

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de L'enseignement Supérieur de la Recherche Scientifique



mb. 22/05



UNIVERSITE DE JIJEL  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT de Biochimie - Microbiologie

## Mémoire

de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme  
des études supérieures (D.E.S) en biologie  
option : Microbiologie

## Thème

Etude expérimentale sur le  
« Champignon *Verticillium dahlia* »

### Membres de jury :

- Président : BENFRIDJA LIELA
- Examinateur : BOUHOUS MOSTAPHA
- Promoteur : KHENNOUF HANANE



### Réalisé par :

- BELATRECHE HOUDA
- SAHRAOUI KARIMA
- YAHIAOUI GHANIA

Promotion : 2004/ 2005



جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
رقم الجرد : 643



MB 22/05

UNIVERSITE DE JIJEL  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT de Biochimie - Microbiologie

02/02

Mémoire



de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme  
des études supérieures (D.E.S) en biologie  
option : Microbiologie

Thème



Etude expérimentale sur le  
Champignon "Verticillium dahlia"

Membres de jury :

Réalisé par :

- Président : BENFRIDJA LILA
- Examineur : BOUHOUS MOSTAPHA
- Promoteur : KHENNOUF HANANE

- BELATRECHE HOUDA
- SAHRAOUI KARIMA
- YAHIAOUI GHANIA



Promotion : 2004/2005

# Remerciement

*Nous remercions dieu de tout puissant , qui nous a donné du courage et de la volonté, d'avoir réussi dans nos études .*

*Nous retenons à remercier toute personne qui a contribué de près ou loin à la réalisation de ce mémoire plus particulièrement :*

*Notre encadreur M<sup>ELLE</sup> KHENOUF HANANE qui nous a proposé ce sujet de recherche , et qui nous a encadré et soutenu par ses conseils, sa compréhension ,sa gentillesse, ses encouragements .*

*Nous tenons aussi à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Sans passer à l'ombre l'aide des responsables du laboratoire de biologie.*

*En fin notre respect à tous les enseignements de l'institut de biologie de l'université de jijel.*



# SOMMAIRE

Introduction

## *Partie théorique*

I- Phytopathologie .....	1
1-Facteurs environnementaux néfastes : .....	1
2- Nématodes : .....	2
3- Phytopathologies virales : .....	3
4- Phytopathologies d'origine bactérienne : .....	4
5- Champignons destructeurs : .....	4
II – La flétrissure Verticillienne : .....	6
1 – L'agent causal : .....	6
1-1- Position systématique : .....	6
1-2- Caractères physiologiques : .....	7
1-3- Caractères morphologiques : .....	7
1-3-1- Le mycélium : .....	8
1-3-2- Les conidies : .....	8
1-3-3- Les sclérotés : .....	8
1-4- Caractères biologiques : .....	10
1-4-1- La température et le pH : .....	10
1-4-2- La lumière : .....	10
1-4-3- L'humidité relative : .....	11
1-4-4- Nature du sol : .....	11
1-4-5- Cycle de vie : .....	11
2-Symptomatologie : .....	12
3-Mécanisme de pathogénicité : .....	13
III- Les plantes attaquées par le <i>Verticillium dahlia</i> et la nature des dégâts : ..	14
1- Conditions de développement : .....	14
2- Nature des dégâts : .....	15

3 - La lutte : .....	18
3 -1- Méthode préventive : .....	18
3-2- Méthode Biologique : .....	18
3-3- Méthode physique : .....	19
3-4- Méthode chimique : .....	20
<b>IV- Principales techniques d'isolement et de purification :</b>	
<b>utilisées en phytopathologie : .....</b>	<b>21</b>
1- L'isolement à partir du sol : .....	21
1-1- Méthode de plantation directe : .....	22
1-2- Méthode de dilution : .....	22
1-3- Méthode de lavage : .....	23
2- L'isolement à partir d'une plante : .....	23
3- Repiquage des souches : .....	24
4- technique d'inoculation : .....	24
5- Les conditions de culture : .....	24
6- Les milieux d'isolement : .....	25

### *Partie pratique*

<b>I- Matériels et méthodes : .....</b>	<b>28</b>
1- Matériels utilisés au laboratoire : .....	28
2- Milieux de culture utilisés : .....	28
3 - Préparation du milieu de culture PDA : .....	29
4- Méthodes employées : .....	29
4-1- Isolement : .....	29
4-2- La purification : .....	30
4-3- l'identification : .....	31
5- L'effet des facteurs physiques sur le développement du champignon <i>Verticillium dahlia</i> : .....	31
5-1- l'effet de la température : .....	31
5-2- L'effet de la lumière : .....	31
5-3- L'effet de l'humidité relative : .....	32

1 - L'isolement, la purification et l'identification : .....	3
2-L'effets des facteurs physiques sur le développement du Verticillium dahlia : .....	3
2-1- l'effet de la température : .....	3
2-2- l'effet de la lumière : .....	3
2-3- L'effet de l'humidité relative: .....	3
Conclusion : .....	4
Résumé Français : .....	4
Résumé Anglais : .....	4
Résumé Arabe : .....	4
Références bibliographies : .....	4

## Introduction :

Traditionnellement, les champignons étaient considérés comme un groupe d'êtres vivants appartenant au monde végétal ; dépourvus de tiges et de feuilles, ils n'ont pas de chlorophylle et sont incapables de réaliser la photosynthèse.

Sur les plantes les champignons sont de redoutables parasites qui provoquent 70% à 80% des maladies des cultures. Parmi ces champignons on trouve des agents des fanaisons comme *Fusarium sp*, et le *Verticillium* (*V.alboatrum* et *V. dahlia*).

Ces deux dernières espèces de *Verticillium* sont des champignons du sol qui pénètrent leurs hôtes par les racines, et par la voie du système vasculaire se répandent dans la plante qui conduit à la Verticilliose.

Dans notre étude, nous avons essayé d'isoler et de purifier le champignon *V.dahlia* à partir d'un échantillon du sol supposé être contaminé par le champignon.

Nous avons ensuite étudié l'influence de certains facteurs physiques (température, lumière, humidité) sur le développement du champignon afin de limiter les conditions de développement de cette maladie.





*Partie théorique*



## I-Phytopathologie

Phytopathologie , science qui traite des maladies des végétaux des perturbations de leur croissance et de leur développement induites par des virus , des micro – organismes , des nématodes ou un environnement défavorable . Les études Phytopathologiques reposent sur la mise en œuvre de notions de botanique , de microbiologie , de biologie moléculaire de génétique , de physiologie végétal d'écologie , de toxicologie et d'épidémiologie.

Parmi les végétaux supérieurs , il existe quelques vrais parasites Capables d'endommager gravement leur hôte , voir de causer sa mort .Le gui , la cuscute et les parasites de la racine des genres Striga et orobanche sont les plus courants d'entre eux .

Classiquement , la phytopathologie n'étudie pas les problèmes liés aux ravageurs et parasites animaux (insectes et acariens principalement ) ou végétaux , sauf , pour ce qui est de leur rôle dans la transmission des agents pathogènes (virus ,bactéries , champignons ) . Toutefois ,la littérature anglo-saxonne inclut traditionnellement les nématodes parmi les causes de maladies des plantes .

### 1-Facteurs environnementaux néfastes :

Les facteurs environnementaux néfastes susceptibles de provoquer des phytopathologies non parasitaires sont fort divers. Nombre de ces dernières ont une incidence économique considérable .Les causes principales de ce type de phytopathologie sont les excès de température (trop basse ou trop élevée ) ,les perturbations du degré d'hygrométrie du sol , les impuretés atmosphériques, la foudre et les

perturbations nutritionnelles . Les températures basses , par exemple, sont susceptibles d'endommager les arbres fruitiers et les pommes de terre durant la saison hivernale . Une irrigation excessive ou irrégulière peut déclencher toute une série de perturbations telles que le pourrissement des bourgeons de tomates . Parmi les impuretés atmosphériques pathogènes , on trouve celles provenant des gaz d'échappement et des émanations d'usines tels le dioxyde de soufre ,  $\text{CO}_2$  le sulfure d'hydrogène ,  $\text{H}_2\text{S}$  , et les oxydes d'azote ,  $\text{NO}_n$  . La foudre endommage les champs de pommes de terre et nombre d'autres types de récoltes lorsqu'elle les frappe fréquemment , un excès d'acidité du sol affecte de nombreux végétaux ; de même un excès d'alcalinité peut être normale d'un végétal , comme l'azote , est en excès dans le sol , elle perturbe son développement . Les déficits en minéraux sont également pathogènes ; leurs symptômes caractéristiques sont bien connus pour de nombreux minéraux .

## 2- Nématodes

Les nématodes , classe de vers cylindriques , peuvent provoquer de nombreuses phytopathologies . Selon la partie de végétal qu'ils parasitent on classe les nématodes en trois groupes :

- les endoparasites qui deviennent adultes et pondent dans les organes du végétal .
- les semi-endoparasites qui vivent sur les racines .
- les ectoparasites qui vivent à l'extérieur et piquent la plante pour se nourrir . Durant de nombreuses années , les scientifiques ont porté une attention particulière aux nématodes des racines , à l'origine d'excroissances charnues , ou galles , prenant naissance sur la racine.

Des études plus récentes ont été consacrées à d'autres Espèces telles celles qui vivent dans les feuilles , les tiges , les bulbes et les racines du narcisse , des polémoniacées et de nombreux autres végétaux , ainsi qu'aux nématodes de la feuille , que l'on trouve dans les plantes herbacées comme le bégonia et le chrysanthème .

### 3- Phytopathologies virales :

Elles sont dues a des phytovirus , parasites obligatoires des cellules de la plante hôte chez lesquelles ils se multiplient et provoquent des perturbations métaboliques conduisant a l'expression des symptômes .

Durant ces dernières années ,le nombre de phytopathologies d'origine virale identifiées a augmenté considérablement .

Certains symptômes , comme les mosaïques , le jaunissement du feuillage , les taches annulaires, les retard de croissance ,les malformations et l' excès de croissance ,voire la mort prématurée ,sont caractéristiques de phytopathologies virales .

Dans certaines conditions ,les symptômes peuvent être masqués .certaines phytopathologies virales . Comme le jaunissement du pêcher la mosaïque du tabac ,l'enroulement des feuilles de la pomme de terre et la frisolée de la betterave ont fait l' objet d'études poussées , car elles causent des pertes considérables .Tous les végétaux sont susceptibles de contracter une ou plusieurs de ces pathologies potentiellement dangereuses.

Les phytopathologies virales sont principalement transmises par les insectes , c' est pourquoi , pour réduire leur incidence sur les cultures il est nécessaire de contrôler la prolifération de ces insectes .Les phytopathologies virales peuvent aussi être transmises par bouturage ou

greffe, par contamination du sol et , plus rarement , par des graines ou des graines ou des végétaux parasites .

#### 4- Phytopathologies d'origine bactérienne ,

Elles sont caractérisées par divers symptômes ,comme la pourriture molle ,les taches sur les feuilles ,le dessèchement des feuilles et des tiges ,les chancres ,ainsi que la formation de galle .le feu bactérien ,du a *Erwinia amylovora* , pathologie frappant les pommiers et les poiriers , présente un intérêt historique, car c 'est la première phytopathologie dont l'origine bactérienne a été scientifiquement établie Sur les arbres qui en sont atteints ,les fleurs ,les feuilles ainsi que les brindilles noircissent ;a terme ,l'arbre entier peut être touché ,et les dommages causes sont considérables ,voire mortels.

#### 5-Champignons destructeurs

Les champignons sont a l origine de la plupart des phytopathologies ,dont certaines ont été observées et décrites depuis des temps immémoriaux .Le mildiou affectant la pomme de terre ,dû a *Phytophthora infestans* ,en est un exemple tristement célèbre .

Il se répandit en est Europe après 1845 et eut des conséquences dévastatrices ,tout spécialement en Irlande .l'entrées en France du mildiou poudreux du raisin ,dû a *Plasmopara viticola* ,originaire d'Amérique ,faillit ruiner l'industrie viticole française .C'est un champignon parasite de la racine , *Hemileia vastatrix* , qui détruisit les plantations de café de Ceylan et d 'autres pays orientaux . Aux Etats – Unis ,le châtaigner , importante source de bois ,fruits comestibles et de tanin ,fut élimine par un champignon d'origine orientable introduit dans



le pays .Dans la seule Amérique du Nord ,on dénombre plus de 1400 espèces de champignons pouvant provoquer une rouille ,tous parasites et plusieurs centaines d'espèces de champignons susceptibles de provoquer des phytopathologies de type charbon .D'autres groupes de champignons sont a l'origine de phytopathologies très diverses caractérisées par des taches sur les feuilles , des lésions ulcéreuses ,des cloques ,des mildious, des chancres ,un pourrissement du bois ou des taches sur l' écorce ,un pourrissement de la racine ,un dessèchement ,une atrophie de la racine.

( Anonyme, 2004 )

## II – La flétrissure Verticillienne :

### 1 – L'agent causal :

Le flétrissement de la plante provoqué par le *Verticillium sp* se rapproche beaucoup de celui provoqué par le *Fusarium sp*, en effet les symptômes observés dans ces deux maladies vasculaires se traduisent par un jaunissement puis un flétrissement des feuilles ou de la moitié des feuilles qui correspondent aux vaisseaux, envahis ces feuilles finissent par brunir mais dans le cas du *Verticillium dahlia* ce brunissement est beaucoup plus lent.

L'infection paraît le plus souvent se réaliser au niveau des racines et après une période évolutive, il se produit un arrêt brusque de la turgescence du système foliaire qui se couvre de taches jaunes ou brunes Djamel Eddine et al (1992).

#### 1-1- Position systématique :

D'après Baghdadi (1981-A) et Botton et al (1990), le *Verticillium sp* appartient à la classe des *Deuteromycetes* (champignons caractérisés par la reproduction asexuée ou par simple fragmentation du mycélium), et la sous classe des *Hyphomycetes* (champignons filamenteux stériles « Agonomycetales » ou produisant leurs spores directement sur les hyphes ou sur les conidiophores simples ou agrégés « Moniliales ») et à l'ordre des *Hyphomycetales*.

On trouve dans cet ordre la famille des *Moniliaceae* qui comprend le genre *Verticillium* dont on connaît plusieurs espèces comme le *V.dahlia*, le *V. albostrum*, le *V. chlamydosporum* et le *V. lecanii* ...

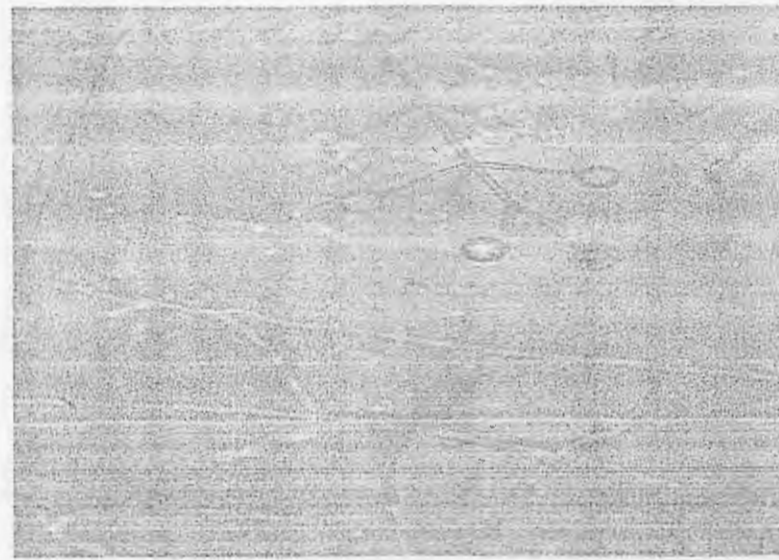
### 1-2- Caractères physiologiques :

Selon Champion (1997), le *Verticillium sp* est un champignon saprophyte, mais surtout parasite très répandu dans le sol car selon Marius (1986), il utilise des substances organiques d'êtres vivants qu'il rend malades (maladies cryptogamiques des plantes) et même parfois tue.

### 1-3- Caractères morphologiques :

Le *Verticillium sp* est un champignon microscopique ayant des colonies duveteuses de couleur brun clair ou verdâtre de pousse rapide (96 heures), conidiophores le plus souvent simples portant directement les phialides déposés en verticilles de longues taille (200-500  $\mu$ m) en bouquet (2-5) plus larges à leur extrémité qu'à leur base Agrios (1990) et Anonyme (2005).

Ce champignon est constitué de : mycélium, conidies et des sclérotés.



**Figure N°1** : photo microscopique du champignon  
*Verticillium dahlia*. (Anonyme, 2001)

### 1-3-1- Le mycélium :

D'après Anonyme (2005) et Kleben (1913) in Makounzi (1974) le mycélium de *Verticillium alboatrum* est filamenteux et cloisonné de couleur noire.

Par contre le mycélium de *Verticillium dahlia* est filamenteux cloisonné et de couleur hyaline.

### 1-3-2- Les conidies :

D'après Botton et al (1990) et, Prabhu et al (1992), les conidies de *Verticillium dahlia* sont portées par des conidiophores dressés, hyalins ou noirs avec plusieurs étages de verticilles de phialides divergentes, étroites et hyalines.

Les conidies sont unicellulaires, portées directement par des hyphes ou par différentes structures formées par les hyphes.

Selon Agrios (1990), ces conidies ont plusieurs formes : sphériques et ovoïdes.

On a remarqué que les conidies de *Verticillium dahlia* et *Verticillium alboatrum* avaient des spectres de protéines très semblables ne différant que par quelques bandes : ceci supporte l'idée que *Verticillium dahlia* et *Verticillium alboatrum* ont une étroite relation génétique. Pelletier et Aube (1970) in Makounzi (1974).

Jusque là, la distinction entre *Verticillium dahlia* et *V. alboatrum* reste délicate à faire selon Davet (1996).

### 1-3-3- Les sclérotés :

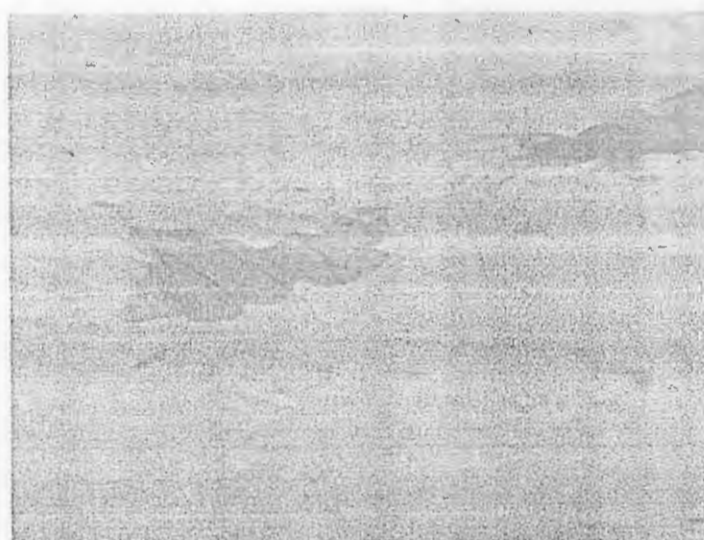
Les sclérotés sont des structures fongiques rigides de formation permanente qui supportent les conditions défavorables de

l'environnement et la déficience de nutrition. Elles diffèrent selon l'espèce du champignon.

Les sclérotés du *Verticillium sp* contiennent différentes couches de couleur brunâtre selon Mohammed Ali (1998).

Ce sont le plus souvent des structures constituées d'un lacin mycélien très compact autour duquel peut même se différencier une couche protectrice particulièrement dure et résistante, constituée de cellules à parois épaisses et imprégnées de pigments sombres, et même dans le sol peuvent rester viables pendant plusieurs années (14 ans) en absence de l'hôte. Guy (1993).

Le *Verticillium dahlia* produit des microsclérotés noirs constituées de cellules brunes, par contre le *Verticillium alboatrum* ne produit pas de microsclérotés. Kleben (1913) in Makounzi (1974).



**Figure N°2 :** Microsclérotés du champignon *Verticillium dahlia*. (Anonyme, 2001).



#### 1-4- Caractères biologiques :

Le *Verticillium sp* a besoin de plusieurs facteurs de l'environnement pour son développement :

##### 1-4-1- La température et le pH :

Le *Verticillium dahlia* se développe à température et pH optimums de 25°C et 6,45 respectivement. Il se caractérise aussi par sa sensibilité intense aux pH acides (inférieurs à 5,5) et aux degrés de température élevés (supérieur à 30°C). Tenuta (2001) et Stankiewicz (2001).

##### 1-4-2- La lumière :

Il semblerait à priori que les champignons soient totalement indifférents à la lumière. En effet, dépourvus de chlorophylle, ils n'ont pas besoin d'énergie lumineuse, comme les plantes vertes, pour synthétiser leur alimentation carbonée. Ils la puisent directement dans leur substrat.

Effectivement on constate de façon générale que les mycéliums des champignons que l'on cultive au laboratoire se développent parfaitement à l'obscurité totale, on constate parfois que la lumière provoque un effet dépressif. Des spores de *Verticillium sp* placées à l'obscurité germent dans une proportion de 82 % alors qu'à la lumière cette proportion tombe à 68 %, il semble que ce soit le proche ultraviolet qui en est responsable. Osman et Valadon (1981) in Guy (1993).

#### 1-4-3- L'humidité relative :

Selon Djamel Eddine et al (1992), le champignon *Verticillium dahlia* se développe bien sur les sols très humides qui facilitent la germination des spores et la croissance du mycélium.

#### 1-4-4- Nature du sol :

D'après Patrick (1996), les sols constituent un élément d'une très grande diversité en fonction de l'histoire climatique, géologique et végétale, certaines espèces fongiques se retrouvent sur la plupart des terrains. Les sols agricoles sont très étudiés, ils diffèrent notablement des sols naturels car ils contiennent de fortes concentrations de phosphate, azote et de potassium ( fertilisant).

Environ 25000 espèces différentes de champignons ont été isolées dans de tels sols, leur nutrition dépend essentiellement de l'apport en matières organiques provenant des végétaux.

Et selon Anonyme (2005), le *Verticillium sp* est très abondant dans des sols lourds, argileux et mal aérés.

#### 1-4-5- Cycle de vie :

Au printemps, les microsclérotés forment des ascospores qui germent par un ou plusieurs tubes de germination causant l'infection primaire, les tubes de germination qui se développent dans le mycelium forment alors un hyphes spécialisé (conidiophore) dans lequel des spores fongiques asexuelles sont produites (conidies).

Les conidies qui sont produites par le mycelium aussi longtemps que les conditions environnementales sont favorables, se disséminent à

d'autres plantes et peuvent provoquer une nouvelle infection secondaire qui produit les mycélium, les conidiophores et les conidies identiques.

Quand les conditions deviennent défavorables, le même mycélium produit les microsclérotés qui peuvent survivre jusqu'à ce que les conditions deviennent favorables encore. (Agrios 1988).

Ces microsclérotés peuvent être formés sur et dans les racines, ensuite leur germination se stimule par les exsudats racinaires, les hyphes pénètrent les endodermes et envahissent les navires de xylème où les conidies sont formées. (Pawelson 1993).

## 2-Symptomatologie :

Selon Anonyme (2005), les premiers signes de la Verticilliose ressemblent à un stress hydrique (manque d'eau), le champignon s'introduit dans la plante par les plaies et les fissures des jeunes racines en croissance, une fois à l'intérieur, il est transporté par la sève dans tout le système vasculaire, son développement obstrue peu à peu les vaisseaux conducteurs et cause le dessèchement des feuilles.

Chez les plantes ligneuses, on observe un flétrissement soudain du feuillage à l'extrémité de certaines branches, fréquemment celles du bas et de l'extérieur, puis les feuilles jaunissent, se dessèchent et tombent prématurément. A un stade plus avancé, l'infection provoque le dessèchement puis la mort des jeunes rameaux et des branches, puis de l'arbre entier.

En pelant l'écorce des branches infectées, on peut voir des stries longitudinales verdâtres ou brunâtres dans l'aubier, en coupe transversale, les stries forment des cernes ou des pointillés sur les anneaux de croissance, le dépérissement complet peut se produire en

quelques mois ou s'étirer sur plusieurs années, les arbres infectés ont une croissance ralentie, leurs branches semblent dégarnies et leurs feuilles sont plus petites, la Verticilliose ne tue pas nécessairement les arbres matures car ils peuvent isoler l'infection, cependant, les jeunes semis, les plantes herbacées et les arbres jeunes sont plus vulnérables et peuvent dépérir rapidement après l'infection.

### 3-Mecanisme de pathogénicité :

Selon Prabhu et al (1992), la plante attaquée par le *Verticillium dahlia* est caractérisée par le flétrissement nécrose qui est une infection vasculaire, le mycélium bloque les vaisseaux, en même temps le champignon secrète des toxines affectant la vitalité des tissus.

Roger (1953) in Makounzi (1974), rapporte que les toxines de *Verticillium sp* entraînés rapidement dans le système conducteur causent des intoxications généralisées, ces toxines (nocives) élaborées au dépend de la sève brute, ascendante entraînent des désordres physico-chimiques les plus variés, s'ajoutant aux dégradations anatomiques causées par la Croissance mycélienne à l'intérieur de l'hôte.

Le *Verticillium sp* est capable de libérer des pectinases et des cellulases, ces enzymes peuvent jouer un rôle important dans les tissus de l'hôte en agissant sur le métabolisme des organes.

### III- Les plantes attaquées par le *Verticilium dahlia* et la nature des dégâts :

D'après Anonyme (2005), le *Verticilium dahlia* attaque plusieurs plantes, par exemple les plantes maraîchères comme le concombre, la tomate, l'aubergine et le fraisier.

Il attaque également des plantes ligneuses comme l'olivier, l'orme et le prunier.

#### 1- Conditions de développement :

Des chercheurs romains Costache et al (1979), ont observé que les plantes de concombre sont plus susceptibles à l'attaque du champignon dans les conditions suivantes :

- Une température du sol de 25° C ou moins.
- Une humidité relative de 40 % plutôt que 80%.
- Une courte photopériode.
- Une fertilisation azotée excessive.

Selon Blancard (1991) et Anonyme (1994), les photopériodes courtes et les éclaircissements faibles sensibilisent les plantes à la maladie de la même manière, les plantes précoces à feuillage restreint et fructifications groupées, sont particulièrement sensibles.

Selon Davet (1996), la maîtrise de l'humidité du sol est très difficile à obtenir ( elle supposerait une maîtrise du climat). Elle est rarement suffisante pour assurer à elle seule une protection contre les maladies.



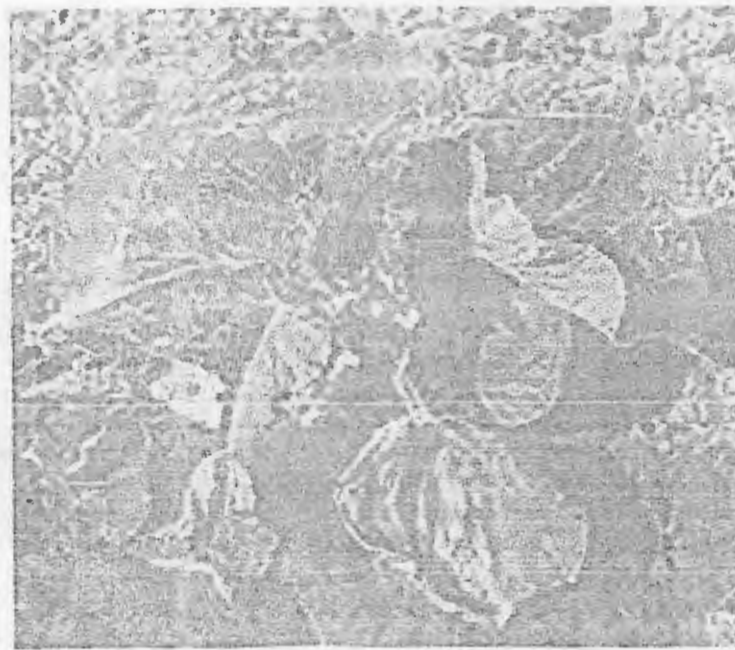
D'autres facteurs peuvent avantager ce champignon, par exemple la culture de plantes susceptibles dans un sol contaminé et les monocultures sans rotation. **Anonyme (2005).**

Le champignon hiverne dans les résidus des plantes infectés et par temps frais et humide, il produit de nombreuses spores sur les tissus infectés. **Mao (2002).**

## 2- Nature des dégâts :

D'après **Jean (1992)**, on reconnaît d'abord la maladie à un flétrissement et une zone jaune en « V » en bordure des feuilles. Par la suite, les feuilles jaunissent au complet et se dessèchent.

Chez le concombre l'infection des plantes se fait par le sol, et les microbes y sont très persistants. La Verticilliose est favorisée par des basses températures même si les symptômes n'apparaissent généralement qu'en temps chaud.

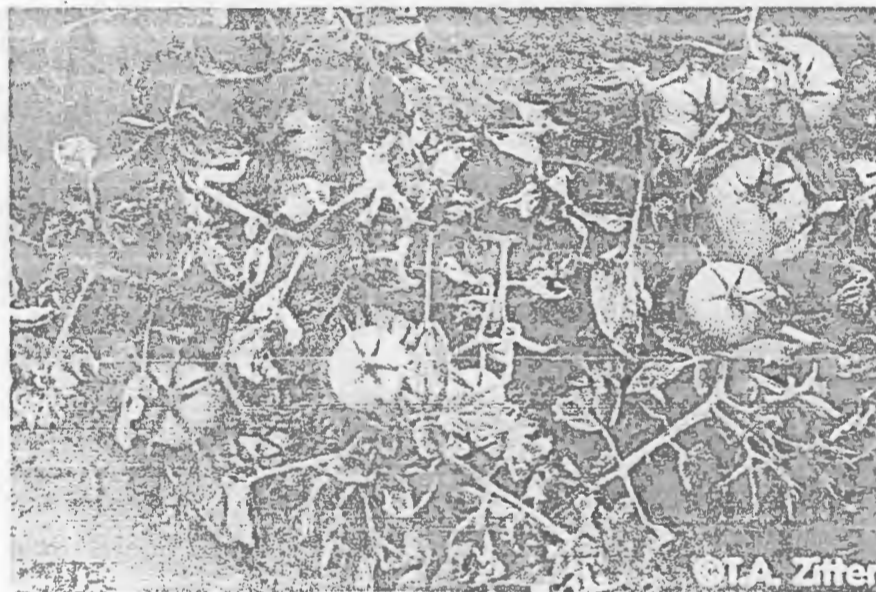


**Figure N°3 :** dégât du *Verticillium dahlia*  
Sur les feuilles du concombre. (**Jean, 1992**).

Chez la tomate le début du flétrissement des limbes des folioles est accompagné d'un jaunissement des feuilles de la base et d'une coloration gris-claire à brun-clair des vaisseaux. Les plantes atteintes ne meurent pas. Anonyme (1994).



**Figure N°4** : dégât du *Verticillium dahlia* sur les feuilles de la Tomate. ( Anonyme, 1995.

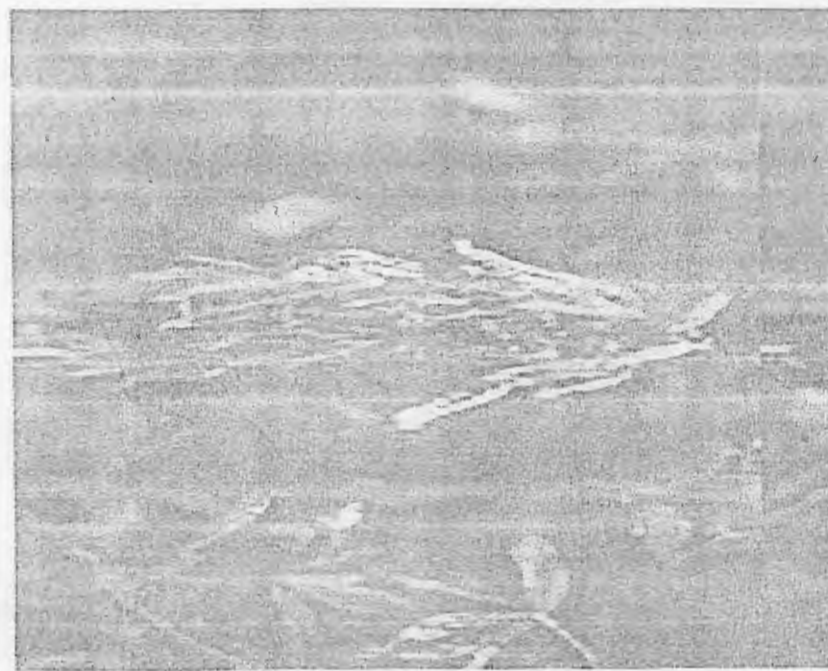


**Figure N°5** : dégât du *Verticillium dahlia* sur feuilles et tiges de la Tomate. ( Anonyme, 1994).

Chez la luzerne au début, seulement quelques tiges sont touchées. Toutefois les feuilles des plantes infectées finissent par se flétrir, rouler vers l'intérieur et prendre une couleur orange-brun ou brun - havane (décoloré).

La croissance est souvent beaucoup retardée et les plantes finissent par mourir. Bien que toutes les feuilles puissent (mourir) les tiges restent vertes. Le champignon pénètre la plante par la racine ou des tiges coupées et propage des vieux peuplements infectés vers les jeunes peuplements par le matériel de récolte, les insectes et le fumier.

La maladie provoque le brunissement des tissus vasculaires des racines et des tiges. **Maa0 (2002).**



**Figure N°6** : dégât de *Verticillium dahlia*  
Sur feuilles de la luzerne. (. Maa0, 2002 ).

### 3 - La lutte :

La lutte contre la Verticilliose consiste à éliminer le pathogène, microsclérotés et mycélium par diverses méthodes.

#### 3-1- Méthode préventive :

L'infection peut se transmettre par les semences, les boutures, les tubercules et les débris végétaux infectés mais aussi par la terre et l'eau contaminée, donc il est conseillé de :

- Eviter les blessures aux racines ( Pioche, bêche, herse, motoculture) et aux parties aériennes (tondeuse, souffleuse).
  - Eviter la monoculture des plantes susceptibles, faire des rotations au potager.
  - Le champignon pouvant demeurer vivant une quinzaine d'années dans le sol, on doit planter des espèces résistantes là où la maladie est déjà apparue, et ne pas déplacer de sol contaminé ou s'en servir pour les semis.
  - Ne pas transférer des plantes, même d'apparence saine, d'une zone contaminée vers une zone saine.
  - Choisir des espèces résistantes comme l'aubergine et tous les conifères.
- (Anonyme 2005).

#### 3-2- Méthode Biologique :

Elle se définit par l'utilisation des microorganismes antagonistes vivants et leurs produits pour réduire les dégâts causés par les microorganismes pathogènes au seuil économique acceptable. (Davet, 1996).

Le *Trichoderma* avait un potentiel de lutte intéressant contre les agents pathogènes (*Verticillium dahlia*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* ...). Craao (2003).

### 3-3- Méthode physique :

- Arracher et détruire les arbres et les plantes très infectés y compris les racines.
- Attendre une quinzaine d'années avant de replanter une espèce sensible dans un sol contaminé, replanter plutôt des espèces résistantes.
- Emonder les arbres atteints : éliminer tout les bois morts ; tailler les jeunes branches infectées jusqu'à un bois sain ; attendre l'année suivante avant de couper les branches de bonne taille car elles peuvent parfois se régénérer.
- Désinfecter le sécateur régulièrement avec de l'alcool méthylique à 70% ou de l'eau de Javel diluée à 25%.
- Maintenir les arbres vigoureux par une fertilisation équilibrée et des arrosages réguliers en période de sécheresse.
- Un apport d'engrais riche en azote, appliqué au tout début de l'injection, favorise la croissance végétative des arbres et permet de ralentir le développement de la maladie.
- Maintenir le site exempt de mauvaises herbes qui hébergent souvent les champignons ; ne pas composter de débris contaminés. (Anonyme 2005).



### 3-4- Méthode chimique

Pour éviter cette maladie il faut désinfecter les zones du sol qui contiennent des arbres morts à l'aide des produits chimiques, (Fongicides) avant la culture comme le formaline et le Carbathium. Guechi (1994).

Il faut également utiliser des fongicides après la culture comme le methylthiophanate 70% et le Benlate. Anonyme (2002).

Tableau N°1 : les principaux fongicides employés contre la Verticilliose.

Produits chimiques (fongicides)	Doses	Observations
formaline	65 gr/m <sup>2</sup>	1,5 mois avant la culture.
Carbathium	200 gr/m <sup>2</sup> diluer à 10 litres d'eau	20 jours avant la culture
Methylthiophanate 70%	1,2 kg/ha	En pulvérisation foliaire (traitement essentiellement préventif)
Benlate	2-3 gr/m <sup>2</sup> .	Traitement au pied de chaque plante dès les premiers symptômes.

Guechi (1994) et Anonyme (2002).

#### **IV- Principales techniques d'isolement et de purification utilisées en phytopathologie :**

Il existe deux grands types de techniques qui permettent de détecter la présence des champignons du sol et de les isoler.

Avec les techniques directes on obtient directement le développement de colonies sur un milieu de culture nutritif plus ou moins sélectif, soit par incorporation du sol dans le milieu, soit, plus rarement, par immersion dans le sol du milieu fixé sur un support. Ces méthodes ne sont utilisables que pour des champignons capables d'un développement saprophytique.

Dans le deuxième cas la technique indirecte, consiste à piéger le champignon dans le sol à l'aide de substrats vivants ou inertes, puis à l'isoler à partir de ces substrats lorsque sa biologie le permet.

On peut toutefois citer un troisième type de technique réservé à certains parasites obligatoires et aux champignons possédant des formes de conservation assez facilement séparables des particules de sol : Il s'agit de l'extraction directe qui se fait donc sans milieu nutritif et sans piège. (Davet et Rouxe 1997).

##### **1- L'isolement à partir du sol :**

Il y'a différentes méthodes qui sont suivies pour l'isolement du champignon à partir du sol, nous pouvons citer entre autres la méthode de plantation directe, la méthode de dilution et la méthode de lavage du sol. (Djamel Eddine et al 1992).

### 1-1- Méthode de plantation directe :

D'après El bouni (1992) et Davet et Rouxe (1997), on peut disperser une petite quantité de grains du sol supposés être contaminés sur le milieu de culture qui est coulé dans des boites de Pétrie stérilisées au préalable.

C'est une bonne méthode pour l'isolement des champignons qui se trouvent sous la forme mycélienne mais la purification des colonies est difficile lorsque les grains du sol ne se dispersent pas bien.

Par la suite, il faut incuber les boites de Petrie et les observer par intervalles de temps. Après le développement des colonies on purifie les colonies afin d'obtenir des boites pures, et homogènes, puis on passe à l'observation microscopique d'un explanta qui est déposé entre lame et lamelle jusqu'à l'obtention du champignon *Verticilium dahlia* responsable de la maladie.

Il est préférable parfois d'utiliser des milieux de culture non nutritifs comme le « Water agar » et ce pour réduire les quantités d'hyphes qui se multiplient plus rapidement sur les milieux nutritifs comme le milieu PDA pour faciliter le transfert des colonies individuellement.

### 1-2- Méthode de dilution :

Selon Davet et Rouxe (1997), le principe de cette méthode consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau stérile, puis à incorporer les différentes dilutions de cette suspension dans le milieu d'isolement.

La préparation des dilutions consiste tout d'abord à mélanger 1g du sol avec 9 ml d'eau stérile pour conduire à une dilution de  $\frac{1}{10}$  et après cela plusieurs dilutions doivent être effectuées ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ .....).

A partir de ces dilutions on fait l'étalement d'un faible volume (une ou plusieurs gouttes) de chaque dilution à la surface du milieu de culture, solidifiés dans des boîtes de Pétrie.

Après quelques jours d'incubation les colonies sont sélectionnées individuellement.

### 1-3- Méthode de lavage :

D'après El bouni (1990), l'utilisation des deux méthodes précédentes stimule l'apparition des champignons du sol sous forme de spore ( la méthode plantation directe). Pour avoir une observation plus précise du mycélium, il faut laver le sol avant la culture avec de l'alcool ou de l'eau de Javel et le sécher.

### 2- L'isolement à partir d'une plante :

Selon Davet et Rouxe (1997), c'est souvent à partir des plantes malades que l'on est amené à isoler les champignons du sol.

La première précaution à prendre est alors de disposer d'un échantillon représentatif de la maladie, présentant des symptômes typiques, mais dans leur phase la moins évoluée. Les symptômes terminaux correspondent en effet généralement à des tissus fortement dégradés envahis par une microflore saprophytique, masquant ou ayant relayé les agents responsables de la maladie.

Reste alors le choix du site de prélèvement des fragments de tissus pour l'analyse : il se fera généralement en marge du symptôme là où l'on a le plus de chances de sélectionner l'agent primaire de la maladie.

### 3- Repiquage des souches :

D'après **Bottons et al (1990)**, le repiquage des souches est l'opération qui consiste à transférer aseptiquement un micro-organisme sur un milieu stérile pour l'isoler ou le maintenir en culture pure.

Il suffit de prélever avec une anse de platine stérile quelques spores ou un fragment mycélien à la marge du thalle, et de transférer l'inoculum sur un milieu neuf.

### 4- Technique D'inoculation :

D'après **Botton et al (1990)**, pour obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation doit être réalisée en un seul point et non en stries comme en bactériologie, en disposant la bouture soit sur la pente d'un milieu en tube, soit au centre d'un milieu en boîte de Petrie.

### 5- Les conditions de culture :

La culture exige comme conditions ; la lumière qui est un facteur important pour la pigmentation et la sporulation, la température (20-23°C) en évitant celles qui sont trop élevées car celles-ci défavorisent et empêchent une bonne croissance du champignon. L'oxygénation du milieu (les champignons doivent respirer), la propreté de l'environnement pendant la manipulation (poussière, passage d'un courant d'air). **Anonyme (1994) in Cheriet et al (2004)**.



## 6- Les milieux d'isolement :

Les champignons se développent parfaitement en milieu liquide. Cependant, si l'on désire étudier la flore fongique associée à un biotope particulier. Il est indispensable, pour obtenir des colonies distinctes les unes des autres, d'utiliser un milieu solide.

Il faut en outre éviter que les colonies, en se développant trop rapidement sur le substrat, deviennent confluentes, ce qui rendrait les observations et les prélèvements impossibles. Un milieu d'isolement ne doit donc pas être trop riche. Il peut parfois contenir des ralentisseurs de croissance (tensioactifs) ou même être extrêmement pauvre (eau gélosée)

Pour permettre le développement des champignons, un milieu doit comprendre une source de carbone et une source d'azote, ainsi que divers sels minéraux.

Ces éléments nutritifs peuvent être obtenus exclusivement à partir d'organes ou d'extraits végétaux ( milieux naturels à base de farine, de jus ou de bouillon ). Ou bien à partir de composés chimiques ou par une combinaison des deux. Tels quels, ces milieux de base conviennent très mal à l'isolement des champignons du sol car ils permettent aussi la croissance des bactéries. Il faut donc les rendre inhibiteurs vis-à-vis des bactéries sans entraver le développement des champignons. On y arrive par la manipulation du pH ou par l'adjonction d'agents antibactériens.

Les milieux ainsi complétés se prêtent à l'isolement d'une flore fongique générale. Pour obtenir une espèce particulière de champignon à l'exclusion des autres, il est nécessaire de rendre le milieu sélectif. On peut parvenir à ces résultats en utilisant des substrats nutritifs favorables



à la croissance de l'espèce recherchée. Mais difficilement métabolisable par les autres espèces.

Tableau N°II : Quelques exemples d'utilisation de source de carbone spécifique pour le *Verticillium sp*:

Source de carbone	Champignons	Auteurs
Raffinose	<i>Verticillium fungicola</i>	Wong preece (1987) Rinker et al (1993)
Sorbose	<i>Verticillium sp</i>	Jordan (1971)
Cellulose	<i>Verticillium tricorpus</i>	Huisman (1988)
Acide	<i>Verticillium Dahlia</i>	Green et Papavizas (1968)
Polygalacturonate de Sodium	<i>Verticillium sp</i>	Huisman et Ashworth (1974 )

Davet et Rouxe (1997).

Une telle démarche suppose une bonne connaissance des exigences nutritives des organismes étudiés, ce qui est encore rarement le cas. On recourt habituellement à une autre stratégie qui consiste à utiliser des inhibiteurs à large spectre, en présence desquels le

champignon désiré peut néanmoins se développer. Mircetich (1970) in Davet et Rouxe (1997).

Quelques milieux sélectifs du *Verticillium dahlia*.

- Milieu de Menzies et Griebel ( 1967)
- Milieu D'Isaac et al (1971 )
- Milieu D'Ausher et al (1975 )
- Milieu de Butterfield et De Vay (1977 )
- Milieu de Huisman (1988 )
- Milieu MSEA de Harris et al (1993 )

(Davet et Rouxe 1997 ).



*Partie Pratique*

## I- Matériels et méthodes :

### 1- Matériels utilisés au laboratoire :

Pour réaliser notre étude, nous avons besoin d'un matériel composé de la verrerie : verres à montres, bêchers, flacons, lames et lamelles pour l'observation microscopique.

L'autre matériel est formé d'un bec benzène pour la stérilisation, une anse de platine, des boites de Pétrie en plastique et une pastule.

Pour l'observation et l'identification du champignon on utilise un microscope optique, une étuve pour l'incubation des boites, une balance et un agitateur.

Pour les réactifs nous avons besoin d'eau de Javel , l'eau de robinet et l'eau distillée.

### 2- Milieux de culture utilisés :

Nous avons utilisé plusieurs milieux de culture pour l'isolement du champignon à partir du sol :

- Milieu de sabouraud
- Milieu d'extrait de malte
- Milieu de King B
- Milieu d'OGA
- Milieu de PDA

Les expériences ont été réalisées dans le laboratoire de microbiologie de l'université de Jijel.

### 3 - Préparation du milieu de culture PDA :

Milieu de pomme de terre glycosé et gélosé d'après Davet et Rouxe (1997).

Ce milieu a un effet direct sur le développement du champignon *Verticillium sp* grâce à sa composition :

- ❖ Pomme de terre .....200g
- ❖ Glucose.....20g
- ❖ Agar.....20g
- ❖ Eau distillée.....1 litre

Pour préparer ce milieu de culture on fait cuire 200g de pomme de terre pelée, lavées et coupées en tranches fines dans 500 ml d'eau distillée pendant 30 minutes. On fait une filtration, puis on le presse pour extraire le liquide restant et on ajoute 20g de glucose.

On solutionne l'Agar dans 500 ml d'eau distillée sur l'agitateur, puis on ajoute l'extrait de pomme de terre glycosé et on complète le volume à 1 litre si nécessaire.

Autoclaver à température 120° C et pression 1 atmosphère pendant 20 minute avant l'utilisation.

### 4- Méthodes employées :

#### 4-1- Isolement :

Les étapes d'isolement doivent s'effectuer dans des conditions aseptiques . La verrerie utilisée a été préalablement stérilisée à la chaleur d'une étuve à 180° C pendant 2 heures.

Le matériel utilisé (pincette, anse de platine...etc) doit toujours être stérilisé à l'alcool (90°) et au feu (bec benzène) .

On ne doit faire sortir les boîtes de Pétrie de leur emballage qu'au moment de leur utilisation .

La réussite des opérations dépend de la qualité des soins apportés lors de leur réalisation.

Dans notre travail nous avons essayé l'isolement du champignon "*Verticillium dahlia*" à partir de sols de plusieurs provenances : sol d'olivier, sol de pomme de terre et sol de poivron ( le prélèvement du sol s'effectue seulement après avoir détecté les symptômes de la verticilliose sur la plante).

Nous avons utilisé plusieurs milieux de culture a savoir : Sabouraud, King B, Extrait de malte , OGA et PDA, avec trois répétitions ( Boîtes de Petrie ) pour chaque type de sol .

L'isolement consiste à disperser aseptiquement une petite quantité de sol sec , sur le milieu de culture. L'incubation s'effectue dans une étuve à 23-25°C pendant 4-10 jours.

#### 4-2- La purification :

Les isolats obtenus sont purifiés . Dans ce cas là , nous devrions utiliser des milieux sélectifs défavorables aux contaminants pour faciliter la purification.

Ces isolats doivent être incubés dans des boîtes de Petrie et la lecture des résultats s'effectue après 4 à 5 jours de l'ensemencement .



#### 4-3- l'identification :

Pour identifier l'agent responsable de la maladie cryptogamique nous avons effectué une observation microscopique . On se basant sur les caractères morphologiques du *Verticillium dahlia* décrits dans la bibliographie.

#### 5- L'effet des facteurs physiques sur le développement du champignon "*Verticillium dahlia*" :

##### 5-1- l'effet de la température :

Pour étudier l'effet de la température sur le développement de *Verticillium dahlia* on fait une expérience sur le milieu de culture PDA.

Selon Baghdadi ( 1981 B ) , on préfère la méthode de la mesure du diamètre de la colonie sur le milieu solide, aux méthodes de poids sec du mycélium pendant l'étude des facteurs physiques (température).

Le développement du champignon sur le milieu de culture (PDA) s'effectue par la culture des disques des colonies d'une souche pure de diamètre 5 mm et on incube à différentes températures :

4°C ( dans un réfrigérateur ) , 25°C , 37°C , 44°C ( dans des étuves) pendant 4 jours ( on fait trois répétitions pour chaque température). Puis on mesure les diamètres des colonies et on calcule la moyenne de diamètre de chaque traitement.

##### 5-2- L'effet de la lumière :

On suit la même méthode, ou on fait une culture des disques des colonies d'une souche pure de diamètre 5mm sur le milieu de culture PDA et on met :

- Trois répétitions à la lumière continue.
- Trois répétitions à l'obscurité totale.
- Trois répétitions soumises alternativement à la lumière du jour et à l'obscurité pendant la nuit. Toutes les boîtes sont soumises à la température du laboratoire pendant 4 jours, après quoi, on mesure les diamètres des colonies de chaque traitement.

### 5-3-L'effet de l'humidité relative :

Pour étudier l'effet de l'humidité sur le développement du champignon nous avons suivi la méthode de **Sharabach and Taha (1959)** in **Abdelaziz et al (2003)**.

Premièrement nous avons préparé des solutions à différentes concentrations de NaCl : 0% , 8%, 16%, et 42%.

Après la stérilisation de ces solutions nous avons mis environ 30ml dans une boîte de Petrie, et environ 15ml du milieu de culture PDA sur la couverture de la boîte. On fait trois répétitions pour chaque solution. Après avoir bien fermé les boîtes avec du scotch (au lieu du paraffine) pendant 48 heures pour obtenir les degrés d'humidité respectivement : 100%, 95%, 90% et 80% .

A ce moment on met dans chaque boîte de Petrie un disque de colonie du champignon d'une souche pure ( 5mm de diamètre) et on incube à 25°C pendant 4 jours, et enfin on mesure le diamètre de la colonie pour les trois répétitions de chaque solution.



Résultats et discussion

## II- Résultats et discussions :

### I - L' isolement , la purification et l'identification :

Après l'incorporation du sol des différents échantillons collectés, à savoir (sol d'olivier, sol de pomme de terre et sol de poivron ) sur les différents milieux de culture : Sabouraud, OGA, King B et extrait de malte. Et après l'incubation nous avons pu isoler plusieurs espèces de champignons, confirmant la richesse de la flore fongique dans le sol. Mais le *Verticillium sp* était absent dans toutes les boites.

Dans le deuxième essai, utilisant le sol d'olivier prélevé à différentes profondeurs ( le sol a été mélangé par la suite), et utilisant le seul milieu de culture PDA, nous avons obtenu des colonies de différentes couleurs dans toutes les répétitions, constituées de plusieurs espèces de champignons surtout dominées par : *Aspergillus* , *Mucor* *Penicillium* et le *Verticillium* .

Le tableau <sup>III</sup> suivant résume la description ( couleur ) des différentes colonies apparues :

Tableau N° III : différentes couleurs des colonies observées  
après l'isolement

Répétition	Couleur des colonies
1	Brun clair. Verdâtre. Beige. Rose.
2	Rose. Brun clair. Verdâtre.
3	Brun clair.beige.rose.verdâtre

Selon les données bibliographiques, les colonies du *Verticillium* donnent des couleurs variables : brun clair ou verdâtre . Agrios (1990) .

C'est à partir de ces dernières (colonies verdâtres) , que nous avons fait la purification , qui a nécessité plusieurs répétitions et beaucoup de patience .

L'observation sous microscope optique révèle les caractères morphologiques connus du *Verticillium dahlia* qui sont déjà décrits dans le premier chapitre ( étude bibliographique ) .

Voici des photos prises dans notre laboratoire sur l' une des boites pures .



Figure N°7 : photos microscopiques du champignon

*Verticillium dahlia*



## 2-L'effets des facteurs physiques sur le développement du *Verticillium dahlia*

### 2-1- L'effet de la température :

Les résultats décrits dans le tableau N° IV correspondent à ce qui a été rapporté par Tenuta (2001) , Stankiewicz (2001) et Anonyme (1994), qui trouvent que les degrés limites de la température, valables au développement du *V. dahlia* sont compris entre 8°C et 30°C avec un optimum de 25°C.

Ils trouvent que ce développement est très faible à 8°C, la température au-dessous de laquelle (4°C au réfrigérateur) le champignon ne se développe pas dans notre expérience.

Suivant les mêmes limites , le développement s'arrête complètement au dessus de 30°C , ce qui renforce encore nos résultats où nous n'avons enregistré aucun développement à 37°C et 44°C.

Limités par les possibilités du laboratoire nous n'avons pu essayer qu'une quatrième température, à 25°C qui est généralement connue comme température optimale pour la majorité des champignons .

Les répétitions incubées à cette température ont enregistré un très bon développement de colonies qui n'a été limité que par les dimensions des boîtes de Pétrie elles même.

Selon Baghdadi (1981.B) la température joue un rôle primordial dans le métabolisme du champignon parce qu'elle a un effet direct sur l'activité des enzymes qui sont inhibées par les températures basses , et détruites par les hautes températures .

La température a également un effet direct sur la composition des vitamines ,des acides aminés et d'autres substances nécessaires pour le développement et la germination du champignon .

Tableau N°IV : développement du *V. dahlia* en fonction de la température

Différents degrés De température (°C)	Répétitions	Diamètre des colonies	Moyenne des diamètres (cm)
		Après 4 jours (cm)	
4	1	0,0	0,0
	2	0,0	
	3	0,0	
25	1	8,6	8,6
	2	8,6	
	3	8,6	
37	1	0,0	0,0
	2	0,0	
	3	0,0	
44	1	0,0	0,0
	2	0,0	
	3	0,0	

## 2-2- l'effet de la lumière :

Lés résultats obtenus décrits dans le tableau N°V représentent un bon développement des colonies incubées à l'obscurité totale .

Ce développement est légèrement ralenti dans les cas de la lumière continue et l'alternance entre l'obscurité et la lumière .

Osman et Valadon (1981) in Guy ( 1993 ) Confirment ces résultats quand ils disent que les mycéliums des champignons que l'on cultive au laboratoire se développent parfaitement à l'obscurité totale. On constate que la lumière provoque un effet dépressif pour le développement des colonies.

**Tableau N°V : le développement du *Verticillium dahlia* en fonction de la lumière**

	répétitions	Diamètre des colonies après 4 jours ( cm )	Moyenne des diamètres ( cm)
Lumière continue	1	5.9	6.0
	2	6.1	
	3	6.0	
Obscurité / lumière	1	7.6	7.5
	2	7.4	
	3	7.5	
L'obscurité totale	1	8.6	8.6
	2	8.6	
	3	8.6	

### 2-3- L'effet de l'humidité relative:

Les résultats décrits dans le tableau N° VI prouvent que la meilleure croissance du champignon se fait à l'humidité relative 100 %. Le diamètre de la colonie diminue avec la diminution de l'humidité relative jusqu'à l'inhibition à 80 %.

Ces résultats correspondent à ce qui a été rapporté par Djamel Eddine (1992) et Baghdadi (1981 B) qui trouvent que les champignons préfèrent des sols très humides pour le développement, et que le meilleur développement s'effectue dans le spectre d'humidité [95 % - 100%].

L'effet de l'humidité sur le développement du champignon s'explique par l'influence sur le contenu d'eau des cellules fongiques du champignon et sur leur activité physiologique telles que la reproduction et la pénétration des éléments nutritifs par leurs membranes cytoplasmiques, tous ces effets conduisent à l'inhibition du développement du champignon. (Baghdadi 1981. B).

Tableau N° VI : le développement de *V. dahlia* en fonction de l'humidité relative.

Taux d'humidité relative (%)	répétitions	Diamètre des colonies après 4 jours (cm )	Moyenne du diamètre ( cm)
100	1	8.6	8.6
	2	8.6	
	3	/	
95	1	7.4	7.4
	2	7.6	
	3	/	
90	1	/	4.5
	2	4.5	
	3	4.5	
80	1	0.0	0.0
	2	0.0	
	3	0.0	



## Conclusion

La flétrissure Verticillienne est une maladie dangereuse. Elle est caractérisée par le flétrissement soudain du feuillage, suivi du dessèchement des rameaux et des branches.

Elle provoque, chaque année, des dégâts considérables et des pertes énormes, ce qui influence négativement la production végétale en quantité et en qualité.

Dans le deuxième chapitre de notre travail, nous avons essayé plusieurs échantillons de sol et ce pour isoler l'agent causal de la Verticilliose. En utilisant les caractères micro et macroscopiques du *V.dahlia*, décrits dans la bibliographie nous avons pu l'identifier.

Le *V.dahlia* se développe sur plusieurs milieux de culture dont le PDA. La meilleure température pour son développement est 25°C, alors que les températures 4°C, 37°C, et 44°C, l'empêchent complètement.

Il se développe très bien dans une humidité relative de 100% ce développement diminue à 95%, et à 80 % il est déjà inhibé.

La lumière n'empêche pas le développement du *V.dahlia* néanmoins, on le trouve toujours plus actif à l'obscurité totale et considérablement ralenti à la lumière continue.

Tous les facteurs de l'environnement peuvent être favorables ou bien défavorables pour le développement du champignon, les facteurs défavorables influent négativement et peuvent diminuer le taux d'existence du champignon dans la nature, qui conduit à la lutte contre cette maladie.

La lutte chimique contre cette maladie n'est pas un grand problème actuellement, nous avons déjà cité au premier chapitre certains fongicides très efficaces et assez connus.

Cependant il est préférable pour la sauvegarde de l'équilibre écologique du milieu naturel d'opter pour une lutte préventive qui consiste à exploiter les caractères physiques de l'agent causal lui-même, par exemple en facilitant le drainage des sols très humides, la solarisation ...etc.

### Résumé :

La flétrissure verticilliéne est causée par le champignon *Verticillium dahlia*. Son développement atteint l'apogée au printemps et en automne où l'humidité et la température favorisent sa multiplication. Les plantes infectées présentent des symptômes qui se manifestent par un flétrissement avec un jaunissement, puis un brunissement des feuilles. Nous avons essayé des isolements et une purification du champignon à partir du sol et ce pour isoler l'agent causal de la maladie, puis nous avons étudié l'influence de certains facteurs physiques sur le développement du champignon (température, lumière et humidité). D'après notre expérience, les températures : 4°C, 37°C et 44°C, ne permettent pas du tout le développement du *V.dahlia*. Ce champignon préfère une humidité relative élevée 100% et l'obscurité totale.

Mots clé : flétrissure verticillienne, *Verticillium dahlia*, développement du champignon, isolement et purification.

## Abstract

Fading verticillienne is caused by the fungus *Verticillium dahlia*. Son development reaches the apogee in the spring and in fall or the humidity and the temperature encourage his/her/its multiplication. The tainted plants present symptoms that appear by a flétrissement with a jaunissement, then a brunissement of leaves. We have try isolations and a purification of the fungus from soil and this to isolate the causal agent of the illness, then we studied the influence of certain physical factors on the development of the fungus (temperature, light and humidity). According to our experience, temperatures, : 4°C, 37°C and 44°C. Permit the development of the *V.dahlia* not at all this fungus prefers an elevated relative humidity 100% and the total obscurity.

Words key : fading Verticillienne, *Verticillium dahlia*, develop the fungus, isolation and purification.

## الملخص :

الذبول الفريستيليومي الناتج عن الفطر *V.dahlia* و الذي يكثر انتشاره في فصل الربيع و الخريف أين تتوفر الرطوبة و الحرارة المناسبين لنمو الفطر. أهم الأعراض المرضية هي ذبول وعائي متنوع يتلون للأوراق باللون الأصفر ثم باللون البني. قمنا بإجراء عمليات عزل و تنقية انطلاقاً من عينات التربة لعزل العامل المسبب للمرض *V.dahlia* وبعدها درسنا تأثير بعض العوامل الفيزيائية على نمو الفطر ( حرارة ، ضوء و رطوبة ) . انطلاقاً من تجاربنا وجدنا أن درجات الحرارة : 4م ، 37م و 44م لا تسمح بنمو الفطر *V.dahlia* ، وأن هذا الفطر يفضل رطوبة نسبية عالية 100% وظلام مستمر .

كلمات المفتاح : الذبول الفريستيليومي ، *V.dahlia* ، نمو ، عزل وتنقية .



*Références*

*bibliographiques*

## Références bibliographiques

- 1-Agrios G.N .;1988 : Plant pathology . Academic Press . Inc .San Diego-Californie , 803 p.
- 2 - Agrios G. N., 1990: Plant pathology. Academic press. Inc. San Diego-Californie, 721 p.
- 3- Anonyme . ; 1995 : La culture de la tomate sous serre. I. T. C . M . I. Tipaza , 20 p.
- 4-Blancard D .;1991 : Maladies de la tomate, observer, identifier, lutter.INRA édition-Paris, p 181.
- 5- Botton B., Breton A., Favre M., Gauthier S, Guy Ph. , Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. ; 1990 : Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle.2<sup>ème</sup> édition- Paris, 512 p.
- 6 -Champion R. ; 1997 : Identifier les champignons transmis par les semences. INRA édition – Paris, p 153.
- 7-Chriet M . ; Messelouh F. ; Zentout N . ; 2004 : Techniques d'isolement et de purification de Botrytis cinerea et la réaction des plantes hôtes à la pourriture grise. D.E.S. Microbiologie-Jijel, 58 p.
- 8- Costache M.; Lactusu V; Tomescu A ; Mandricel M; 1979 : Studies on the factors predisposing cucumber plants to infection by Fusarium oxysporum ,f, sp . Cucumerinum and Verticillium dahlia ,p 51.
- 9-Craao . ; 2003 : Amélioration des qualités nutritionnelle du milieu de culture utilisé pour produire Trichoderma afin d'en maximisé le potentiel antagoniste , p 4.
- 10-Davet P . ;1996 : Vie microbienne du sol et production végétale. INRA édition-Paris, 383 p.
- 11-Davet P. ; Rouxe F.,1997 : Détection et isolement des champignons du sol. INRA édition- France, 203 p.
- 12-Guy D . ; 1993 :Ecologie des champignons . MASSON-Paris , 207 p.



- 13 - Makounzi J. A. A.; 1974: Essai de résistance de la tomate à la Verticilliose (*Verticillium dahlia*). -Thèse d'ingénieur agronome. INA El Harache- Alger, 36 p.
- 14 - Marius Ch. ; 1986 : Les champignons. Paris, p259.
- 15-Patrick B. ; 1996: Organisation et biologie des champignons .Edition Nathan- Paris,128 p.
- 16-Pawelson M.;1993 : Management of disease caused by soil borne pathogens, potato health management. In R .C Row 1993 . potato health management .APS .Press . St . Paul .MN . pp 149 , 150 .
- 17-Prabhu A .V ; khelfane Karima ., Bakal Sadia ; 1992: Compilation des maladies fongiques des plantes en Algérie .Office des publications universitaires- Alger ,85 p.
- 18-Stankiewiez A .;2001:Effect of temperature on early stem colonization in *Verticillium . dahlia* infected tomato . Department of molecular biology and genetics ,University of Guelff . , ONNIG 2001 - Canada ,405 p.
- 19-Tenuta M.; 2001 : Control of *Verticillium dahlia* by Ammonia and Nitrous acid released from organic amendments. SCPPRC, agriculture and agr-food -Canada , 312 p.
- 20- البونى عبد العزيز محمد ، 1990 : أساسيات الفطريات العملي . الطبعة الأولى . - طرابلس ليبيا . 284 ص
- 21- بغدادى وفاء ، 1981 . A. :تصنيف الفطريات ديوان المطبوعات الجامعية.الجزائر.302 ص
- 22- بغدادى وفاء ، 1981 . B. : بيولوجيا الفطريات . ديوان المطبوعات الجامعية - الجزائر . 183 ص .
- 23- جمال الدين ؛ صلاح محمد . ك ؛ حسن يحيى ع ؛ زكى علي ؛ أ ؛ 1992 : أساسيات أمراض النبات - الطبعة الثالثة . القاهرة . 523 ص
- 24- محمد علي أحمد ، 1998 : عالم الفطريات . الطبعة الأولى . القاهرة . 907 ص .

25- عبد العزيز كريمة ، تيكودان فؤاد ، العتلي عبد النور ، 2003 : مقارنة فيزيولوجية الفطر *phytophthora sp* المسبب لمرض اللفحة المتأخرة في البطاطا و الفلفل ومكافحة .مذكرة لنيل شهادة الدراسات العليا في البيولوجيا . جيجل . 41 ص .

26- قشبي عبد الهادي ، 1994 : أمراض اللوزيات ، ديوان المطبوعات الجامعية . سطيف .

127 ص

**Sites Internet :**

27-Anonyme .; 2001

<http://www.fsaga.ac.be/pp/phytopat/partie4.htm>.

28- Anonyme . ; 2005

<http://www.ville-montreal-qc.ca/jardin/infvert/portails.carnet/jardinpaysager.htm>

29-Jean duval .agr .Msc . ,1992

<http://www.cap.incgille.ca/agro/bio/ab320-03.htm>

30-MAAO . ; 2002 .

<http://www.gov.on.ca/OMAFRA/index.html>.

**Les CD**

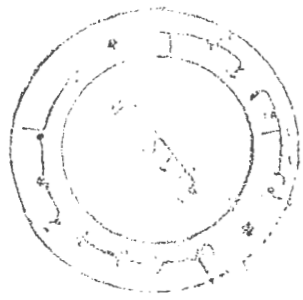
31- Anonyme .; 1994 : [http. version 1, 0. copyright ©1994.fiche:verticillium dahlia.](http://www.fiche:verticilliumdahlia.com)

32- Anonyme. ; 2002 : cultiver l'avenir

Web :[www.aci.algerie.com](http://www.aci.algerie.com).

**Collection micro soft encarta :**

33- Anonyme .; 2004 : phytopathologie collection Microsoft Encarta 2004 .



### Résumé :

La flétrissure verticillienne est causée par le champignon *Verticillium dahlia*. Son développement atteint l'apogée au printemps et en automne où l'humidité et la température favorisent sa multiplication. Les plantes infectées présentent des symptômes qui se manifestent par un flétrissement avec un jaunissement, puis un brunissement des feuilles. Nous avons essayé des isolements et une purification du champignon à partir du sol et ce pour isoler l'agent causal de la maladie, puis nous avons étudié l'influence de certains facteurs physiques sur le développement du champignon (température, lumière et humidité). D'après notre expérience, les températures : 4°C, 37°C et 44°C, ne permettent pas du tout le développement du *V. dahlia*. Ce champignon préfère une humidité relative élevée 100% et l'obscurité totale.

**Mots clé :** flétrissure verticillienne, *Verticillium dahlia*, développement du champignon, isolement et purification.