir une augmentation du pourcentage d'eau dans le système racinaire en présence du CMA peut être dû à une augmentation de la conductivité hydraulique des racines (**Gamalero et al., 2004**).

Des résultats similaires ont montré que presque toutes les souches du *Trichoderma* sont parvenues à stimuler les paramètres de croissance des plants de tomate à des degrés variables. Cette stimulation s'est traduite essentiellement par une meilleure croissance axiale et une biomasse plus importante. La stimulation de la biomasse a été observée non seulement dans les parties aériennes, mais aussi dans les parties racinaires par rapport au témoin. Cette augmentation a été notée aussi bien pour le poids frais que pour le poids sec, ce qu'il s'agit d'un accroissement général du métabolisme et non seulement d'une absorption excessive d'eau (**Brunner et al., 2003**).

Dans cette étude la souche de *Trichoderma viride* inoculée a réduit la gravité des lésions sur les feuilles de tomate par rapport au témoin, ce qui confirme que cette réduction est en partie responsable de la stimulation de croissance chez ces plantes. Cependant, (**Harman et al., 2004**) ont cité des recherches récentes montrant que les effets du *Trichoderma* sur les plantes incluent l'induction d'une résistance systémique ou localisée. Les *Trichoderma* colonisent l'épiderme des racines et les couches corticales externes et libèrent des molécules bioactives. En conséquence, en plus de l'induction de la résistance chez les plantes, la croissance des plantes et l'approvisionnement en nutriments sont améliorés.

Nos résultats d'utilisation de *T. viride* afin de protéger les plantules de tomate sont plus proche à ceux qui ont démontré par **Keszler et al., (2000)** qui prouvé le pouvoir de lutte biologique de *T.*

viride contre les phytopathogènes de luzerne. De plus, il est connu comme agent d'amélioration de croissance chez la plupart des plantes.

Conclusion

Conclusion et perspectives

Ce travail avait pour objectif de contribuer à l'amélioration de la production de la tomate par l'usage des champignons mycorhiziens et la souche de *T. viride*. Pour cela, Notre étude visait à évaluer les effets des souches de CMA et de *T. viride* pour le contrôle de *F. oxysporum* sur la tomate à travers un essai en plein champ. L'essai de lutte *in-vivo* a permis de prouver l'efficacité des agents de lutte biologiques du fait qu'avec ces derniers la réduction de l'incidence de la maladie est de 50% avec *T. viride* pour les poquets (T4, T5 et T6), et elle atteint 50% avec les CMA pour chaque poquet de traitement. Par conséquent, les plantules de tomate testée ont récupéré leurs activités morphologiques, qui se traduit par la couleur verte, la longueur des parties aériennes et racinaires ainsi que, le poids frais et sec de différents organes des plantes. On a noté que l'incidence de la maladie avant traitement est de 50% et après traitement est de 25%. Ce qui prouve la gravité de *F. oxysporum*.

Alors, nous pouvons conclure de ces résultats que *Fusarium oxysporum* est responsable de la fusariose. En outre, les résultats obtenus ont montré l'effet de cet agent pathogène sur les plants de tomate inoculée, ce qui a entraîné une croissance réduite des plantes testées ainsi qu'un faible poids (frais et sec) dans différentes parties des plantes.

Cependant, pour être plus affirmatif, il serait plus intéressant de tester ces agents de biocontrol en plein champ afin de voir leur potentiel pour une utilisation en stratégie de lutte contre *F. oxysporum*. De plus, il est plus avantageux d'utiliser les CMA et *T. viride* et d'éviter ceux les produits de synthèse qui poseront des problèmes néfastes sur l'environnement et la santé humaine et animale. Les examens microscopiques des fragments racinaires de tomate ont révélé la présence de mycorhizes arbusculaires de type « *Glomus sp.* et *Acaulospora.* ». Ces champignons forment des structures caractéristiques des CMA : arbuscules, vésicules et spores intra-racinaires. Un mycélium septé a été observé. En outre, on a constaté que la fréquence de mycorhization (colonisation de système racinaire) est la plus élevée (68.75%) avec une intensité de mycorhization très importante de 26.75%. Les résultats obtenus ont révélé que les plantes amendées par les CMA et *T. viride* ont présenté une croissance optimale que ce soit au niveau des parties aériennes ou racinaires.

Par ailleurs, les résultats de ré-isolément ont confirmé la présence de *T. viride* au niveau de la zone rhizosphérique des racines, ainsi que la présence de l'agent pathogène dans le sol, les tiges et les feuilles des plants infectés.

En perspective, il serait également intéressant de poursuivre ce travail :

- En complétant la caractérisation des espèces fongiques testés par la biologie moléculaire ;
- En isolant et caractérisant d'autres espèces de CMA de la rhizosphère des vergers des régions arides et semis arides ;
- Et enfin, en inoculant des plantes annuelle ou des boutures des plantes perenne avec les CMA et *T. viride* que ce soit séparément ou en combinaison et suivre leur développement en pépinière et au champ.

Référence bibliographique

- Agrios, GN. 2005.** Plant pathology, The ED, Elsevier, London, 922 :45.
- Alexander, L.J., Tucker, C.M. 1945.** Physiology specialization in the tomato wilts fungus *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici*, J. Agr. Res. 70: 303-313.
- Anonyme C, 1999.** Périodique de la direction des statistiques agricoles et des enquêtes économiques, Statistique agricole, Ed Ministère de l'Agriculture de la pêche.
- Anonyme I. 2010.** Caractéristiques et importance de la tomate. INRA, 2-8p.
- Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1981.** Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease, In: *Fusarium: Diseases, Biology and taxonomy*, Pennsylvania State University Press, University park, Pennsylvania. 392-399p.
- Auger.M. 2001.** Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza* 11 : 3-42.
- Azcon-Aguilar, C. et J.M. Barea. 1996.** Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens — an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza* 6 : 457–464.
- Benhamou N., Rey P., Cherif M., Hockenhul 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. radicle-lycopersici*. *Phytopathology*, 87, 108-121.
- Benitez, T., Rincon, A.M., Limon, M.C., 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains, *Int Microbiol*, 7 :249-260.
- Besserer, A., Becard, G., Jauneau, A., Roux, C. and Sejalon-Delmas, N., 2008.** GR24, a synthetic analogue of strigolactones, stimulates the mitosis and growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea* by boosting its energy metabolism, *Plant Physiol*, 148: 402-413.
- Bissett, J. 1991.** A revision of the genus *Trichoderma*, infrageneric classification, *Canadian Journal of Botany* 69: 2357-2372.
- Blancard D., 1988.** Les maladies de la tomate, observer, identifier, lutter. Edition : INRA. Paris. 210p.

- Blancard D., 2009.** Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition : Quæ, Paris, 691p.
- Bonanomi G., Vinale F., Scala F., 2009.** The Role of Natural Products in Plant- Microbe Interactions, **A. E. Osbourn and V. Ianzotti** (eds.), Plant-derived Natural Products, 301-320p.
- Bonfante P., Balestrini R., Genre A., Lanfranco L., 2009.** Establishment and Functioning of Arbuscular Mycorrhizas, *The Mycota* VH, Deising (Ed) 2nd Edition. Plant Relationships, .259-274p.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2^{ème} édition. Masson, Collection Biotechnologies. 34 428p.
- Bouznad, Z., Solh, M., Labdi, M., Rouibah, M. and Tebbal, H. 1990.** Preliminary results on the causes of wilt and root rot of chickpea in Algeria, in the 8th congress of the Mediterranean phytopathological union, Agadir-Morocco, 345-346p.
- Brunner K., Peterbauer C.K., Mach R. I., Lorito M., Zeilinger S., Kubicek C. P., 2003.** The Nagl N-acetylglucosaminidase of *Trichoderma viride* is essential for chitinase induction by chitin and of major relevance to biocontrol *Current, Genetics*, 43 : 289-295.
- Bulit J., 1978.** Utilisation des antagonismes microbiens, *Bull. Tech, Inf. Min. Agric.*, 332, 513-517.
- Burnett J.H. 1984.** Aspects of *Fusarium* genetics, in *The Applied Mycology of Fusarium* (Moss M. O. & Smith J.E., eds.), Cambridge University Press. Cambridge 39-69p.
- Caron, J., Laverdière, L., Thibodeau, P. & Bélanger, R. 2002.** Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contrecinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au « Québec. *Phytoprotection*, 83(2), 73–87. <https://> », la société de protection des plantes du Québec, 2002.
- Causse M., Caranta C., Saliba-Colombani V., Moretti A., Damidaux R., Rousselle P., 2000.** Valorisation des ressources génétiques de la tomate par l'utilisation de marqueurs moléculaires, *cahiers d'études et de recherches francophones/Agricultures*, INRA, Frances, Vol 9, 3, 197-210.

Céspedes MC., Cardenas ME., Vargas AM., Rojas A., Morales JG., Jiménez P., Bernal AJ. et Restrepo S., 2013. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30 (2) :81-87p.

Chaux C.L. et Foury C.L., 1994. Cultures légumières et maraichères. Tome III : Légumineuses potagères, légumes fruit .Tec et Doc Lavoisier, Paris. 563p.

Chibane A., 1999 – Tomate sous serre, Bulletin : transféré de technologie en agriculture, no57 Ed. P.N.T.T.A. Rabat.

Claude, MB., et Yves, T.1999. Technologie des légumes, ed, TEC et DOC, Paris, 243p.

Cronquist A., 1981 - An integrated system of classification of following plants, Colombia University, 125p.

Culter H.G., Jacyno J.M., Harwood J.S., Dulik D., Goodrich P.D. and Roberts R.G., 1993. Botcinolide: a biologically active natural product from *Botrytis cinerea*. *Biosci Biotechnol Biochem* 57:980-1982.

Dalpé Y., 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes mais non une panacée, *Phytoprotection*, 86, 53-58-59p.

Davet P., 1979. Technique pour l'analyse des populations de *Trichoderma* et de *Gliocladium virens* dans le sol, *Ann Phytopathol* 11, 529-533.

Davet, P. et Rouxel, F., 1997. Detection et isolement des champignons du sol. Techniques et pratiques. ED. INRA. Paris.

Davis R. M., Aegerter B. J., 2010. University of California Integrated Pest Management (UC IPM) Pest Management Guidelines: Onion/Garlic., California, USA, 30 p.

Dégrément, 2009. Un insecte à la page la mineuse sud américain de la tomate, Fiche technique, Tunisie, 2p.

Dore C. et Varoqaux F., 2006. Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées, Ed, INRA, Paris. 698p.

Druzhizinina, I.S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B.A., Kenerley, C.M., Monte, E., Mukherjee, P.K., Zeilingre, S., Grigoriev, I.V., and Kubicek, C.P., 2011. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success, *Nat Rev Microbiol*, 9:749-759.

Dubos B., Ricard J. L., 1974. Curative treatment of peach trees against silver leaf disease (*Stereum purpurem*) with *Trichoderma viride* preparations, *Plant Dis. Rep.*, 58, 147-150.

Dubost, D., Hetner, P., 1968. La lutte contre le Bayoud, problèmes et méthodes. Service de la botanique, Faculté des sciences, Université d'Alger, 16 p.

El akel M., Chouibani M. et Kaack H. (2001). Protection intégrée en culture de tomate *Integrated Pest Management Review*. 1 :15-29.

Elad, Y., I. Chet et J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum* : A biocontrol agent effective against *Sclerotiniaro /fs/ Vand Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121p.

Enkerli J, Georg F, Boller T, 1999. The Enzymatic Activity of Fungal Xylanase Is Not Necessary for Its Elicitor Activity. *Plant Physiology*, 121, 391–397.

FAO., 1988. Culture protégées en climat méditerranéen : Etude FAO production végétale et protection des plantes, Edition : FAO .318p.

Fortin A., Plenchette C., PichY., 2011. Les mycorhizes. La nouvelle révolution verte, Edition Multimondes et Qu AE.

Gamalero, E., A. Trotta, N. Massa, A. Copetta, M.,G. Martinotti et G. Berta., 2004. Impact of two fluoresce entpseudo monads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and acquisition. *Mycorrhiza*14: 185-192.

Gams W et Nirenberg H. I., 1989. A contribution to the genetic definition *Fusarium*. *Mycotaxon* 35 :407-416.

Gams W. and Bissett J., 1998. Morphology and identification of *Trichoderma sp. Trichoderma & Gliocladium*, Volume1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. :http://nt.ars.grin.gov/taxa_descriptions/keys/Genusoverviw.cfm).

Gausсен H., Lefoy J., Ozenda P., 1982. Précis de Botanique. 2^{ème} Ed. Masson, Paris.1972 p.

- Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D.G., 2005.** Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell.*, 17:3489-3499.
- Gerdemann JW., Nicholson TH., 1963.** Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46: 235-244.
- Giovannetti, M. and V. Gianinazzi-Pearson. 1994.** Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.*, 98: 705-715.
- Hajlaoui M.R., Hamza N., Gargouri S. & Guermech A., 2001.** Apparition en Tunisie de *Fusarium oxysporum f. sp. radidis lycopersici*, agent de la pourriture des racines et du collet de la tomate. *OEPP/EPPO Bulletin*, 31, 505-507.
- Harman, G. E., Taylor, G. and Starz, T. E. 1989.** Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatment. *Plant Disease* 73: 631- 637.
- Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet et M. Lorito. 2004.** *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43-56.
- Haro H., 2011.** Effet d'inoculum de champignons mycorrhiziens arbusculaires sur la productivité du niébé *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Mémoire de DEA, Option Biotechnologie Microbienne et Cellulaire. Université d'Ouagadougou. Burkina Faso. 82p.
- Harrier, L.A. et C.A. Watson. 2004.** The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems, *Pest Manag. Sci.* 60 :149-157.
- Hoagland D.R., Arnon D.I. 1950.** The water-culture method for growing plants without soil, California Agricultural Experiment Station, Circular 347.
- Howell, C.R., 2003.** Mechanism employed by *Trichoderma* species the biological control of plant diseases : the history and evolution of current concepts. *Plant Diseases* 87 : 4-10p.
- Javot H., Penmetsa R.V., Terzagui N., Cook D.R. & Harrison M.J. 2007.** *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104: 1720-1725.

Jeffries P., Boyer L.R., Rice P., Ray J.N., Dodd J. C., 2007. Ultrastructure of spore development in *scutellospora heterogama*. Mycorrhiza, 17:395-403.

Judd, 2002. Botanique Systématique Une Perspective Phylogénétique De Boeck Université.

Kabir, Z., I.P. O'Halloran, J.W. Fyleset C. Hamel. 1997. Seasonal changes of arbuscular mycorrhizal fungi as affected by tillage practices and fertilization: hyphal density and mycorrhizal root colonization. Plant Soil 192: 285-293.

Keszler A., Forgacs E., Kotail., Vizcaino J.A., Monte E., Garcia-Acha I., 2000. Separation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atro viride* by solidphase extraction and gas chromatography-mass spectroscopy. J. chromatograph. Sci., 38: 421-424.

Kinet B., 1985. Contrôle du développement de l'inflorescence de la tomate par les facteurs de l'environnement et les régulateurs de croissance. Rev, Hort, n°200. 30-36p.

Kolev N., 1976. Les cultures maraichères en Algérie : Légumes fruits, Ed, Ministère de l'agriculture et de la réforme agraire, T.1, 207p.

Kubicek, C.P; Bissett, J.; Druzhinina, I., Kullinig-Gradinger, C. et Szakacs, G., 2003. Genetic and métabolic diversity of *Trichoderma* sp.; a case study on Southeast Asian isolates. Fungal Genet. Biol., 38 (3): 310-319.

Lambert L., 2006. Lutte anti insectes appliquée aux tomates de serre, MAPAQ, (QC). Profil de la culture des tomates de serre au Canada Programme de réduction des risques liés aux pesticides Centre pour la lutte antiparasitaire. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Aout 2006.

Landa, B. B., Navas-Cortés, J. A. and Jiménez-Díaz, R. M. 2004. Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. Phytopathology 94: 946-960.

Laumonier R., 1979. Culture légumières et maraichères, tome III. Edition : Bailliere. Paris. 279p.

Link, H.F. 1809. Observationes in ordines plantarum naturalis, Dissetatio I. Mag. Ges. Natur f. Freunde, Berlin 3: 3-42.

- Liu S., Baker R., 1980.** Mechanisms of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70, 404-412.
- Madr, 2009.** (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), Direction des statistiques. 21p.
- Massiaen C.M et Cassini R, 1981.** Taxonomy of *Fusarium*. In *Fusarium; Disease, Biology and Taxonomy*, Pennsylvania State University Park. 427-445p.
- Mcgovern, R.J., L.E. Datnoff et L. Tripp. 1992.** Effect of mixed infection and irrigation method on colonization of tomato roots by *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradix*. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 105 : 361-363.
- Mousain D., 1991.** Ectomycorhization et tolérance des arbres à la sécheresse. Dans : *Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides*. Groupe d'Etude de l'Arbre, Ed. John Libbey Eurotext, Paris, pp. 167-174.
- Mycobank, 2014.** Fungal Databases. Nomenclature and Species Bank. International Mycological
- Armstrong G.M., Armstrong J.K. 1981.** Formae specialis and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease. In: *Fusarium: Diseases, Biology and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University park, Pennsylvania. 392-399p.
- Naika, S., Van Dam, B., Florijn, A., 2005.** La culture de la tomate : production transformation et commercialisation. Edition Agromisa Foundation, coll. Agrodok, Wageningen. 150p.
- Nelson P.E., Toussoun T.A. et Marasas W.F.O., 1983.** *Fusarium* species. An illustrated manual for identification, The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
- Nguyen M. L. and S. J. Schwartz, 1998.** Lycopene stability during food processing. *Proc-Soc-Exp-Biol-Med* 218(2): 101-105p.
- Ocamb C.M et Juzwik J, 1995.** *Fusarium* species associated with rhizosphere soil and diseased roots of white pine seedlings and associated nursery soils. *Canadian Journal of Plant pathology* 17,325-330.
- Ozbay N. & Newman S.E., 2004.** *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal*, 3, 9-18.

Palenzuela J., Ferrol N., Boller T., Azcon-Aguillar C., Oehl F., 2008. *Otospora bareai*, a new fungal species in the Glomeromycetes from a dolomitic shrub land in Sierra de Baza National Park (Granada, Spain). *Mycologia*, 100:296-305.

Phillips JM, Hayman DS., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158–160.

Pinochet J., Calvet C., Campruby A. et Fernandez C., 1996. Interactions between migratory endoparasitic nematodes and arbuscular mycorrhizal fungi in perennial crops: a review. *Plant Soil* 185: 183–190.

Pozo M.J., Cordier C., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S., Barea J.M. & Azcon-Aguilar C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *Journal of experimental botany*, 53: 525-534.

Ranc N., 2010. Analyse de polymorphisme moléculaire de gènes des composantes de la qualité des fruits dans les ressources génétiques sauvages et cultivées de tomate ; recherche d'association gènes/QLT. Thèse de doctorat en sciences. Ecoles Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, France. 275p.

Rey Y. et Costes C., 1965. La physiologie de la tomate, étude bibliographique. Ed. INRA .111p.

Rivera-Becerril F., Calantzis C., Turnau K., Caussanel J-P., Belinov A.A., Gianinazzi S., Strasser R.J. & Gianinazzi-Pearson V. 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of experimental botany*, 53: 1177-1185.

Ruiz-Lozano J.M., Azcon R., Gomez M., 1995. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza* 12: 185-190.

Schubler A., Schwarzott D., Walker C., 2001. A new fungal phylum, the *Glomero mycota*: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105:1413-1421.

Shankara N., Jeude J. V. L., Goffau M., Hilmi M., Dam B. V., 2005. La culture de la tomate production, transformation et commercialisation. Ed. Prota, 105p.

Singh, R., A. Adholeya et K.G. Mukerji. 2000. Mycorrhiza in control of soil-borne pathogens. Pages 173-196 in K. G. Mukerji, B.P. Chamola et J. Singh (éds.), Mycorrhizal biology. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Smith S.E. & Read D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, third ed. Academic Press, New York.

Smith S.N.; Jeffers D., Devay J.E., 1965. Effect of glucose and biotin on the growth and sporulation of *Fusarium spp.* Especially pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*.

Smith, S.E. et V. Gianinazzi-Pearson. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular–arbuscular mycorrhizal plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39 : 221–244.

Snoussi S., 2010. Rapport de mission étude de base sur la tomate. Edition : GTFS/REM/070/ITA. Algérie. 52p.

Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L. & Liu X., 2004, Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. Crop Protection, 23, 243-247.

Souna F., Chafi A., Chakroune K., Himri I., Bouakka M., Hakkou A., 2010. Effect of mycorrhization and compost on the growth and the protection of date palm (*Phoenix dactylifera L*) against Bayoud disease. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture , 4(2) : 260-267.

Strandberg J.O., 1992. *Alternaria speices* that attack vegetable crops : biology and options for disease management : In : **Chelkowski J, Visconti A**(eds) *Alternaria* biology, plant disease and metabolites. Elsevier, Amsterdam. 175-208p.

Summerell, B. A., Rugg, C. A. 1992. Vascular wilt of *helichrysum* species caused by *Fusarium oxysporum*. Australasian Plant Pathology 21: 18-19.

Trottin-Caudal Y., 2011. Maitrise de la protection intégrée Tomate sous serre et abris. Edition : Ctifl. Paris. 282p.

Vakalounakis D. J., Fragkiadakis G. A., 1999. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. Phytopathology, 89, 161-168.

Viron, N., 2010. Identification et validation de nouveaux gènes candidats impliqués dans la régulation du développement du fruit de la tomate. Thèse de doctorat en biologie végétal. Université de Bordeaux. 1. 140p.

Walker C., Schubler A., 2004. Nomenclatural clarifications and new in the *Glomero mycota*. Mycol. Res., 108:979-982.

Wehner J., Antunes P.M., Powell J.R., Mazukatow J. & Rillig M.C. 2010. Plant pathogen protection by arbuscular mycorrhizas: a role for fungal diversity? Pedologia 53: 197-201.

Whipps J.M. 2004. Prospects and limitations for mycorrhizas in biocontrol of root pathogens. Canadian journal of botany, 82: 1198-1227.

Woo SL., Zoina A., Del Sorbo G., Lorito M., Nanni B., Sciala F., Noveiello C. (1996). Characterization of *Fusarium oxysporum f. sp. Phaseoli* by pathogenicity tests, VCGs, RFLPs, and RAPD. Phytopathology 86., 966–972p.

Yedidia, I., N. Benhamou, Y. Kapulniket I. Chet. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. Plant Physiology and Biochemistry, 38: 863-873.

Site utilize

<http://invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions>

Annexe 01



Figure 44 : Aspect morphologique des plantules de tomate (Super strain) testées avant infection



Figure 45 : Les plantules de tomate (Super strain) après quinze (15) jours d'infection



Figure 46 : Témoins des plantules de tomate (Super strain) testées



Test après infection *F. oxysporium* par *T. viride*



Test avant infection *F. oxysporium* par mycorrhizes



Test combinaison

Figure 47 : Comparaison entre l'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules inoculées (T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection

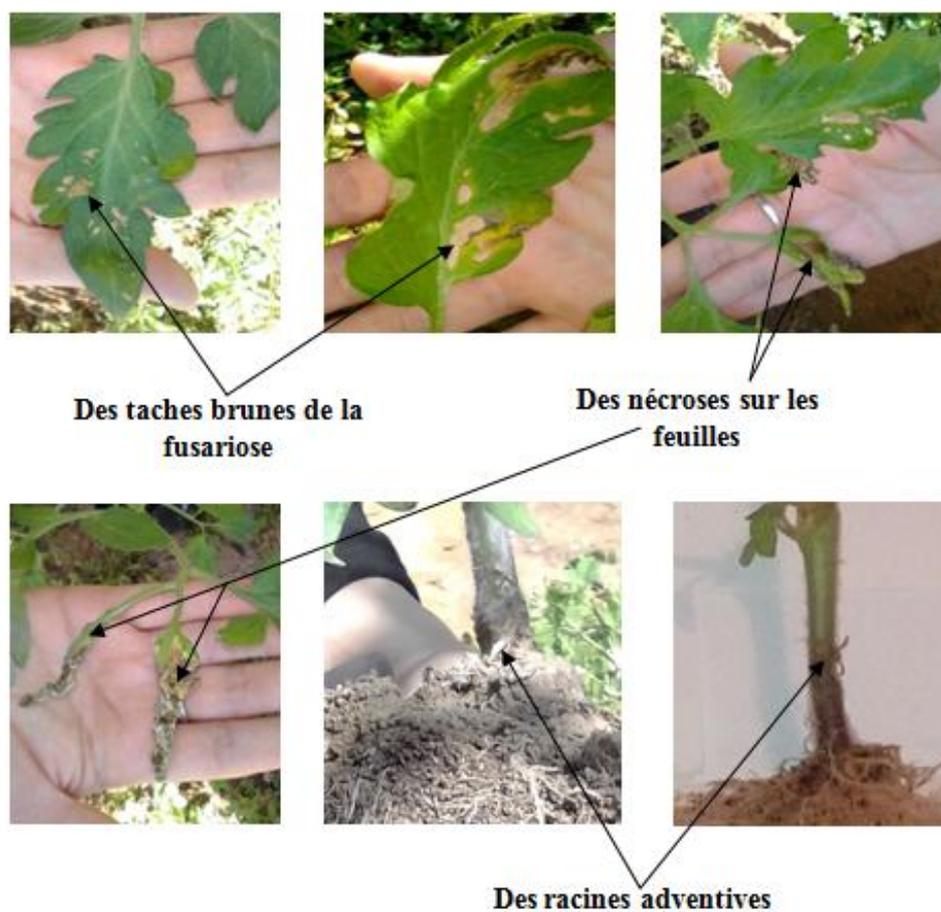


Figure 48 : Diversité des symptômes de la maladie de fusariose (T1, T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection



Figure 49 : Aspect général des plantules de tomate (Super strain) T4 après vingt deux (22) jours de traitement et T5 et T6 après infection



Figure 50 : Témoins des plantules de tomate (Super strain) après vingt deux (22) jours de traitement



Figure 51 : L'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules de tomate (Super strain) testées après vingt deux (22) jours de traitement



**Racines du témoin
sain**



**Racines du témoin
*T. viride***



**Racines du témoin
mycorhize**

Figure 52 : Comparaison des racines des plantules de tomate (Super strain) T0 et T2 après (22) jours de traitement

Annexe 02

Tableau 7 : Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après (15) jours de l'infection (poquets infectés par *F. oxysporum* (T1, T4 et T5)

Inoculation	Les symptômes
T0 (Témoin négatif sain)	Une taille normale et une couleur vert.
T1 (Témoin positif <i>Fusarium oxysporum</i>)	Les plantes sont de faible poids avec une petite taille de tige mince avec une couleur rouge foncé au niveau du collet. le 1 ^{er} symptôme de la maladie de fusariose se manifeste par un jaunissement des feuilles du bas, on a révélé que leurs surfaces sont réduites.
T2 (témoin de CMA)	Les plantes sont bien développées avec des tiges normales les feuilles sont vert foncé.
T3 (témoin de <i>T. viride</i>)	Les plantes sont de taille moyenne avec une couleur vert.
T4 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par <i>T. viride</i> seul)	stade de 6 feuilles, la tige de taille moyenne, les symptômes de la maladie apparaissent après une semaine d'infection et progressent avec le temps, qui se manifeste par des taches marron. Les tissus dessèchent après quelques jours, on observe un enroulement des feuilles infectées ; les limbes de cette dernière se mottent, la distribution des symptômes est systémique, la formation des racines adventives sur la surface du sol.
T5 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par CMA seul)	stade de 7 feuilles, la tige à une taille moyenne, la surface foliaire est normale, les symptômes apparaissent au 1 ^{er} lieu sur les feuilles de bas qui se manifestent par des taches nécrosées brun foncé, les nervures centrales prennent une couleur rouge. La formation de racines adventives.
T6 (test de combinaison CMA et <i>T. viride</i>)	stade de 8 feuilles, la taille de tige moyenne la largeur des feuilles est moyenne, les symptômes de la maladie apparaissent sur les feuilles de bas, les taches sont claires.

Tableau 8 : Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après (22) jours de traitement poquets traité par CMA et *T. viride* T2, T3, T4, T5 et T6)

Traitements	Les symptômes
T0 (Témoin négatif sain)	Stade de floraison, la tige de taille normale les feuilles sont larges avec un couleur vert.
T1 (Témoin positif <i>Fusarium oxysporum</i>)	Stade de 5 feuilles, la tige est mince, des taches légères avec un couleur jaune sur la surface des feuilles du bas sont noircissent et mort. Un nécrose au niveau du collet prendre un couleur rouge avec un affaiblissement des feuillages, la surface des feuilles est petit.
T2 (témoin de CMA)	Stade de floraison les plants prenants un couleur fonce, les feuilles sont très larges. La tige épaisse avec une ramification aucune ne signes de la maladie.
T3 (témoin de <i>T. viride</i>)	Stade de floraison absent des symptômes de la maladie. Les plants sont de taille normale, la surface des feuilles est large.
T4 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par <i>T. viride</i> seul)	Stade de floraison les plantes avec de tige et feuille moyenne, on à constaté une réduction de la maladie et la disparition des symptômes.
T5 (test d'infection <i>F. oxysporum</i> traité par CMA seul)	Stade de floraison la tige est épaisse, les feuilles sont généralement larges, on à constaté que la maladie est réduite et la régression des symptômes.
T6 (test de combinaison CMA et <i>Trichoderma viride</i>)	Stade de floraison la tige avec une épaisseur moyenne, les feuilles sont larges, on à constaté que la maladie est réduite.

Tableau 9 : Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

	longueur de la tige	Longueur des racines	Longueur des feuilles	Largeurs des feuilles	N° des feuilles	N° des folioles
T0 (cm)	11	19,5	10	2	9	9
T1 (cm)	6,5	9	8	1,5	6	7
T2 (cm)	12	17	18.5	5	8	11
T3 (cm)	11,5	14	15	2,5	8	8
T4 (cm)	8,3	9,5	10,5	2	5	6
T5 (cm)	7,5	9	9	2,5	5	7
T6 (cm)	17,5	25	20	5,6	9	11

Tableau 10 : Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection

	Poids frais des racines	Poids frais des parties aériens	poids sec des racines	Poids sec des parties aériens
T0 (g)	0,9	6,2	0,13	1,21
T1 (g)	0,2	3,5	0,02	0,38
T2 (g)	3,29	19,8	0,80	5,95
T3 (g)	1,2	5,1	0,12	0,65
T4 (g)	0,2	1,9	0,02	0,21
T5 (g)	0,2	2,9	0,03	0,35
T6 (g)	3,5	20,6	0,83	6,06

Tableau 11 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection

	(MS%) des Partie aérienne	(E%) des Partie aérienne		(MS%) des parties racinaires	(E%) des parties racinaires
T0	19,51%	80,49%	T0	14,44%	85,56%
T1	10,85%	89,15%	T1	10%	90%
T2	30,05%	69,95%	T2	24,31%	75,69%
T3	12,74%	87,26%	T3	10%	90%
T4	11,05%	88,95%	T4	10%	90%
T5	12,06%	87,94%	T5	15%	85%
T6	29,41%	70,59%	T6	23,71%	76,29%

Tableau 12 : Paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement

	longueur de la tige	Longueur des racines	Longueur des feuilles	Largeurs des feuilles	N° des feuilles	N° des folioles
T0 (cm)	28	18,2	25,8	14,5	10	9
T1 (cm)	18,1	16,8	15,5	9,7	7	7
T2 (cm)	47,9	27,2	33,8	22	11	10
T3 (cm)	36,8	24,9	26,1	18,4	10	10
T4 (cm)	43,6	25	23,4	22	11	9
T5 (cm)	47,2	35,2	32,2	24,2	11	9
T6 (cm)	48	37,4	34,5	24,7	11	11

Tableau 13 : Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement

	Poids frais des racines	Poids frais des parties aériens	poids sec des racines	Poids sec des parties aériens
T0 (g)	5,13	20,99	1,18	12,09
T1 (g)	0,58	6,38	0,1	1,96
T2 (g)	16,73	57,71	6,38	27,46
T3 (g)	11,48	39,47	3,01	17,38
T4 (g)	14,16	46,21	4,73	21,25
T5 (g)	18,5	76,42	7,04	38,2
T6 (g)	19,6	76,83	8,28	38,49

Tableau 14 : Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement

	(MS%) des Partie aérienne	(E%) des Partie aérienne		(MS%) des Partie aérienne	(E%) des Partie aérienne
T0	61,45%	38,55%	T0	23%	77%
T1	30,72%	62,28%	T1	17,24%	82,76%
T2	47,42%	52,58%	T2	40,82%	59,18%
T3	44,03%	55,97%	T3	26,21%	73,79%
T4	45,98%	54,07%	T4	33,40%	66,60%
T5	49,98%	50,02%	T5	38,05%	61,95%
T6	50,36%	49,64%	T6	42,24%	57,76%

Tableau 15 : l'incidence et la réduction de la maladie après (22) jours de traitement

	Incidence de la maladie après (15) jours d'infection	Incidence de la maladie après (22) jours de traitement	Réduction de la maladie
T1	75 %	100%	/
T4	50 %	25%	50 %
T5	50 %	25%	50 %
T6	50 %	25%	50 %

Liste des annexes

N°	Titre	Page
Annexe 1		
44	Aspect morphologique des plantules de tomate (Super strain) testées avant infection	I
45	Les plantules de tomate (Super strain) après quinze (15) jours d'infection	I
46	Témoins des plantules de tomate (Super strain) testées	II
47	Comparaison entre l'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules inoculées (T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection	II
48	Diversité des symptômes de la maladie de fusariose (T1, T4, T5 et T6) après quinze (15) jours d'infection	III
49	Aspect général des plantules de tomate (Super strain) T4 après vingt deux (22) jours de traitement et T5 et T6 après infection	III
50	Témoins des plantules de tomate (Super strain) après vingt deux (22) jours de traitement	IV
51	L'aspect morphologique et les paramètres de croissance des plantules de tomate (Super strain) testées après vingt deux (22) jours de traitement	IV
52	Comparaison des racines des plantules de tomate (Super strain) T0 et T2 après (22) jours de traitement	V
Annexe 2		
7	Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après 15 jours de l'infection (poquets infectés par <i>F. oxysporum</i> (T1, T4 et T5)	VI
8	Les symptômes qui apparaissent sur les plantes après 22 jours de traitement poquets traité par CMA et <i>T. viride</i> T2, T3, T4, T5 et T6)	VII
9	Paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	VIII
10	Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après quinze (15) jours d'infection	VIII
11	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après quinze (15) jours d'infection	VIII
12	Paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22)	IX

	jours de traitement	
13	Evaluation du poids frais et sec des paramètres de croissance des plantules de tomate après vingt deux (22) jours de traitement	IX
14	Estimation de la matière sèche et le pourcentage en eau des parties aériennes et racinaires après vingt deux (22) jours de traitement	IX
15	l'incidence et la réduction de la maladie après (22) jours de traitement	X

<p>Préparer par</p> <p>M^{lle} Boutebakh Fatima Zohra</p>	<p>Membres de jury</p> <p>Président : Mr Chahredine S.</p> <p>Examineur : Mr Rouibah M.</p> <p>Encadrant : Mme Bouziane Z.</p>
<p>Thème : Contribution à l'étude de l'aptitude des champignons mycorhiziens arbusculaires et de <i>T. viride</i> à protéger les plantules de tomate variété (Super strain) contre <i>F. oxysporum</i> durant les premiers stades de leur développement</p>	
<p>Résumé</p> <p>C'est pour contribuer à limiter l'utilisation des produits chimiques par le développement des méthodes de lutte biologique que cette étude a été réalisée sur l'utilisation des souches des champignons mycorhiziens arbusculaires (<i>Acaulospora sp.</i> et <i>Glomus sp.</i>) et de <i>Trichoderma viride</i> comme moyen de contrôle de <i>F. oxysporum</i>. Les résultats ont révélé que <i>F. oxysporum</i> est un agent pathogène pour les plants de tomate (Super strain), en provoquant la fusariose vasculaire de cet hôte, qui se manifeste par un jaunissement, flétrissement et nécrose des parties aériennes, et une réduction des paramètres de croissance chez les plantes. Par conséquent, l'incidence de la maladie après (15) jours d'infection et après (22) jours de traitement est de 50% et 25% respectivement pour chaque poquet (T4, T5 et T6). Alors que, les résultats ont montré que les CMA et la souche de <i>T. viride</i> se sont associées aux racines des plants de tomate. Ils ont réduit le taux de l'incidence de la maladie de fusariose 50% pour chaque poquet. De plus, ils améliorent la croissance des plantules de tomate (Super strain) qui se manifeste par un système racinaire vigoureux et un développement très important des parties aériennes. Ces résultats indiquent que les champignons mycorhiziens arbusculaires et <i>T. viride</i> en combinaison ou séparément peuvent contribuer efficacement à la gestion écologique de champignon tellurique qui provoque des maladies vasculaire pour les plantules de tomate, et constituent de ce fait une alternative à l'utilisation des agents de biocontrol.</p> <p>Mots clés : <i>F. oxysporum</i>, tomate, mycorhizes, <i>T. viride</i>, compétition.</p>	
<p>Abstract</p> <p>To contribute for avoiding the usage of chemical products by developing biological control methods so that, this study was carried out on the use of strains of arbuscular mycorrhizal fungi (<i>Acaulospora sp.</i> and <i>Glomus sp.</i>) and <i>Trichoderma viride</i> as a control method for <i>F. oxysporum</i>. The results revealed that <i>F. oxysporum</i> is a pathogen for tomato plants (Super strain), causing vascular disease of this host, which manifests by yellowing, wilting and necrosis of the aerial parts, and a reduction in growth parameters in plants. Therefore, the incidence of the disease after 15 days plants attack and 22 days after cure is 50% and the second results is 25% particularity (T4, T5 and T6). While, the results showed that CMA and the <i>T. viride</i> strain associated with the roots of tomato plants. They have reduced the incidence rate of fusariose disease by 50%. In addition, they improve the growth of tomato plants, which is manifested by a vigorous root system and very important development of the aerial parts. These results indicate that arbuscular mycorrhizal fungi and <i>T. viride</i> in combination or separately can effectively contribute to the ecological management of soil fungi that cause vascular disease in tomato plants, and thus provide an alternative to the use of biocontrol agents.</p> <p>Key words: <i>F. oxysporum</i>, tomato, mycorrhizae, <i>T. viride</i>, competition.</p>	
<p>المساهمة في الحد من استخدام المواد الكيميائية تطوير طرق مكافحة البيولوجية، و على هذا الأساس أجريت هذه الدراسة</p> <p>سلالات فطرية من فطريات الميكوريزا (<i>Acaulospora sp.</i>) (<i>Glomus sp.</i>) <i>Trichoderma viride</i> كوسيلة مكافحة ضد <i>F. oxysporum</i>. أظهرت النتائج أن <i>F. oxysporum</i> يعتبر لهذا ، والذي يتجلى في اصفرار ذبول ونخر الأجزاء الهوائية، وانخفاض في معايير النمو لهذه الـ</p> <p>أظهرت النتائج أن <i>F. oxysporum</i> يعتبر لهذا ، والذي يتجلى في اصفرار ذبول ونخر الأجزاء الهوائية، وانخفاض في معايير النمو لهذه الـ</p> <p>22 يوم من العلاج بـ 50 25 (T4 T5 T6) . بينما أظهرت النتائج CMA Fusariose 50 لكل عينة مهم للأجزاء الهوائية. تشير هذه النتائج إلى أن الفطريات الأوعية <i>T. viride</i> حيث انخفض الميكوريزا <i>T. viride</i> أو بشكل منفصل يمكن أن تسد هم بشكل فعال في لمكافحة الحيوية.</p> <p>الكلمات المفتاحية : <i>F. oxysporum</i>، الطماطم ، ، الميكوريزا ، <i>T. viride</i> .</p>	

