

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 08 MAI 1945 GUELMA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA  
TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT D'E.G.E



## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Agronomique

Spécialité : Phytopathologie et Phytopharmacie

### Thème

---

## Caractérisation des souches de *Fusarium oxysporum* pathogène de la tomate

---

Présenté par : BENHAROUN Meryem,

HAMLAOUI Halima.

### Membres du jury:

Présidente : M<sup>me</sup>. CHAHAT Noura

Maître assistante (A).

Examinatrice : M<sup>elle</sup>. ALLIOUI Noura

Maître assistante (A).

Encadreur : M<sup>r</sup>. SIMOHAMMED Abdeslem

Maître assistante (B).

JUIN 2013



# Remerciement

*Nous tenons avant tout à remercier Dieu tout puissant de nous avoir la force, la patience et la volonté pour achever ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier particulièrement nos parents ; notre succès demeure de loin le fruit de Leurs longues années de sacrifices et d'éducation.*

*Nos remerciements vont également à notre promoteur: Monsieur «SI MOHAMMED» pour ces précieux conseils.*

*Nous remercions également tous les enseignants qui siègent à ce Jury, pour la critique qu'ils feront de notre travail ;*

- Madame «CHAHAT NOURA» qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*
- Madame «ALLIOVI NOURA» de nous avoir enseigné et honorer le jury.*

*Nous tenons à remercier toutes les techniciennes du laboratoire HAKIMA; HASSIBA; Wafa et NADJEH qu'elles nous ont toujours accueilli à bras ouverts et à tout moment, de nous avoir assistées le long de la réalisation du travail.*

*Enfin, nous voulons souligner les contributions efficaces de tous nos proches et Amis qui à des titres divers, nous ont aidés et soutenus, et toute notre promotion « phytopathologie et phytopharmacie » surtout les deux collègues FATIHA et FATINE.*

# Dédicace

*Je dédie ce travail :*

*A la prunelle de mes yeux, le déluge d'amour éternel et le sacrifice symbolique, celle qui m'a soutenu jour et nuit pour qu'elle me voie toujours au sommet et comme une étoile filante :*

*A toi ma chère mère.*

*A toi ma deuxième mère « NOURA » pour la confiance et l'espoir qu'elle a mis en moi.*

*A toute la famille « MAHDID », celle qui m'a donné la volonté, elle m'encourage et me soutient à tout moment.*

*A ma sœur et la bougie de mon parcours universitaire « HALIMA »*

*A Tous mes amis.*

*A tous ceux que j'aime.*

*Meriem*

Produced with ScanTopdf

# Dédicace

*Je dédie ce travail :*

*A vous mes chers parents, les sacrifices symbolique et le déluge d'amour  
pour ses précieux conseils et encouragements à tout moment.*

*A mon frères « TAQEY ELDDIN » qui m'avoit donné la volonté.*

*A ma petite sœur « SARA »*

*A toute la famille « HAMLAOUI » et « BENALLIOUI »*

*A ma sœurs et la bougie de mon parcours universitaire « MERIEM »*

*A Touts mes amis*

*A tous ceux que j'aime*

*Halima*

Produced with Scantopdf



## Sommaire

Liste des figures.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des abréviations.....	iii
Introduction.....	1
<b><u>Chapitre I : Étude bibliographique</u></b>	
<b>1. La plante hôte</b>	
1.1. Historique et origine de la tomate.....	3
1.2. Description botanique.....	3
1.2.1. Racine.....	3
1.2.2. Tige.....	3
1.2.3. Feuilles.....	4
1.2.4. Fleurs.....	4
1.2.5. Graines.....	4
1.2.6. Fruits.....	5
1.3. Position systématique de la tomate.....	5
1.4. La production de la tomate.....	8
1.4.1. Dans le monde.....	8
1.4.2. En Algérie.....	8
1.4.2.1. Zones de production de la tomate.....	9
1.5. La valeur nutritionnelle de la tomate.....	9
1.6. Problèmes phytosanitaires de la tomate.....	10
<b>2. La pathologie</b>	
2.1. La pathologie.....	11
2.2. Les symptômes.....	12
<b>3. Le pathogène</b>	
3.1. Généralité.....	14
3.2. La taxonomie du <i>Fusarium oxysporum</i> .....	14
3.3. Les <i>Fusarium oxysporum</i> phytopathogènes.....	15
3.4. Le cycle de vie.....	16
<b>4. L'antagoniste</b>	
4.1. Généralité.....	18
4.2. Intérêt de <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	18
4.2.1. Intérêt dans la lutte biologique.....	18

4.2.2 Les mécanismes biochimiques développés par les <i>pseudomonas fluorescens</i> dans la lutte biologique contre <i>fusarium oxysporum</i> .....	18
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Isolement de l'agent pathogène.....	20
1.1. L'échantillonnage.....	20
1.2. L'isolement.....	21
1.2.1. L'isolement à partir des fragments de tige et du collet.....	21
1.2.2. L'isolement à partir des racines.....	22
1.2.3. L'isolement à partir du sol.....	22
2. La purification.....	23
2.1. Le repiquage successif.....	23
2.2. La culture monospore.....	23
3. L'identification.....	25
3.1. L'étude macroscopique.....	25
3.2. L'étude microscopique.....	25
4. Le test du pouvoir pathogène.....	26
4.1. Principe.....	27
4.1. Le ré-isolement du pathogène.....	28
5- Essai de lutte biologique.....	30

## Chapitre III : Résultats et discussion

1. Caractérisation des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> .....	31
1.1. L'isolement.....	31
2. La purification.....	32
2.1. La culture monospore.....	32
3. L'étude macroscopique.....	33
4. L'étude microscopique.....	34
5. Le test du pouvoir pathogène.....	38
5.1. Le ré-isolement du pathogène.....	41
6- Essai de lutte biologique.....	43
Conclusion.....	44
Références bibliographiques.....	45

### Résumé

## Liste des figures

figure	Titre	Page
1	Les racines de la tomate.	6
2	La tige de la tomate qui porte des poils.	6
3	La feuille de la tomate.	6
4	La fleur de la tomate.	7
5	Les graines de la tomate.	7
6	Les différentes formes de fruits de tomate.	7
7	Jaunissement des feuilles.	12
8	Flétrissement des feuilles.	12
9	Dessèchement et mort des feuilles.	12
10	Brunissement longitudinal de la tige.	12
11	Brunissement des vaisseaux.	13
12	Pourriture du collet.	13
13	Brunissement du pivot.	13
14	Nécrose racinaire.	13
15	Cycle de vie du <i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i> .	17
16	Isolement à partir de la tige.	21
17	Isolement à partir des racines.	22
18	Les différentes dilutions effectuées à partir du sol.	23
19	La technique de culture monospore.	24
20	Technique d'identification CLA.	25
21	Plantule de tomate âgée de 30 jours.	26
22	Inoculation des plantules de tomate.	27
23	Transplantation des plantules de tomate inoculées.	28
24	Confrontation équidistante de <i>Fusarium oxysporum</i> et de <i>Pseudomonas fluorescens</i> par contact direct sur milieu GN.	30
25	Des filaments mycéliens autour des fragments des tiges.	31
26	Des filaments mycéliens autour des fragments des collets.	31
27	Des filaments mycéliens autour des fragments des racines.	31
28	Spores en germination.	32
29	Des cultures pures à partir des monospores.	32
30	Variabilité de la pigmentation du thalle.	33
31	Technique CLA après 10 jours d'incubation.	34
32	Mycélium cloisonné observé au microscope optique (40 X).	35
33	Microconidies isolées observé au microscope optique (40 X).	35
34	Microconidies en fausse tête observées au microscope optique (40 X).	36
35	Macroconidie observée au microscope optique (40 X).	36
36	Monophialide observé au microscope optique (40 X).	36
37	Chlamydospores intercalaires observées au microscope optique (40 X).	37
38	Chlamydospores terminales observées au microscope optique (40 X).	37
39	Symptômes de pourriture du système racinaire.	40
40	Ré-isolement du pathogène à partir du système racinaire.	41
41	Ré-isolement du pathogène à partir du collet et de la tige.	42
42	Complexe d'interaction entre bactérie <i>Pseudomonas fluorescens</i> et le champignon <i>fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici</i> cultivé sur GN.	43
43	Le témoin <i>fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici</i> cultivé sur GN.	43



## Liste des tableaux

tableau	Titre	Page
1	Production mondiale de la tomate en 2007	8
2	Les Principales maladies cryptogamiques de la tomate	10
3	Les symptômes de la flétrissure fusarienne et de la pourriture racinaire	11
4	Les sites de prélèvements des échantillons de sols	20
5	Les sites de prélèvements des échantillons de plantes	20
6	La notation des symptômes observés sur les plantules	29
7	Les régions de provenance des isolats	34
8	Les résultats du test du pouvoir pathogène	38

## Liste des abréviations

<b>ATB</b>	Anti biotique.
<b>CLA</b>	Carnation Leaf Agar.
<b>cm</b>	Centimeter.
<b>C°</b>	Degré Celsius.
<b>FOL</b>	<i>Fusarium oxysporum lycopersici</i> .
<b>FORL</b>	<i>Fusarium oxysporum radicum-lycopersici</i> .
<b>f.sp</b>	forme spéciale.
<b>g</b>	Gramme.
<b>GN</b>	Gélose Nutritive.
<b>h</b>	Heur.
<b>ha</b>	Hectare.
<b>I.N.R.A</b>	Instituts National des Recherches Agricole.
<b>kg</b>	kilogramme.
<b>m</b>	Mètre.
<b>mg</b>	Milligramme.
<b>ml</b>	Millilitre.
<b>NB</b>	Noté bien
<b>N°</b>	Numéro.
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar.
<b>µm</b>	Micromètre
<b>%</b>	Cent pour cent.

# Introduction

Produced with Scantopdf

La tomate est le légume fruit le plus consommé à travers le monde après la pomme de terre. Elle est cultivée sur une superficie de 3 millions d'hectares, ce qui représente près du tiers des surfaces mondiales consacrées aux légumes.

La filière de la tomate est en pleine expansion en Algérie grâce aux nombreux programmes mis en place par le ministère de l'agriculture et du développement rural, de nouvelles techniques de production sont introduites ces dernières années permettant plus de rendement à l'hectare (Brault, 2005).

Cependant, la culture de la tomate à l'image des autres cultures maraichère est confrontée à plusieurs facteurs limitatifs dont les plus importants sont : les pratiques culturales, les aléas climatiques, l'utilisation des variétés anciennes à faible rendement et les problèmes phytosanitaires qui représentent une très grande menace pour cette culture.

En effet la tomate peut être attaquée par un certain nombre d'agents pathogènes responsables de maladies fongiques qui affecte n'importe quel organe de la plante (tige, feuille, racine...), parmi ces agents pathogènes les espèces appartenant au genre *Fusarium*, dont l'une est ubiquiste nommée *Fusarium oxysporum* et présente dans tous les types de sols et sous différents climats (Burgess, 1981).

Ce microorganisme fait partie des champignons filamenteux appartenant à la famille des Tuberculariacées (groupe des Hyphomycètes) avec un mycélium aérien sur le milieu de culture potato-dextrose-agar (PDA) où il prend différentes couleurs allant du blanc au violet (Snyder et Hansen, 1940).

Les formes pathogènes montrent un très haut niveau de spécificité d'hôte et sont regroupées en formes spéciales (f.sp.) selon l'espèce végétale infectée (Armstrong et Armstrong, 1981).

Les souches appartenant de la forme spéciale *lycopersici* sont pathogènes pour la tomate alors que les souches de la forme spéciale *albedinis* sont pathogènes pour le palmier dattier, ces souches sont dites pathogènes car elles ont la capacité de croître au-delà du cortex et dans le xylème de la plante formant ainsi une association endophyte avec l'hôte.

Deux formes spéciales différentes sont spécifiques à la tomate : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) qui provoque des trachéomycoses vasculaires et *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Forl) qui engendre des pourritures racinaires. Dans les deux cas, la fusariose se traduit par un flétrissement de la plante pouvant aller jusqu'au dessèchement et mort des feuilles (Laterrot et al, 1988).



La lutte biologique par l'utilisation des micro-organismes contre la fusarioses est intéressante car les méthodes chimiques ne sont plus efficaces contre ces champignons, et les variétés résistantes ne sont plus disponibles (Hatting et al., 1986).

Dans la lutte contre *Fusarium oxysporum* (Barak et al. 1987) ont montré que l'apport des souches de *Pseudomonas* sp. dans le sol induisait une inhibition de 49,1 % de la germination des chlamydospores de *Fusarium oxysporum*.

Notre travail pratique consiste à :

- Isoler l'agent fongique à partir de plants de tomate montrant les symptômes de la fusariose et à partir de la rhizosphère de ces dernières cela dans différentes régions Algériennes ;
- Purifier les isolats afin d'obtenir des cultures pures pour pouvoir les identifier ;
- Mettre en évidence leur pouvoir pathogène par un test biologique miniaturisé sur plantules de tomate et distinguer la forme spéciale ;
- Essai d'un moyen de lutte biologique vis-à-vis des isolats *Fusarium oxysporum* pathogènes en utilisant *Pseudomonas fluorescens* isolée à partir du sol.

# **Chapitre I :**

# **Étude bibliographique**

Produced with ScantOPDF

## 1.1. Historique et origine de la tomate :

La tomate est originaire des Andes d'Amérique du Sud. Elle fut domestiquée au Mexique, puis introduite en Europe en 1544. Sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est, en Afrique et en Moyen Orient.

Parmi les noms communs utilisés pour désigner la tomate citons les noms suivants: tomate (Espagnol, Français), tomat (Indonésien), faan ke'e (Chinois), tomati (Afrique de l'Ouest), tomañl (Nahuatl, langue indigène du Mexique), jitomate (Espagnol mexicain), pomodoro (Italien), Nyanya (Swahili) (Naika *et al.*, 2005).

La tomate est une des cultures les plus répandues à travers le monde. C'est une source importante de vitamines ainsi qu'une culture de rente importante pour les petits exploitants et pour les agriculteurs qui ont une exploitation moyenne [1].

## 1.2. Description botanique :

La tomate est une plante herbacée sensible au froid, vivace sous climat chaud, généralement cultivée comme annuelle, qui peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres. Il est possible de récolter d'une même plante pendant plusieurs années d'affilée. La première cueillette peut avoir lieu 45 à 55 jours après la floraison, ou 90 à 120 jours après semis. La forme des fruits varie selon le cultivar, la couleur aussi varie dans la gamme du jaune au rouge (Chaux et Foury, 1994).

### 1.2.1. Racine :

La tomate a un système racinaire important. De nombreuses racines primaires, secondaires, tertiaires prennent naissance sur un pivot puissant (voir figure 01).

Les racines peuvent atteindre 85 à 90 cm de long, mais les principales racines nourricières se rencontrent entre 25 et 35 cm de profondeur [2].

### 1.2.2. Tige :

Il n'y a qu'une tige par pied mais cette tige peut se ramifier un grand nombre de fois et donne à la plante un aspect buissonnant. Les tiges sont vertes pourvues de poils blanchâtres (voir figure 02). La tige pousse jusqu'à une longueur de 2 m.

On distingue deux grandes catégories de tiges :

- Les tiges à croissance déterminée : leur croissance s'arrête après avoir émis un nombre variable de bouquets de fleurs. Elles donnent des pieds qui ont 60 à 80 cm de hauteur (cultures industrielles).

- Les tiges à croissance indéterminée : leur croissance ne s'arrête pas tant que la condition écologique est favorable. Elles donnent des pieds atteignant 1,40 à 1,60 m et parfois plus. De telles variétés demandent à être palissées [2].

### 1.2.3. Feuilles :

Suivant les variétés, elles sont plus ou moins découpées et composées (voir figure 03). Certaines variétés ont des feuilles non découpées, mais la plupart comprennent un certain nombre de paires de folioles (souvent trois) et une foliole terminale.

Les folioles sont insérées sur le pétiole de la feuille par l'intermédiaire de petites ramifications.

Les feuilles sont vertes, poilues et ont une odeur forte lorsqu'on les froisse. Au point d'insertion du pétiole sur la tige on trouve un bourgeon qui donne souvent naissance à une nouvelle ramification [2].

### 1.2.4. Fleurs :

Bisexuées, elles sont jaunes, généralement hermaphrodites et ont environ 3 cm de large, et se composent :

- D'un calice formé par 5 sépales verts.
- D'une corolle formée par 5 pétales jaunes soudés par leur base.
- De 5 étamines dont les anthères forment un manchon autour du style de l'ovaire.
- D'un ovaire possédant un nombre variable de loges, suivant les variétés.

L'ovaire est surmonté par un style qui porte un stigmate (voir figure 04).

En principe, il y a autofécondation, mais le pourcentage de pollinisation croisée augmente avec le nombre des insectes pollinisateurs. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu. Les abeilles et les bourdons sont les principaux pollinisateurs [2].

### 1.2.5. Graines :

Sont enveloppées d'un mucilage, qui renferme à maturité un embryon et un albumen. Elles sont aplaties, petites, de forme plus ou moins lenticulaire, grisâtres ou beiges (voir figure 05).

Ces graines ont une longévité de quatre à cinq ans. Un gramme de graines comprend de 300 à 400 graines (Toussaint et Baudoin, 2010).



### 1.2.6. Fruits :

Ce sont des baies plus ou moins volumineuses, charnue, à peau lisse. La tomate est constituée par un certain nombre de loges qui détermine sa forme. Le nombre de loges dépend de la variété. Les tomates sont les plus souvent rouges, mais il existe des variétés à fruits jaunes ou violacés et parfois même blancs (voir figure-06).

En culture on distingue deux grandes catégories de couleur de fruit :

- Les fruits à collet vert, pour les quels il reste des tâches vertes autour du point d'insertion du pédoncule, le reste du fruit étant rouge.
- Les fruits de couleur uniforme.

La grosseur des tomates varie avec la richesse du sol, la température, et le nombre de fruits portés par le pied. En moyenne, les tomates pèsent de 60 à 200 grammes. Certains fruits atteignent 300 grammes [2].

### 1.3. Position systématique de la tomate :

La tomate est scientifiquement nommée *Lycopersicon esculentum* ; *Lycopersicon* est un composite greco-latin de « pêches de loup » et le nom de l'espèce *esculentum* signifie comestible en latin (Toussaint et Baudoin, 2010).

- Règne : *Plantae*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Asteridae*
- Ordre : *Solanales*
- Famille : *Solanaceae*
- Genre : *Solanum*
- Espèce : *Solanum lycopersicum* MILL

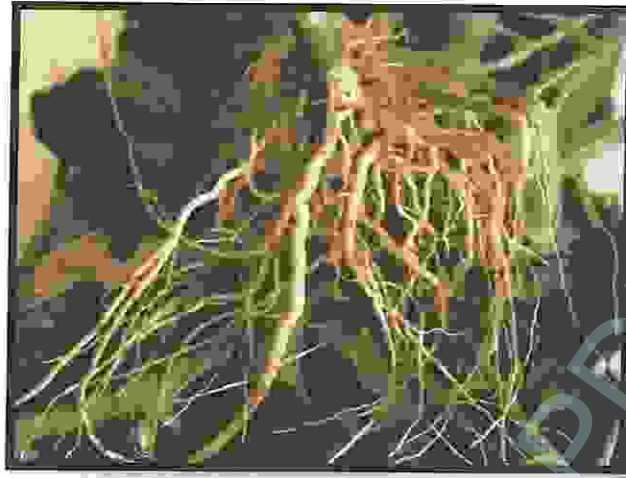


Figure 1 : Les racines de la tomate [3].

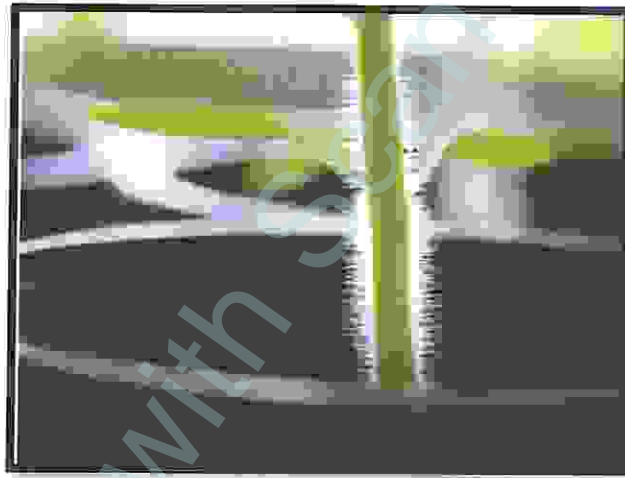


Figure 2 : La tige de la tomate qui porte des poils [4].



Figure 3 : La feuille de la tomate [5].



Figure 4 : La fleur de la tomate [6].

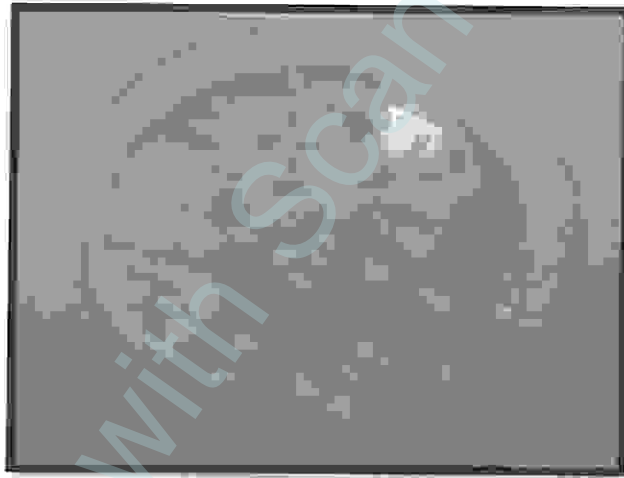


Figure 5 : Les graines de la tomate.

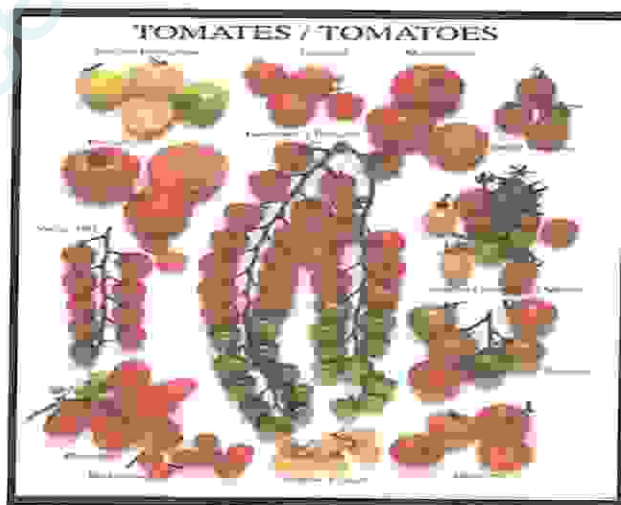


Figure 6 : Les différentes formes de fruits de tomate [7].

## 1.4. La production de la tomate :

### 1.4.1. Dans le monde :

En 2008, la tomate est cultivée dans 170 pays. Sa culture a représenté plus de 5 millions d'hectares. Avec plus de 129 millions de tonnes, la tomate est le premier légume produit dans le monde. On distingue la tomate pour la consommation en frais et celle pour la transformation (concentré, jus, ketchup, tomate pelée, tomate concassée, pâte, poudre, etc.). La Chine est le premier producteur mondial avec 39 millions de tonnes, dont près de 20 % sont destinés à l'industrie (Ziri, 2010).

Les échanges de tomates représentent plus de 17% du commerce mondial de fruits et légumes frais. En effet, environ 4 millions de tonnes de tomates sont respectivement importées et exportées dans le monde chaque année (Desmas, 2005).

Selon les statistiques de l'organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale de tomates en 2007 est résumée dans le tableau N°01

**Tableau n°1 : Production mondiale de la tomate en 2007 (FAO STAT 2007).**

pays	Production (10 <sup>3</sup> tonne)	(%)	pays	Production (10 <sup>3</sup> tonne)	(%)
Monde	124875	100	Ouzbékistan	1317	01,05
Chine	31644	25,34	Maroc	1206	00,96
Usa	11043	08,84	Portugal	1085	00,86
Turquie	10050	08,04	Nigeria	1057	00,84
Inde	8586	06,87	Algérie	1023	00,81
Egypte	7600	06,08	Syrie	946	00,75
Italie	7187	05,75	canada	839	00,67
Iran	4781	03,82	cuba	803	00,64
Espagne	4651	03,72	France	790	00,63
Brésil	3453	02,76	japon	758	00,60
Mexique	2800	02,24	Argentine	660	00,52
Fédération Russie	2296	01,83	Hollande	660	00,52
Grèce	1712	01,37	Roumanie	627	00,50
Ukraine	1472	01,17	Autre	14869	12,06
Tunisie	960	00,76			

### 1.4.2. En Algérie :

La culture de la tomate occupe une place très importante dans l'agriculture algérienne, elle occupe des superficies en nette progression ces dernières années.

#### 1.4.2.1. Zones de production de la tomate :

Les principales zones de culture de tomate en Algérie sont les plaines littorales, les plaines sublittorales et les oasis.



La zone principale de culture de cette espèce se situe au niveau de 3 wilayas du Nord-est du pays. Ces 3 wilayas de l'Est occupent plus de 80 % de la superficie totale, il s'agit de la wilaya de Skikda, El-taraf et Annaba, le reste est réparti entre : les wilayas du centre (Boumerdes et Chlef) avec 7 % de superficie, les wilayas de l'ouest (Mostaganem, Relizane et Mascara) avec 3 % de superficie, et les oasis de wilaya d'Adrar et Biskra.

La superficie totale cultivée en tomate industrielle est de 11 699.25 hectares, la production atteint 3 823 129 quintaux pour un rendement de 327.1 quintaux à l'hectare pour l'année 2009 (Anonyme, 2010).

### **1.5. La valeur nutritionnelle de la tomate :**

La tomate est cultivée pour ses fruits qui sont très recherchés. Elle joue dans l'alimentation un rôle important. La consommation des fruits de la tomate contribue à un régime sain et équilibré.

Les fruits sont riches en minéraux, en vitamines, en acides aminés essentiels, en sucres ainsi qu'en fibres alimentaires. La tomate contient beaucoup de vitamines B et C, de fer et de phosphore. Les tomates se consomment fraîches en salade ou cuites dans des sauces, des soupes ou des plats de viande ou de poisson. Il est possible de les transformer en purée, en jus et en ketchup. Les fruits séchés et les fruits mis en conserve sont des produits transformés qui ont également une importance économique.

Les tomates jaunes ont une teneur en vitamine A plus élevée que les tomates rouges, mais les tomates rouges contiennent du lycopène, un anti-oxydant qui contribue possiblement à la protection vis-à-vis des substances carcinogène [1].

### **1.6. Problèmes phytosanitaires de la tomate :**

De la levée et pratiquement jusqu'à la récolte, les cultures de la tomate sont sujettes à de nombreuses maladies causées par divers agents pathogènes tels que les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les insectes etc... (Causse et al, 2000).

Les maladies dite fongiques (causées par les champignons) sont les plus fréquentes (voir tableau 02), une infection fongique est souvent causée par des spores qui y ont germé puis ont pénétré les tissus de la plante par le biais des stomates, des blessures ou parfois même directement à travers la peau de la plante.

Les filaments mycéliens se développent dans les tissus, en tirent les éléments nutritifs et ils y exsudent des substances toxiques pour la plantes. Les effets nocifs des moisissures se limitent à la zone contaminée mais il existe des sortes de moisissures qui peuvent envahir

les tissus vasculaires des plantes et peuvent se propager à partir de là dans toute la plante c'est le cas des *Fusarium oxysporum* (Naika et al., 2005).

**Tableau 02 :** les principales des maladies cryptogamique de la tomate.  
(Cuasse, 2000; Naika et al., 2005).

La maladie	Agent causal	Symptômes
Anthraxnose	<i>Colletotrichum coccodes</i>	-Tâches plus ou moins circulaires de 1 cm avec un centre noirâtre sur les fruits mûrs.
Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	-Légères tâches foncées avec un point jaune en leur centre sont visibles sur les feuilles ayant parfois un développement centrifuge et centripète ; -Sur la face inférieure des feuilles les tâches sont blanches ; -Les fruits se couvrent de tâches brunes et les feuilles flétrissent.
Alternariose	<i>Alternaria solani</i>	-Tâches rondes et brunes avec des cercles concentriques apparaissant sur les feuilles avec un diamètre de 1,5 cm ; -Des grosseurs peuvent apparaître sur les tiges et les feuilles ; -Les fleurs et les jeunes fruits tombent.
Flétrissure fusarienne	<i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i>	-Jaunissement des feuilles de bas en haut, apparition de racines avortées au bas de la tige ; -Tissus ligneux brun rougeâtre.
Pourriture des racines et du collet	<i>Fusarium oxysporum f.sp radicis-lycopersici</i>	-Brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet ; Flétrissement juste avant la cueillette ; -Les feuilles hautes fanent avant les feuilles ; basses avec une décoloration jaune ou dorée ; -Les fruits n'ont pas leur brillance normale.
Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i>	-Apparition de taches brunâtres accompagnées d'un duvet grisâtre sur feuillage et tiges ; -Pourriture molle grise sur fruits et chute de fleurs et fruits ; à température assez basse, développement d'un feutrage gris sur feuilles, plaies de taille ou organes étiolés.
Oïdium	<i>Leveillula taurica</i>	-Apparition de taches jaunes sur la face supérieure des feuilles, et d'un duvet blanc sur la face inférieure, Après jaunissement des feuilles, elles se dessèchent et tombent ; -Une malnutrition minérale accentue la maladie.



## 2.1. La pathologie :

La tomate peut être victime de deux maladies fusariennes différentes soit la flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*) causée par *Fusarium oxysporum lycopersici* abrégée FOL, soit la pourriture de la racine et du collet (*Fusarium crown and root rot*) causée par *Fusarium oxysporum radicis-lycopersici* abrégée FORL.

Les fusarioses vasculaires sont parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, dont les symptômes sont divers et peuvent toucher l'ensemble de la plante à n'importe quel stade de sa croissance [8].

La maladie se développe plus rapidement dans les sols qui sont riches en azote et pauvre en potassium. En outre, les plantes cultivées dans des sols sableux ont tendance à contracter cette maladie le plus souvent.

C'est une maladie provoquée par un champignon du genre *Fusarium*. Celui-ci résiste à l'hiver et peut se retrouver dans des graines contaminées ou dans les résidus végétaux d'une ancienne culture. Le champignon s'attaque aux racines et au système vasculaire de la plante, le feuillage se dessèche, jaunit, et la plante meurt par déshydratation [9].

## 2.2. Les symptômes :

La flétrissure fusarienne et la pourriture des racines et du collet présentent différents symptômes internes ou externes sur les différentes parties de la plante et pendant les différents stades de vie, ces derniers sont indiqués dans le tableau N°03.

Tableau 03 : Les symptômes de la flétrissure fusarienne et de la pourriture racinaire.

La maladie	Agent pathogène	Les symptômes externes	Les symptômes internes
<b>La flétrissure fusarienne</b> <i>(Fusarium wilt)</i> (voir figure 7,8,9,10,11)	<i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i> <i>(Fol)</i> (Walker, 1971)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Flétrissement des feuilles ;</li> <li>- Dessèchement et mort des feuilles ;</li> <li>- Brunissement longitudinal de la tige et des vaisseaux.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Une coupe longitudinale réalisée dans certaines racines et dans le pivot révèle un brunissement du xylème ;</li> <li>- Des coupes transversales laissent révéler des tissus bruns foncés contenant souvent des fragments mycéliens.</li> </ul>
<b>La pourriture racinaire</b> <i>(Fusarium crown and root rot)</i> (voir figure 12,13,14)	<i>Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici</i> <i>(Forl)</i> (Jarvis et Shoemaker, 1978)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Système racinaire, brun et pourri, vaisseaux brun dans les parties basses de la tige ;</li> <li>- Brunissement des vaisseaux, des tissus corticaux, du pivot et du collet ;</li> <li>- Nécrose racinaire ;</li> <li>- Nécrose et dessèchement des folioles et des feuilles.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Le cylindre central des grosses racines révèle des brunissements assez marqués ;</li> <li>- Le brunissement peut s'étendre jusqu'à la tige sur plusieurs dizaines de centimètres au-dessus du collet.</li> </ul>

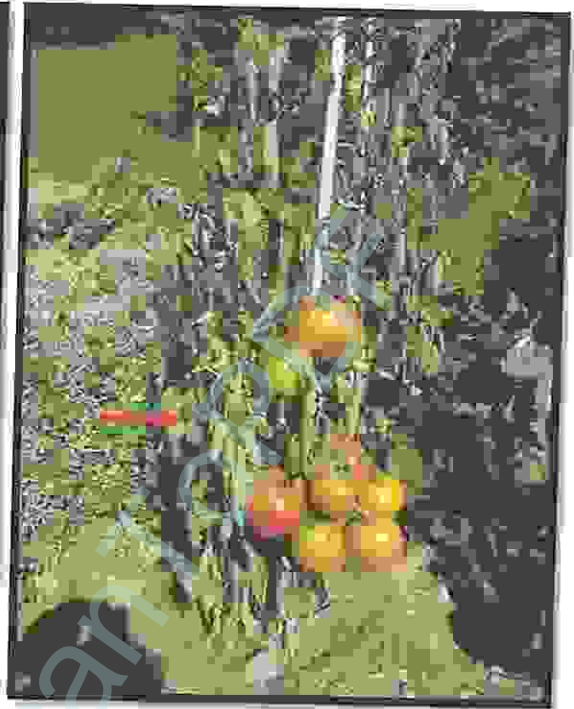


Figure 07 : Jaunissement des feuilles [10]. Figure 08 : Flétrissement des feuilles [10].



Figure 09 : Dessèchement et mort des feuilles [10].

Figure 10 : Brunissement longitudinal de la tige (Si mohammed ,2010).

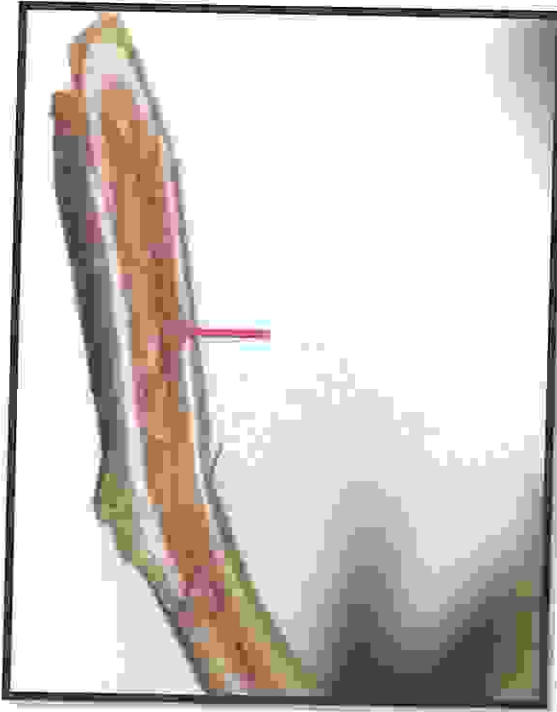


Figure 11 : Brunissement des vaisseaux (Agrios, 2005).

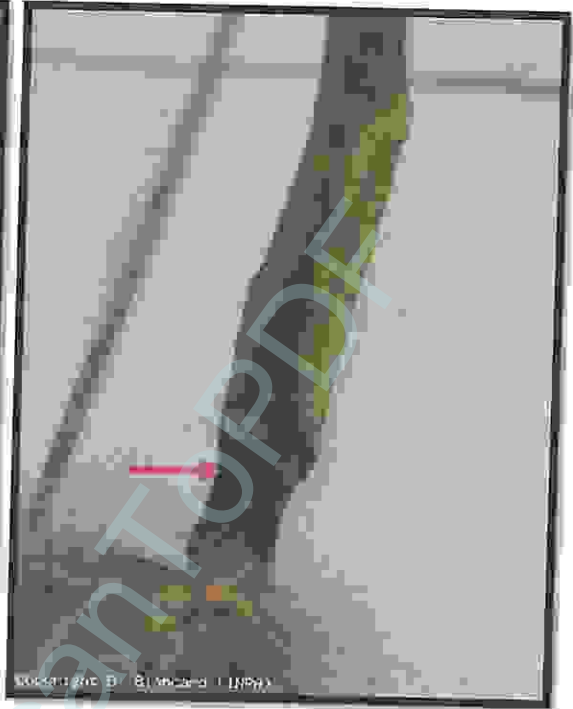


Figure 12 : Pourriture du collet [11].



Figure 13 : Brunissement du pivot (Agrios, 2005).

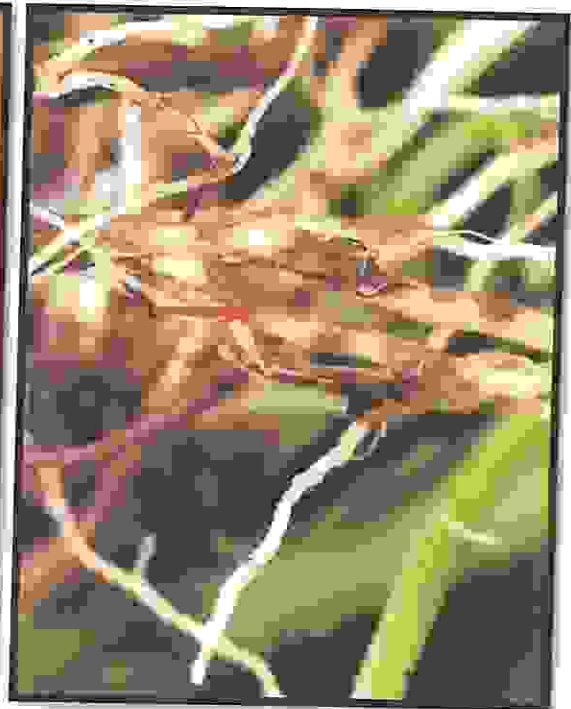


Figure 14 : Nécrose racinaire (Blancard, 1997).



### 3.1. Généralité :

Le genre *Fusarium* est bien connu pour son rôle important en phytopathologie, ce dernier regroupe un grand nombre d'espèces (Messiaen et Cassini, 1968).

Les espèces de *Fusarium oxysporum* se caractérisent par une large gamme de plantes hôtes et la plupart des souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* envahissent le système vasculaire de ces plantes et présentent une spécificité parasitaire, c'est-à-dire que l'espèce ne peut attaquer qu'un hôte déterminé (Ozenda, 1990).

### 3.2. La taxonomie du *Fusarium oxysporum* :

Parmi les champignons, agents de maladies vasculaires, ceux appartenant au genre *Fusarium* sont les plus fréquents et les plus dommageables pour les cultures (Bounaga, 1985).

Une espèce tellurique, ubiquiste nommée *Fusarium oxysporum* est retrouvée dans tous les types de sols (Burgess, 1981). Ce champignon filamenteux décrit par Snyder et Hansen en 1940, appartient à la famille des Tuberculariacées (classe des Hyphomycètes).

La classification du genre fut basée essentiellement sur :

- Les caractères cultureux (aspect du mycélium aérien, pigmentation des thalles);
- Les caractéristiques des spores (forme, taille, septations,.....) et des organes sur lesquels elles sont formées (Bouhot, 1981);
- Les caractéristiques des organes fructifères qui donnent éventuellement naissance aux spores (sporodochies et pionnotes);
- La présence ou l'absence de sclérotés.

L'espèce se distingue par la production de microconidies rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courts (Burgess et Liddell, 1983). Seule la reproduction asexuée est connue chez cette espèce, ce qui la place dans le groupe des deutéromycètes (champignons imparfaits).

En fait, *Fusarium oxysporum* est un des deutéromycètes telluriques appartenant à la classe des hyphomycètes et à la famille des Tuberculariacées.

Par ailleurs, certaines espèces de *Fusarium* possèdent une forme parfaite (Hyphomyces, Gibberella, Nectaria, Calonectaria).

L'identification des espèces de *Fusarium* est assez difficile, elle est basée sur la morphologie des spores asexuées (Fisher *et al.*, 1982).

Les microconidies : *Fusarium oxysporum* est caractérisé par la présence abondante de microconidies fusiformes à réniformes (Tivoli, 1988), présentant 0 à 2 septa, agglomérés en fausses têtes produites par de petits phialides (5-12 x 2,2-3,5µm).

Des observations microscopiques ont montré qu'une population de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* est constituée de plusieurs propagules dont les microconidies à elles seules constituent plus de 90% de cette population (Tello- Marquina et Alabouvette, 1984).

Les macroconidies : légèrement arquées, présentant 3 à 4 septa, la cellule basale pédicellée, la cellule apicale en crochet, produite par des phialides sur des conidiophores ramifiés ou en sporodochie (27-46 x 3-4,5 µm) (Messiaen et Cassini, 1968).

Les chlamydospores : hyalines, lisses ou rugueuses, globuleuses, terminales ou intercalaires (5-15µm de diamètre) (Komi, 1993).

Les chlamydospores sont des organes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région (article du mycélium ou conidie) qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée (Nelson *et al.*, 1983). Après trois semaines de culture, de nombreuses chlamydospores intercalaires apparaissent sur le mycélium (Tivoli, 1988).

### **3.3. Les *Fusarium oxysporum* phytopathogènes :**

Ce champignon a la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales cultivées, d'intérêt économique (Armstrong et Armstrong, 1981).

En effet, certaines souches de *Fusarium oxysporum* sont dites pathogènes et engendrent des Fusarioses (trachéomyose, nécrose, fonte de semis) sur des plantes hôtes.

Ces souches pathogènes ont une grande spécificité d'hôte et sont ainsi regroupées en formes spéciales (Armstrong et Armstrong, 1981). D'autres souches sont dites non pathogènes car leur effet pathogène n'a pas encore été observé chez aucune espèce végétale.

Les *Fusarium oxysporum* comprennent un ensemble très diversifié de formes plus ou moins spécialisées (Dommergues et Mangenot, 1970). Cette forme spéciale (forma specialis, f.sp) présente une virulence particulière pour telle ou telle plante (Snyder et Hansen, 1945).

Les formes spécialisées de *Fusarium oxysporum* s'attaquent à la plupart des plantes cultivées mono et dicotylédones (El Modafar, 1994).

Certaines formes spéciales ne présentent plus de réel problème agronomique, c'est le cas de la forme spéciale *lycopersici*, pour laquelle la plupart des variétés de tomate cultivées sont résistantes, des variétés sensibles sont toujours cultivées dans de nombreux pays, notamment en Afrique du Nord comme l'Algérie où, pour des raisons économiques, ces variétés sont utilisées. Par contre, il existe toujours des problèmes causés par

*Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici*, responsable de pourriture racinaire sur la tomate dans de nombreux pays du bassin méditerranéen (si mohammed, 2010).

Néanmoins, il existe certaines souches dites non pathogènes, c'est-à-dire qu'elles n'ont pas de pouvoir pathogène connu ou ne sont pas pathogènes pour l'espèce végétale considérée.

### **3.4. Le cycle de vie : (voir Figure 15)**

Les *Fusarium oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques. Les isollements effectués indiquent qu'un gramme de sol renferme près de 100.000 propagules (Smith, 1965) et les *Fusarium oxysporum* représentent 40-70% de la population fusarienne totale.

Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance (chlamydospores) en état de dormance (Booth, 1971). En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines.

Après pénétration dans la cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisent ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent à l'intérieur des cellules puis colonisent le cortex, arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante.

A la surface des feuilles, se forment des organes fructifères appelés sporodochies qui produisent des macroconidies qui vont à leur tour contaminer d'autres plantes lorsqu'elles sont transportées par le vent, par l'eau ou bien par l'intermédiaire des insectes (El Mahdjoub et al., 1984).



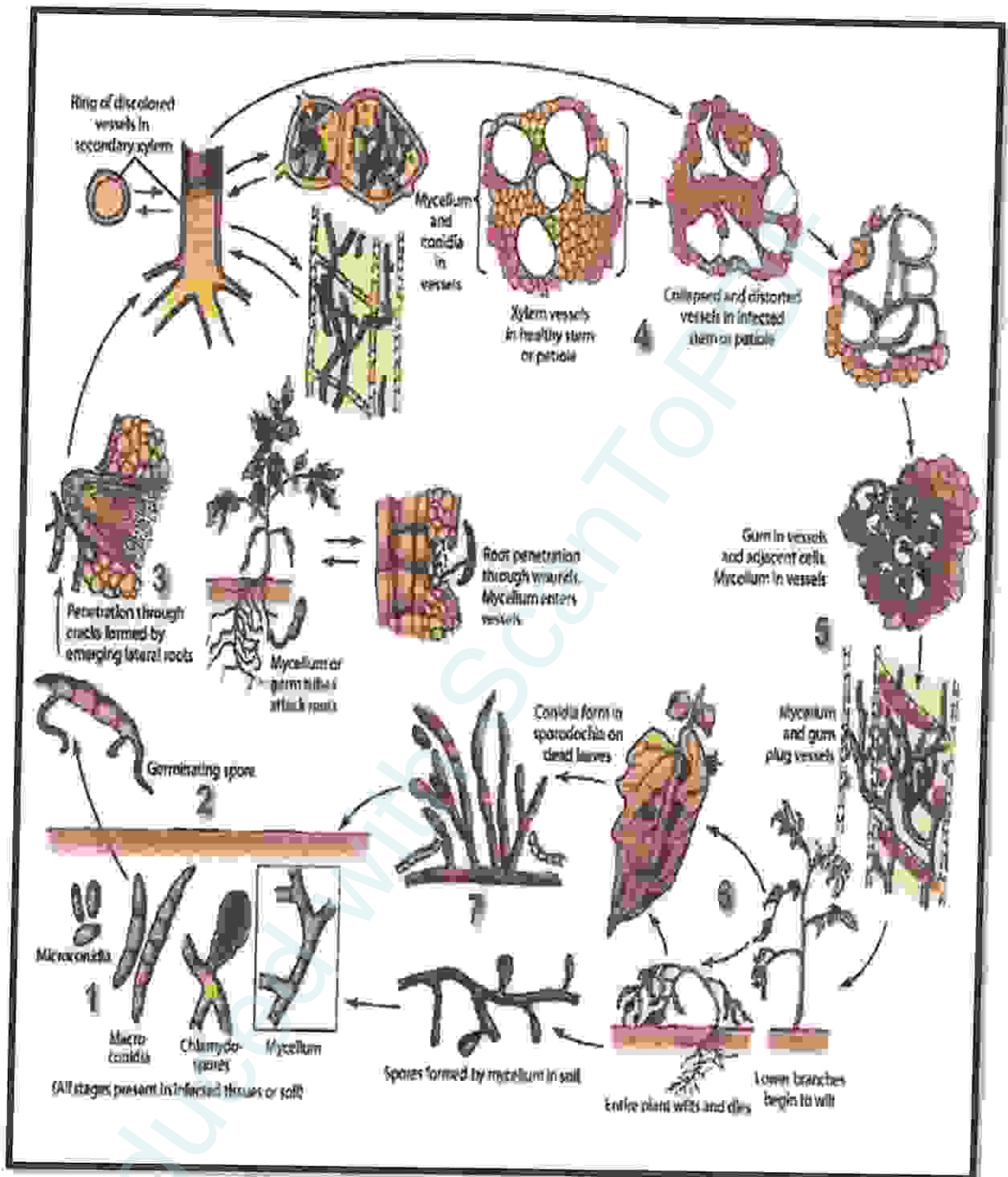


Figure 15 : Cycle de vie du *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* (Agris, 2005).

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

#### 4.1. Généralité :

Les bactéries du genre *Pseudomonas* dont l'espèce *Pseudomonas fluorescens* fait partie des bactéries dont l'effet antagoniste vis-à-vis des phytopathogènes a été sujet de plusieurs études.

*Pseudomonas fluorescens* est une bactérie à Gram négatif, oxydase positive, en forme de bâtonnet. C'est un organisme aérobie obligatoire, à l'exception de certaines pouvant utiliser le  $\text{NO}_3$  comme accepteur d'électrons. Elle est mobile grâce à ses multiples flagelles polaires.

La fluorescence de *Pseudomonas fluorescens* est due à la production d'un pigment appelé fluorescéine. Sa température de croissance optimale se situe entre 25 et 30 °C. Sa croissance à 42 °C est négative. Elle est retrouvée naturellement dans le sol (Palleroni, 1984).

#### 4.2. Intérêt de *Pseudomonas fluorescens* :

##### 4.2.1. Intérêt dans la lutte biologique :

De nombreuses souches de bactéries *Pseudomonas fluorescens* sont capables de supprimer une gamme de maladies comme les fontes de semis, les pourritures de racines et les fusarioses causées par des champignons telluriques pathogènes des plantes ex : *Fusarium oxysporum*.

Ces *Pseudomonas fluorescens* sont des agents potentiels de lutte biologique en raison de leur capacité de biosynthèse de métabolites antimicrobiens ayant un effet inhibiteur direct sur le développement des champignons phytopathogènes [12].

##### 4.2.2. Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas fluorescens* dans la lutte biologique contre *Fusarium oxysporum* :

Ces bactéries doivent avant tout coloniser la rhizosphère concernée. Cette colonisation implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une adsorption des micro-organismes et enfin une compétition pour les substrats nutritifs présents. Cette colonisation peut entraîner une occupation des sites suffisantes pour empêcher la croissance d'autres micro-organismes, dont les pathogènes.

Les *Pseudomonas* sont également en mesure d'excréter des molécules qui inhibent la croissance des phytopathogènes. Les substances les plus étudiées sont, d'une part, les antibiotiques tels que la pyrrolnitrine, la pyolutéorine, les dérivés de la phénazine, l'oomycine A et d'autre part les sidérophores, molécules chélatrices du fer servant de transporteurs de l'ion ferrique à l'intérieur de la cellule microbienne. La production de ces sidérophores dans des conditions de carence en fer pourrait rendre l'ion ferrique inaccessible aux autres micro-organismes.



D'autres métabolites produits par les *Pseudomonas fluorescens* peuvent également interférer avec la croissance des phytopathogènes, il s'agit d'enzymes mycolytiques, de l'acide cyanhydrique ou de l'ammoniaque.

Enfin, les *Pseudomonas fluorescens* peuvent augmenter la résistance des cellules de la plante aux attaques des micro-organismes, soit en augmentant la disponibilité de certains ions, tel le manganèse, soit encore en stimulant la production par la plante de phytoalexines toxiques vis-à-vis du pathogène [13].

Produced with ScanTOPDF

# Chapitre II :

# Matériels et méthodes

## 1. Isolement de l'agent pathogène:

### 1.1. L'échantillonnage :

Des échantillons de sols ont été prélevés dans les deux régions d'Annaba et d'El-Oued durant la campagne 2012/2013. Les sites de prélèvements des échantillons sont indiqués dans le tableau N° 04.

**Tableau 04 :** Les sites de prélèvements des échantillons de sols.

Régions	Sites de prélèvements	Précédant cultural	Date de prélèvements
Annaba	El-hedjar	Tomate variété ROMA	18 février 2013
El-Oued	BOUH'MIDE	Tomate variété FAHLA	16 décembre 2012

Des échantillons de plantes de tomate atteintes de fusariose ont été aussi prélevés dans de deux régions de l'ouest et le sud-est Algérien. Les sites de prélèvements des échantillons sont indiqués dans le tableau N° 05.

**Tableau 05 :** Les sites de prélèvements des échantillons de plantes.

Régions	Sites de prélèvements	Précédant cultural	Date de prélèvements
Ain Temouchent	Ouled ETTAOUI	Tomate variété CASTLONG	04 février 2013
El-Oued	BOUH'MIDE	Tomate variété FAHLA	03 mars 2013

## 1.2. L'isolement :

### 1.2.1. L'isolement à partir des fragments de tige et du collet : (voir figure 16)

La technique consiste d'abord à couper transversalement la tige en petits fragments, les rincer à l'eau distillée, les mettre dans l'hypochlorite de sodium (eau de javel) à 5% pendant trois minutes pour une désinfection superficielle et afin d'éliminer les saprophytes, puis les rincer de nouveau avec de l'eau distillée stérile pour éliminer les traces d'eau de javel.

Après rinçage, les fragments sont coupés longitudinalement puis trempés dans l'alcool éthylique à 90% pendant trois minutes pour la fixation.

A la fin, 2 à 4 fragments sont mis dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA + ATB (Streptomycine et chloramphénicol à raison de 20 mg/100 ml) pour minimiser la contamination, ces dernières sont incubées à 28°C pendant une semaine (Rapilly, 1968).

**N.B :** en utilise la même méthode pour l'isolement à partir des fragments de collet.

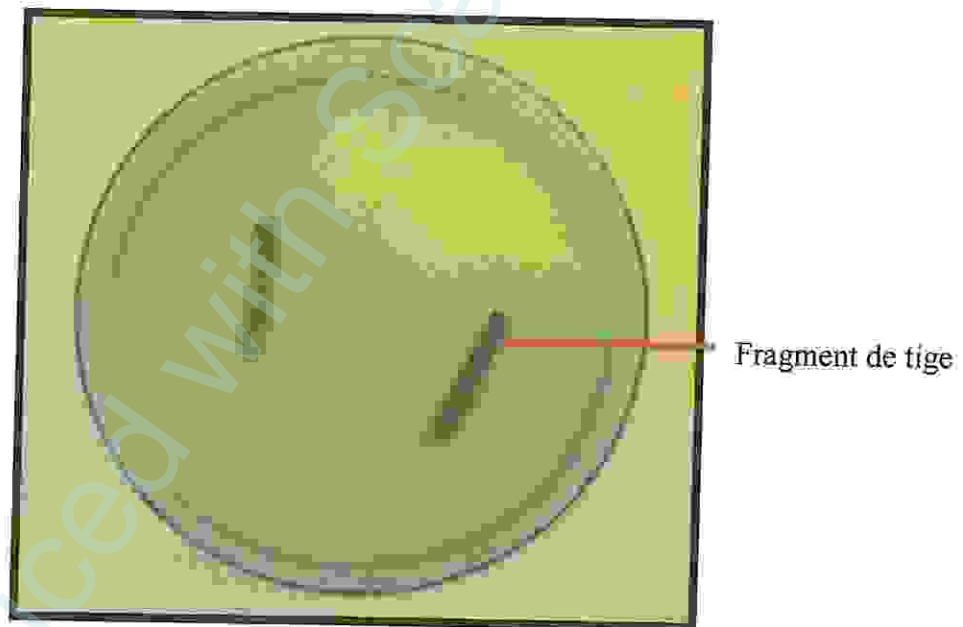


Figure 16 : Isolement à partir de la tige.

### 1.2.2. L'isolement à partir des racines : (voir figure 17)

En premier lieu, les racines sont coupées en petits fragments, rincées à l'eau distillée puis désinfectées à l'hypochlorite de sodium.

Après un rinçage à l'eau distillée stérile, les racines sont coupées longitudinalement puis trempées dans l'alcool éthylique à 90%.

Les fragments de racines sont déposés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA + ATB (Streptomycine et chloramphénicol à raison de 20 mg/100 ml), ces dernières sont incubées à 28°C pendant une semaine (Davet et Rouxel, 1997).

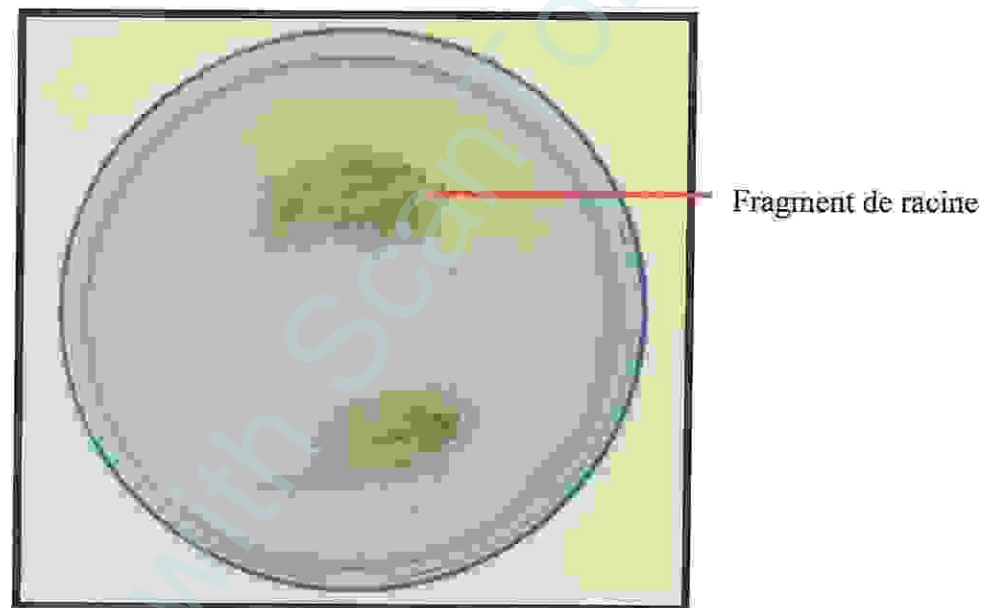


Figure 17 : Isolement à partir des racines.

### 1.2.3. L'isolement à partir du sol :

La technique directe a été utilisée de notre travail, cette dernière consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau distillée stérile (1 g de sol dans 9 ml d'eau distillée stérile) après agitation, on obtient une solution qui représente la dilution  $10^{-1}$ , des prélèvements de 1ml sont effectués et introduits dans des tubes contenant 9 ml d'eau distillée stérile jusqu'à obtention de la dilution  $10^{-4}$  (voir figure 18).

Une fois les deux dernière dilutions obtenues, 1 ml de chacune est versé dans une boîte de Pétri contenant du milieu PDA à raison de 2 boîtes pour chaque dilution.

Après homogénéisation, les boîtes de Pétri sont mises à incuber à 28°C pendant 3 jours (Rapilly, 1968).





Figure 18 : Les différentes dilutions effectuées à partir du sol.

## 2. La purification :

### 2.1. Le replaquage successif :

Après une semaine d'incubation, des filaments mycéliens apparaissent autour des petits fragments des tiges et des racines.

A partir de là, nous procédons alors à la recherche du *Fusarium*.

Après une identification primaire, nous effectuons des repiquages successifs dans de nouvelles boîte de Pétri contenant du milieu PDA + ATB (Streptomycine et chloramphénicol à raison de 20 mg/100 ml) pour obtenir des cultures plus ou moins pures.

Néanmoins, les cultures obtenues risquent d'être contaminées par des bactéries et par des champignons qui sont parfois invisibles et afin d'éviter ce risque, le procédé le plus simple et le plus sûr reste celui de la culture monospore (Rappily, 1968).

### 2.2. La culture monospore :

La technique de la culture monospore (voir figure 19) permet d'obtenir une culture pure à partir des spores fongiques par étalement sur un milieu gélosé à 2%.

Dans un premier temps, repiquer la souche à monosporer dans une boîte contenant du milieu PDA et la laisser se développer sur la totalité de la surface de la boîte pendant 5 à 6 jours.

Prélever un explant à partir de la périphérie de la boîte et l'introduire dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile, après agitation, on obtient une suspension sporale.

On effectue des dilutions au dixième à partir de la suspension sporale :

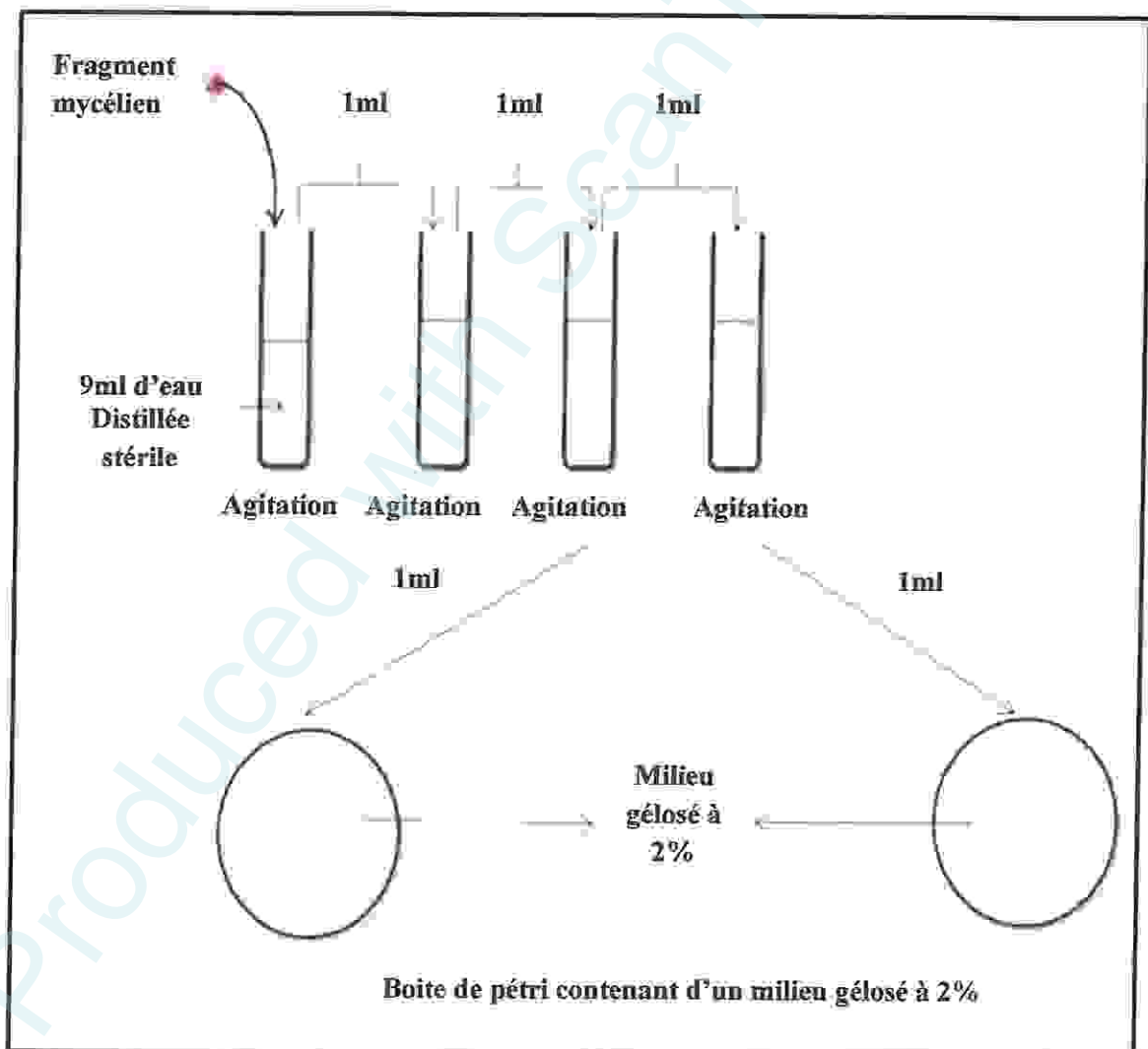
On prélève 1 ml de la suspension sporale que l'on introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile puis on agite.

On répète l'opération autant de fois jusqu'à la dilution voulue.

A partir des deux dernières dilutions ( $10^{-3}$  et  $10^{-4}$ ), on prélève 1 ml que l'on étale à l'aide de billes stériles sur milieu gélosé à 2%.

Après 24h d'incubation à 28°C, à l'aide d'une loupe binoculaire, on procède au repérage et à la délimitation des spores en germination.

On prélève 3 à 4 conidies que l'on dépose dans une boîte de Pétri contenant du milieu PDA.



**Figure 19 : La technique de culture monospore.**

### 3. L'identification :

Une fois les souches pures obtenues, on passe à l'étude macroscopique et microscopique.

#### 3.1. L'étude macroscopique

L'identification se fait à l'œil nu, elle se base essentiellement sur les caractères suivant : la vitesse de croissance, l'aspect du mycélium aérien, la couleur de l'envers de la colonie, l'odeur et la couleur des sporodochia.

#### 3.2. L'étude microscopique

L'identification a été réalisée sur milieu CLA (Carnation Leaf Agar) :

Un fragment mycélien issu de la culture monospore est mis dans un milieu gélosé à 2% en présence d'un fragment de feuille d'œillet stérile de 3-5 mm (voir figure 20).

Après une dizaine de jours d'incubation à 28°C, on passe à l'observation directe des boîtes de Pétri sous microscope optique (In situ) (Leslie et Summerell, 2006).

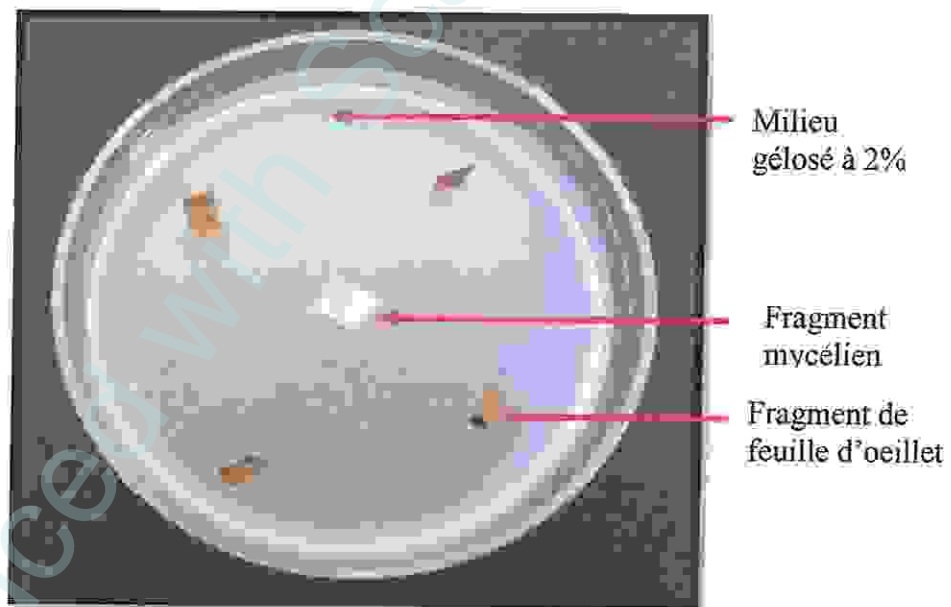


Figure 20 : Technique d'identification CLA.

#### 4. Le test du pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène d'un champignon se définit comme sa capacité à provoquer des infections chez un hôte.

Le test du pouvoir pathogène permet de différencier les souches pathogènes des souches non pathogènes.

En 2004, Rep démontra la présence d'une protéine sécrétée par le *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* dans le xylème lors de l'infection qu'il surnomma Six pour (Secreted in xylem), cette protéine peut être détectée par PCR en utilisant des amorces spécifiques. Mais aucun marqueur moléculaire pour *Fowl* n'a été décrit à ce jour, c'est pour cela que le test du pouvoir pathogène en serre reste le seul moyen d'identifier les souches appartenant à la forme spéciale *radicis-lycopersici*,

Les souches sur lesquelles a porté notre test sont : MH<sub>1</sub>, MH<sub>2</sub>, MH<sub>3</sub> et MH<sub>4</sub> à raison de 3 répétitions pour chaque souche.

Des plantules de tomate âgées 30 jours ont été utilisées pour ce test (voir figure 21).

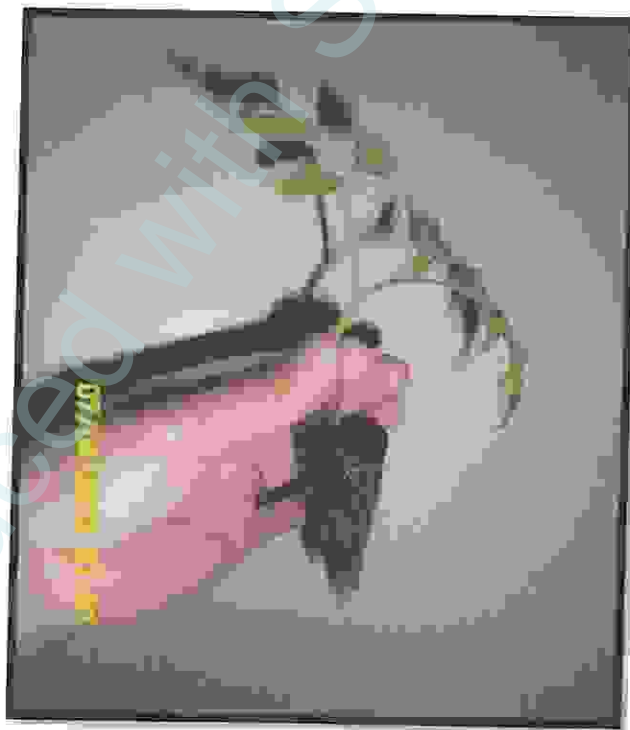


Figure 21 : Plantule de tomate âgée de 30 jours.

#### 4.1. Principe :

Le système racinaire est coupé à 7 mm en dessous du pivot avant d'être mis en contact direct avec une suspension de conidies de l'agent pathogène.

Les plantules sont ensuite transférées dans des pots individualisés et placés au hasard. Au bout de 21 jours, une notation est effectuée (présence / absence de symptômes et éventuellement le type de symptômes).

L'expérience se déroule comme suit (protocole I. N.R.A Dijon) :

##### Préparation de l'inoculum :

- Mise en culture des souches sur boîte de Pétri contenant du milieu PDA solide et incubation à 28°C pendant 5 jours ;
- Ajout de 10 ml d'eau distillée dans les boîtes de Pétri contenant les isolats, à l'aide d'une spatule ces derniers sont raclés afin de libérer le maximum de spores ;
- Filtration de la suspension conidienne à l'aide d'une compresse stérile dans des tubes à hémolyse étiquetés ;
- Les plantules dont le système racinaire a été coupé sont trempées dans les suspensions conidiennes obtenues à partir des isolats pendant 45 minutes (Voir figure 22).



Figure 22 : Inoculation des plantules de tomate



**Préparation des pots pour la plantation :**

- Remplissage des pots avec du terreau amendé de sable préalablement stérilisé ;
- Léger arrosage des pots avec l'eau distillée stérile ;
- Tassage manuel.

**La transplantation :**

Après inoculation, les plantules sont transplantées dans des pots de terreau/sable (stérile) étiquetés (Voir figure 23), le reste de la suspension conidienne est versé sur toute la surface du pot correspondant.

**NB :** Ne pas arroser le jour de l'inoculation.

-Arrosage tous les jours à l'eau de robinet entre 9 h et 10 h du matin.

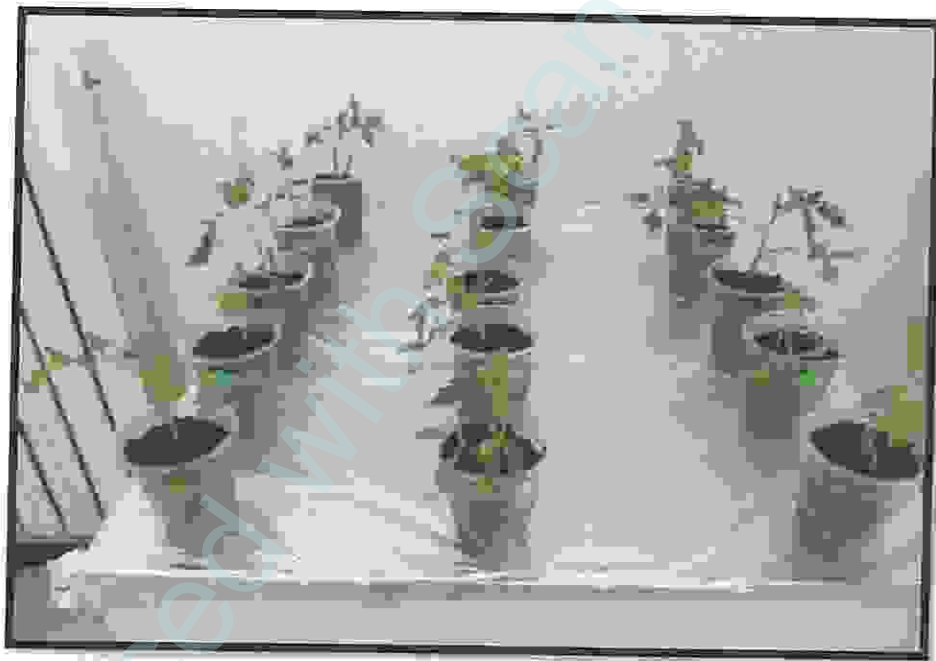


Figure 23 : Transplantation des plantules de tomate inoculées.

Après 21 jours, les plantules sont extraites des pots, puis après avoir rincé les racines à l'eau de robinet, les symptômes sont notés comme suit :

**Tableau 06 :** La notation des symptômes observés sur les plantules.

Paramètre étudiés	notation	
Racine:	Racine normale	RAS
	Nécrose racinaire	NR
Pivot	Marron	M
Tige (coupe longitudinale)	Aucun brunissement	RAS
	Brunissement central	BR

#### 4.2. Le ré-isolément du pathogène :

Après 21 jours, un ré-isolément sera effectué à partir des différents fragments de tiges, du collet et des racines des plantules ayant servi au test du pouvoir pathogène.

### 5- Essai de lutte biologique :

*Pseudomonas fluorescens* est considérée parmi les microorganismes à effets bénéfiques sur le biocontrôle et la biostimulation de la croissance des plantes cultivées.

Afin d'étudier l'antagonisme de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de l'agent pathogène de la fusariose de tomate à savoir *Fusarium oxysporum*, nous avons utilisé la méthode de la confrontation direct sur milieu de culture solide (Benhamou, Chet, 1996).

Cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu GN, trois axes en parallèle du centre de la boîte avec une distance de 2.4cm, les deux axes a l'extrémité portant la suspension de *Pseudomonas fluorescens* et l'axe centrale porte la *Fusarium oxysporum*.

Les repiquages sont effectués en même temps ; les boîtes de Pétri sont mises à incuber à 28°C pendant six jours.

Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène au centre de la boîte.

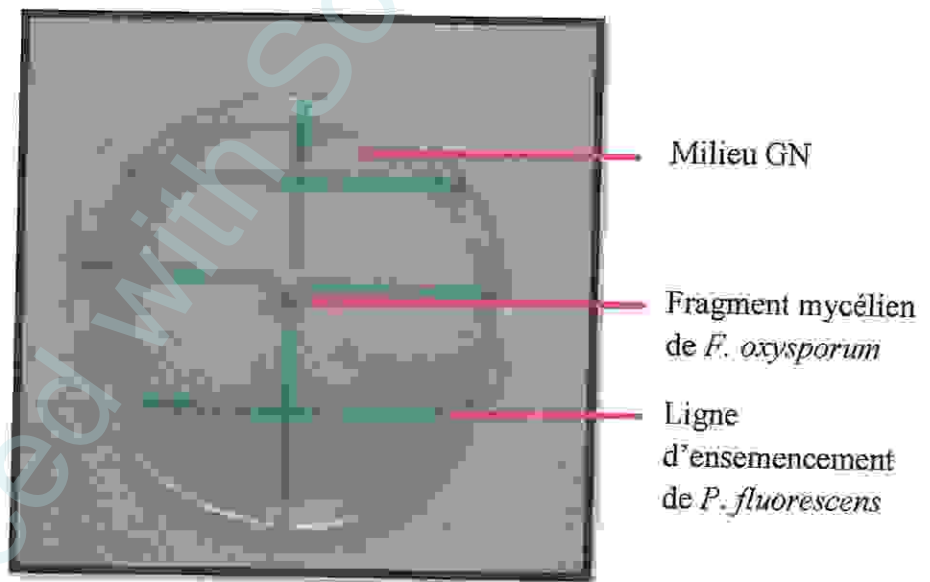


Figure 24 : Confrontation équidistante de *Fusarium oxysporum* et de *Pseudomonas fluorescens* par contact direct sur milieu GN.

# **Chapitre III :**

# **Résultats et discussion**

Produced with Scantopdf



## 1. Caractérisation des isolats de *Fusarium oxysporum* :

### 1.1. L'isolement :

Après une semaine d'incubation, des filaments mycéliens apparaissent autour des petits fragments de tige, de collet et des racines (voir figures 25, 26, 27).



Figure 25 : Des filaments mycéliens autour des fragments des tiges.



Figure 26 : Des filaments mycéliens autour des fragments des collets.



Figure 27 : Des filaments mycéliens autour des fragments des racines.

## 2. La purification :

### 2.1. La culture monospore :

Après 24h d'incubation à 28°C, à l'aide d'une loupe binoculaire, on procède au repérage et à la délimitation des mono-spores en germination (voir figure 28).

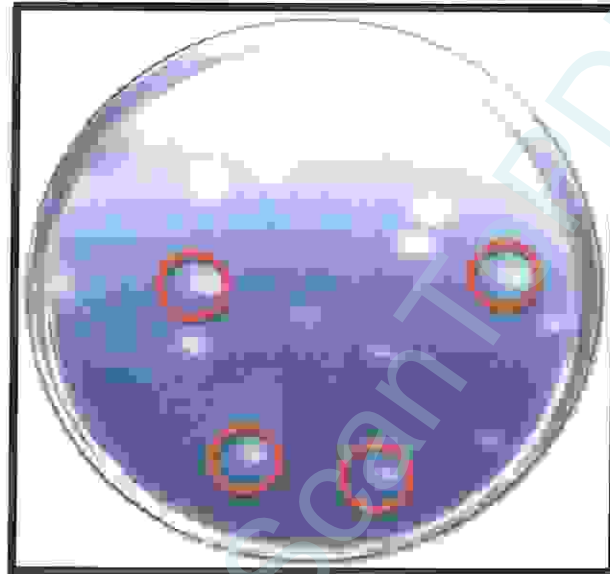


Figure 28 : Spores en germination.

Après 6 jours d'incubation à 28°C, des cultures pures sont obtenues (voir figure 29), dans le cas contraire une culture monospore est réalisée à partir des cultures obtenues.

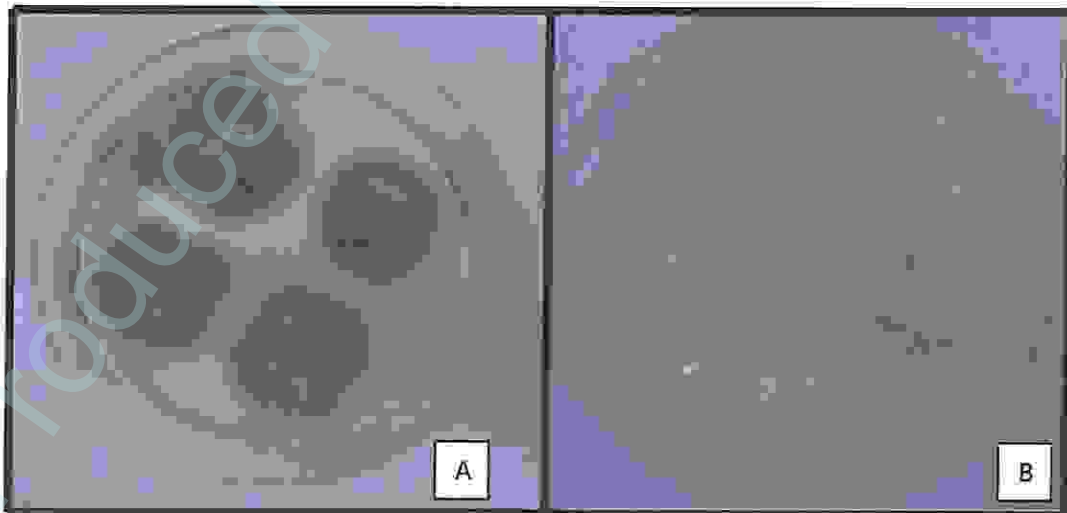


Figure 29 : Des cultures pures à partir des monospores

A-culture pure des monospores de la souche MH<sub>1</sub>

B- culture pure des monospores de la souche MH<sub>2</sub>

### 3. L'étude macroscopique :

L'étude macroscopique des isolats purifiés a permis de dénombrer un seul morphotype à savoir le morphotype cotonneux avec une variabilité de la couleur et du type de colonies. La couleur varie entre le blanc et le violet et le jaune (voir figure 30).

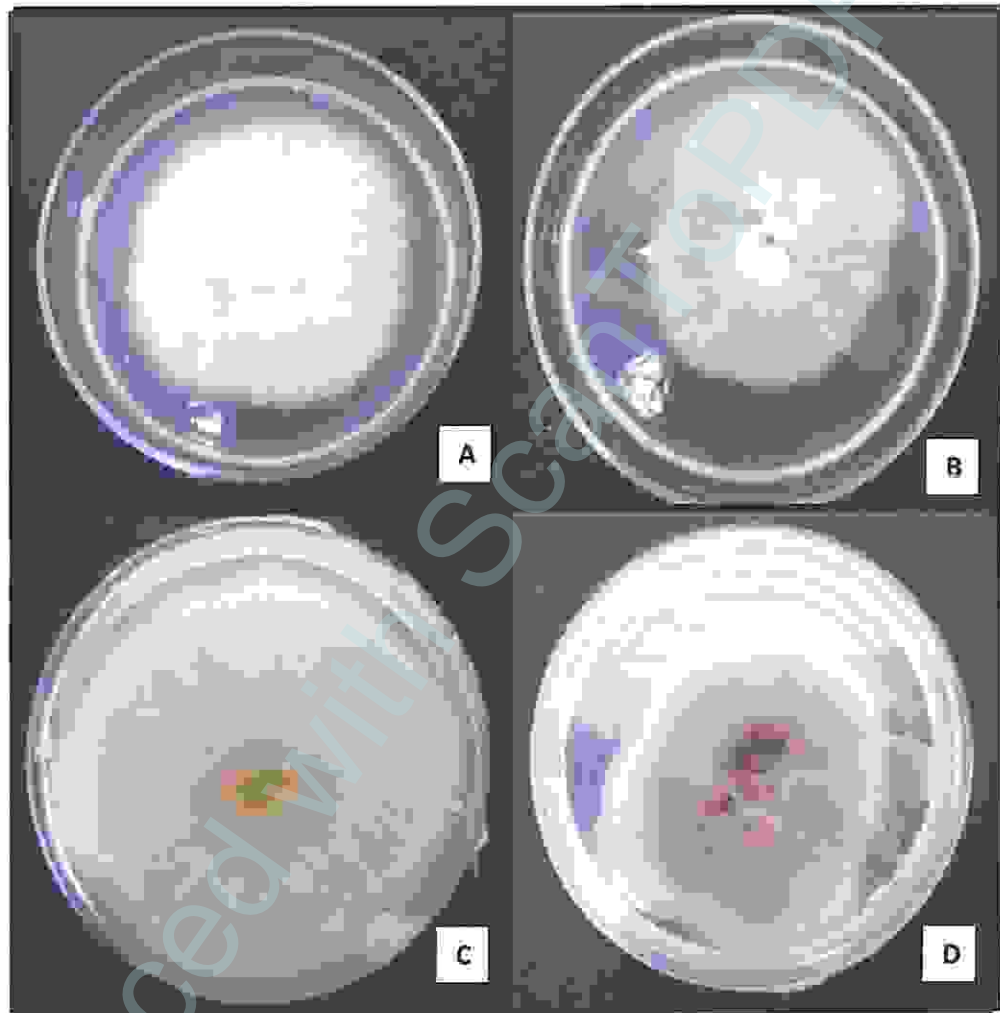


Figure 30 : Variabilité de la pigmentation du thalle

- A- isolat MH<sub>3</sub> (le recto de la boîte).
- B- isolat MH<sub>4</sub> (le recto de la boîte).
- C- isolat MH<sub>2</sub> (le verso de la boîte).
- D- isolat MH<sub>1</sub> (le verso de la boîte).

#### 4. L'étude microscopique :

Les boîtes de Pétri ont été directement observées sous microscope optique (Technique CLA In situ) (voir figure 31).

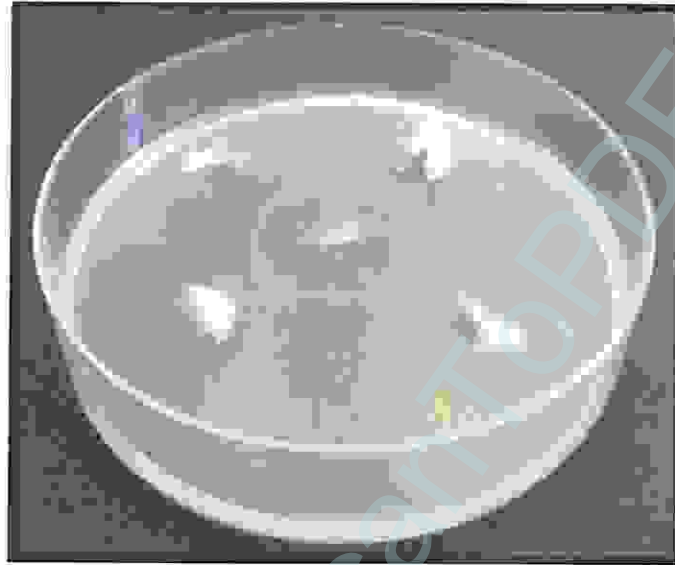


Figure 31 : Technique CLA après 10 jours d'incubation.

Ces techniques d'identification nous ont permis d'obtenir 4 isolats de *Fusarium oxysporum* qui vont être utilisés par la suite. Le tableau suivant représente la région, l'année et la partie de la plante à partir de laquelle l'isolement a été effectué.

Tableau 7 : Les régions de provenance des isolats.

Isolats	Site d'isolement	Organe d'isolement	Année
MH <sub>1</sub>	Ain Temouchent	tige	2013
MH <sub>2</sub>	Ain Temouchent	Collet	2013
MH <sub>3</sub>	El-Oued	tige	2013
MH <sub>4</sub>	Annaba	sol	2013



L'observation microscopique a montré :

- Un mycélium septé (voir figure 32) ;
- Des microconidies isolées (voir figure 33) ;
- Des microconidies en fausses têtes (voir figure 34) ;
- Des macroconidies de taille variable avec 3 à 4 cloisons (voir figure 35) ;
- Des monophialides courts perpendiculaires aux filaments mycéliens (voir figure 36) ;
- Des chlamydospores intercalaires ou terminales (voir figure 37 et 38).

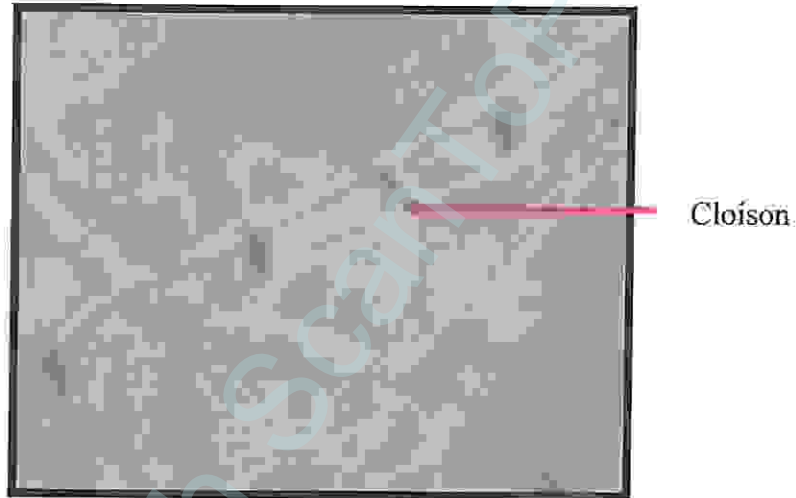


Figure 32 : Mycélium cloisonné observé au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>1</sub>)

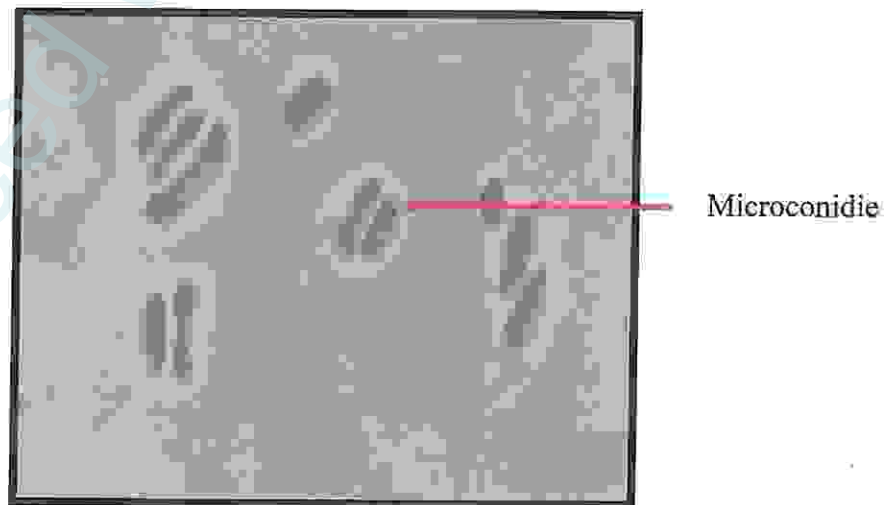
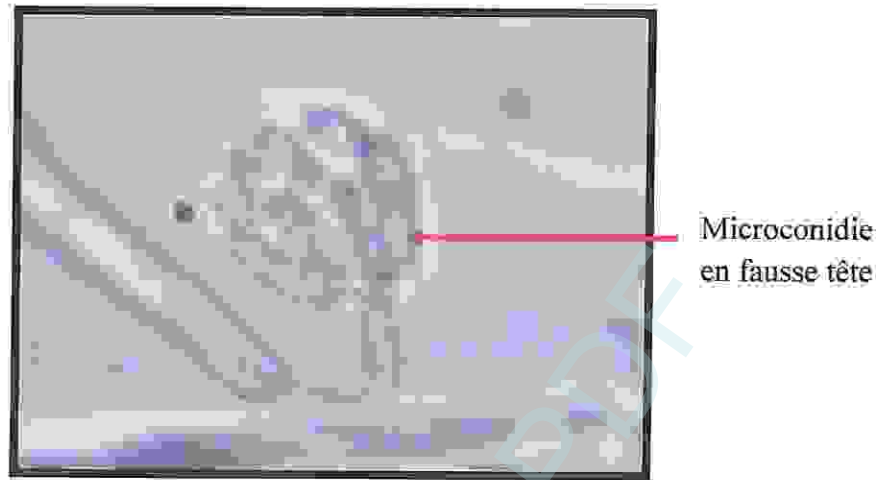
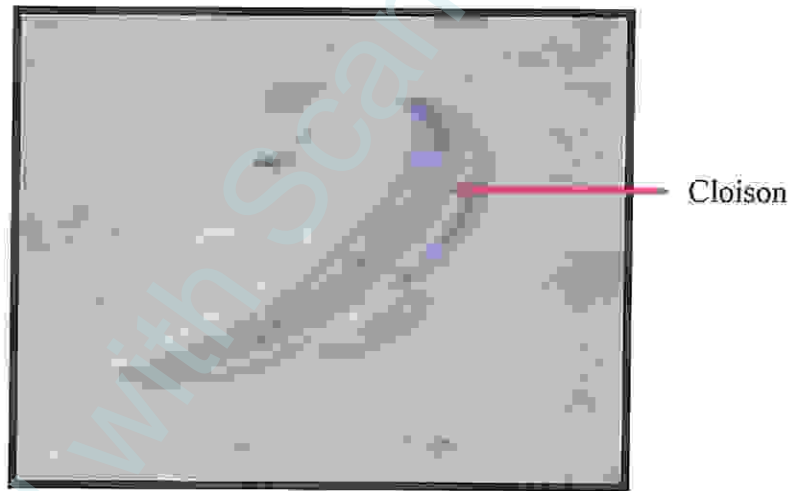


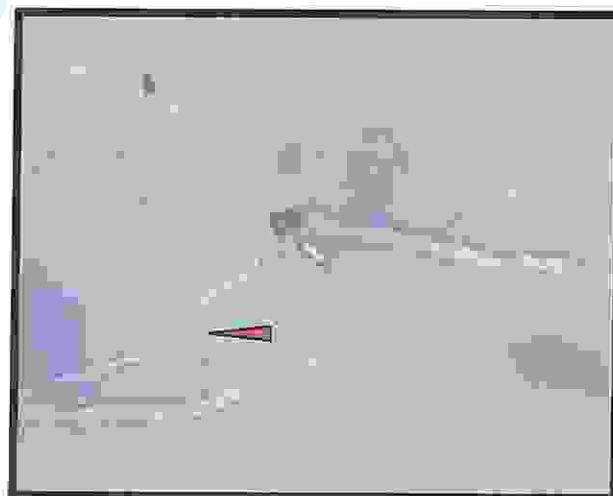
Figure 33 : Microconidies isolées observé au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>1</sub>)



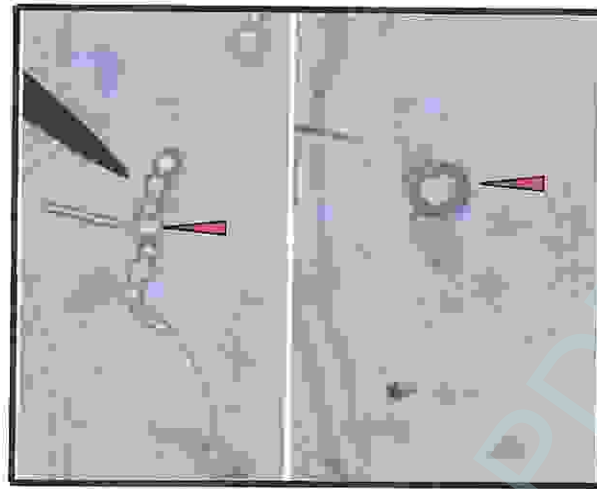
**Figure 34 :** Microconidies en fausse tête observées au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>2</sub>)



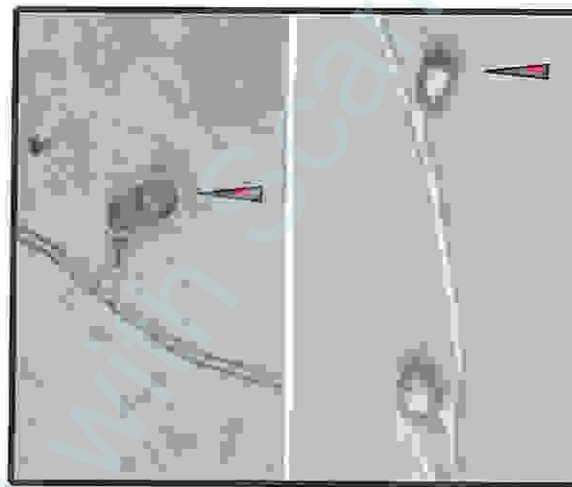
**Figure 35 :** Macroconidie observée au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>4</sub>)



**Figure 36 :** Monopialide observé au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>4</sub>)



**Figure 37** : Chlamydospores intercalaires observées au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>3</sub>)



**Figure 38** : Chlamydospores terminales observées au microscope optique (40 X).  
(Souche MH<sub>3</sub>)

Les différentes formes observées à savoir : un mycélium septé, des microconidies isolées ou agglomérées en fausses têtes, des chlamydospores intercalaires ou terminales et des monophialides sont similaire à celles décrites par Snyder et Hansen, 1945.

## 5. Le test du pouvoir pathogène :

Pour mettre en évidence le pouvoir pathogène des souches isolées, le bio-essai ont été réalisé et ont permis de tester les 4 isolats de *Fusarium oxysporum*. Il est effectué sur des plantules âgées de 30 jours à raisons de 3 répétitions par souche s'est révélé non concluant.

Les 3 témoins négatifs trempés dans l'eau distillée stérile non inoculés ne présentaient aucuns symptômes de la fusariose.

21 jours après les plantules inoculées par les souches MH<sub>1</sub>, MH<sub>2</sub>, MH<sub>3</sub> et MH<sub>4</sub> ont présenté majoritairement des symptômes de brunissement du pivot, typiques de la forme spéciale *radicis-lycopersici*.

Les résultats obtenus pour les 4 isolats, objet de cette étude sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 7 : Les résultats du test du pouvoir pathogène.

Les souches	Les répétitions	Brunissement du pivot	Nécrose racinaire	Tige (coupe longitudinal)
MH1	01	M	NR	RAS
	02	M	NR	BR
	03	M	RAS	BR
MH2	01	M	NR	BR
	02	M	NR	BR
	03	M	RAS	RAS
MH3	01	M	NR	RAS
	02	M	RAS	BR
	03	M	NR	RAS
MH4	01	M	RAS	BR
	02	M	NR	RAS
	03	M	NR	BR

**RAS** : Aucun brunissement du cylindre central / Tiges normales ou racines normales (blanches).

**M** : Pivot marron.

**NR** : Nécrose racinaire.

**BR** : Brunissement central.



D'après les résultats obtenus nous avons noté des brunissements du pivot au niveau de toutes les plantules inoculées et l'apparition de la nécrose racinaire sur les plantules inoculées par les souches :

- MH<sub>1</sub> (répétition 01 et 02) ;
- MH<sub>2</sub> (répétition 01 et 02) ;
- MH<sub>3</sub> (répétition 01 et 03) ;
- MH<sub>4</sub> (répétition 02 et 03).

La coupe longitudinale au niveau des tiges nous permet d'observer un brunissement des vaisseaux conducteurs sur les plantules inoculées par les souches :

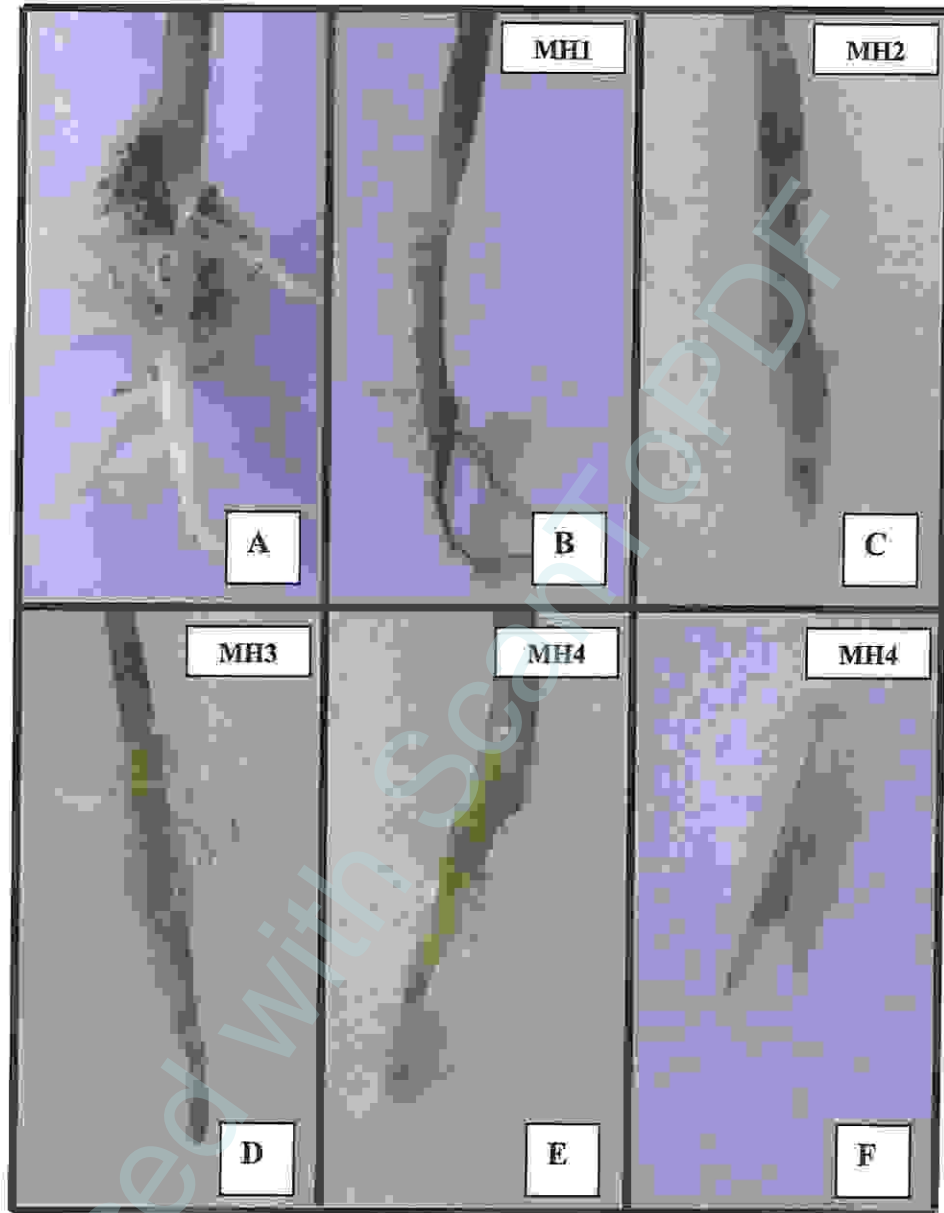
- MH<sub>1</sub> (répétitions 02 et 03) ;
- MH<sub>2</sub> (répétition 01 et 02) ;
- MH<sub>3</sub> (répétition 02) ;
- MH<sub>4</sub> (répétition 01 et 03).

Les résultats obtenus ont été satisfaisants puisque les 04 isolats se sont révélés pathogènes avec un degré de virulence qui diffère selon l'isolat.

En effet, les souches MH<sub>1</sub>, MH<sub>2</sub>, MH<sub>3</sub> et MH<sub>4</sub> ont engendré des pourritures racinaires ainsi qu'un brunissement du pivot et du collet.

Ces symptômes similaires à ceux cités par Jarvis, 1987 laissent penser qu'il s'agirait de souches appartenant à la forme spéciale radicis-lycopersici.

Nos résultats permettent donc de confirmer le caractère pathogène et la forme spéciale de ces souches, la figure 39 montre les symptômes observés sur les plantules inoculées au niveau du système racinaire en comparaison avec celui d'un témoin négatif.



**Figure 39 :** Symptômes de pourriture du système racinaire.

**A :** Système racinaire sain (Témoin négatif).  
**B, C, D, E:** Système racinaire pourri.  
**F:** Coupe longitudinale du pivot montrant un brunissement du cylindre central.

### 5.1. Le ré-isolement du pathogène :

Le ré-isolement à partir du pivot et des racines (voir figure 40) et à partir des tiges et du collet (voir figures 41) des différentes plantules de tomate présentant des symptômes de pourriture et la comparaison entre l'aspect macroscopique du champignon à partir duquel l'inoculum a été préparé et le champignon obtenu après le ré-isolement a révélé qu'il s'agit bel et bien du champignon en question ce qui confirme les postulats de Koch qui consiste à :

- L'agent supposé pathogène doit être trouvé dans chaque organisme atteint de maladie ;
- L'agent supposé pathogène doit être extrait d'un organisme atteint, isolé et cultivé isolément en laboratoire ;
- L'agent supposé pathogène doit créer la même maladie lorsqu'il est inoculé à un organisme sain de la même espèce dont il provient ;
- L'agent pathogène doit être retrouvé dans l'organisme expérimentalement inoculé et reconnu comme identique à l'agent causal original suspecté.

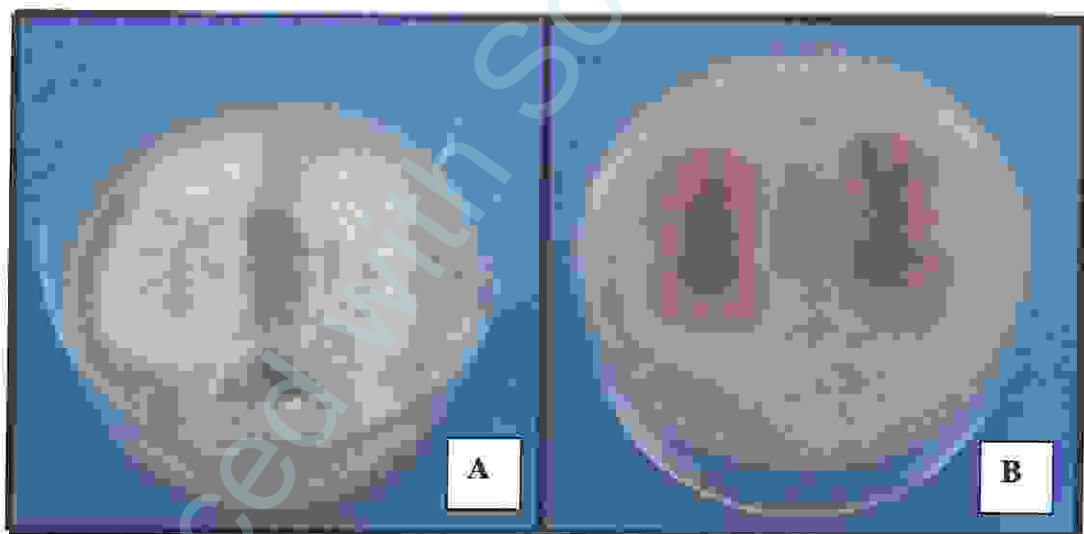


Figure 40 : Ré-isolement du pathogène à partir du système racinaire.

**A-** Ré-isolement à partir des racines d'une plantule inoculée par la souche MH<sub>1</sub> (le recto de la boîte).

**B-** Ré-isolement à partir des racines d'une plantule inoculée par la souche MH<sub>1</sub> (le verso de la boîte).

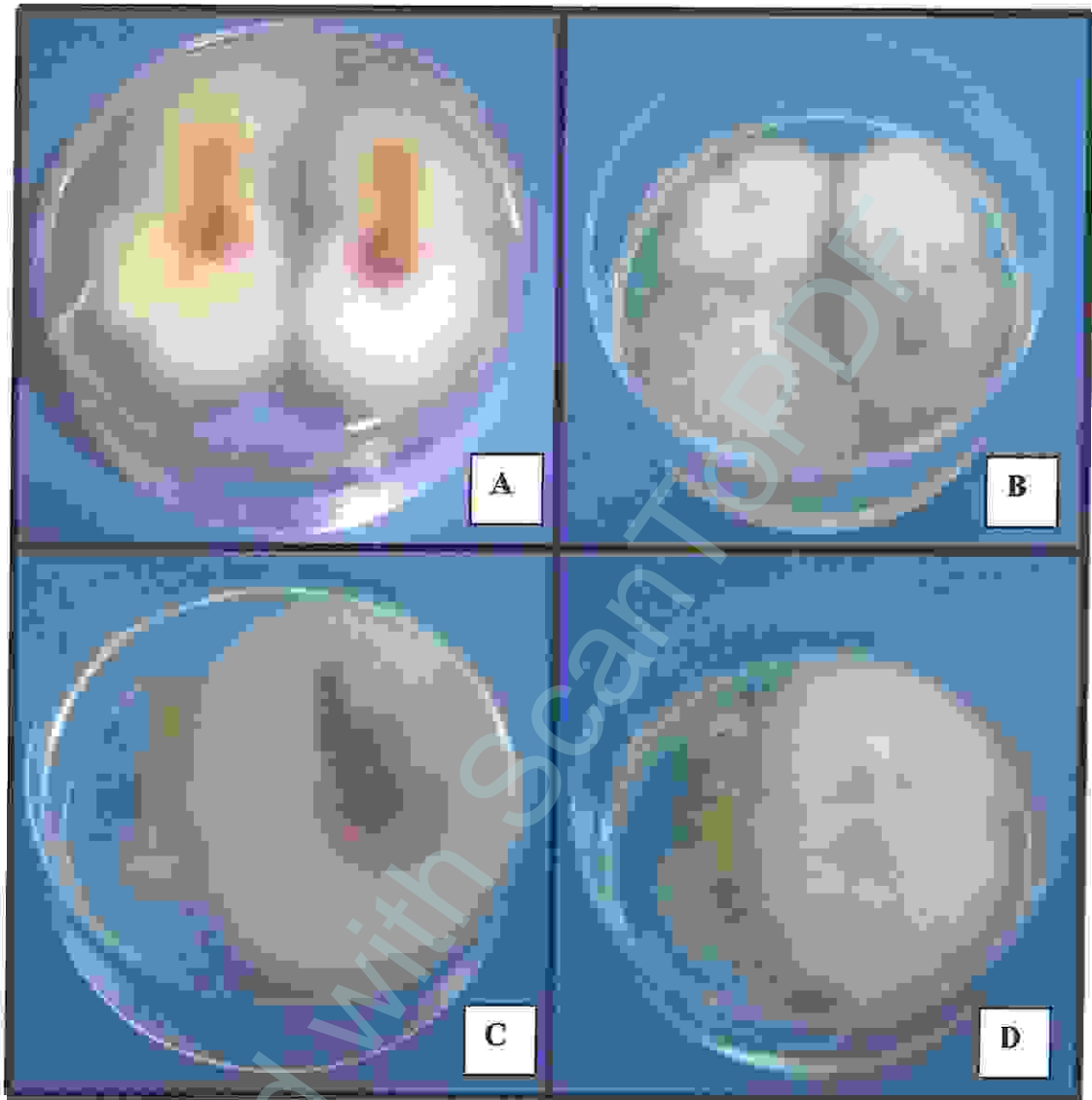


Figure 41 : Ré-isolement du pathogène à partir du collet et de la tige.

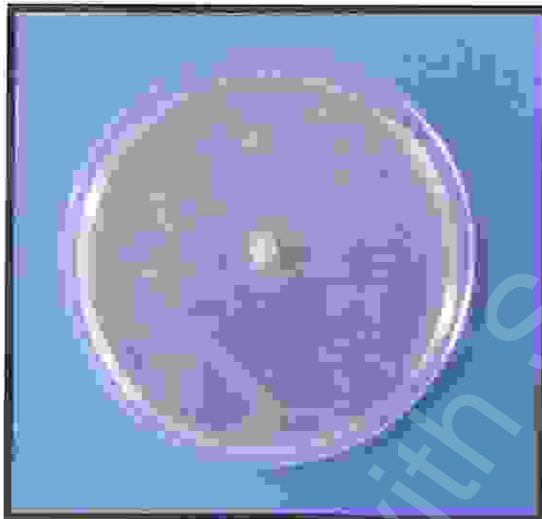
- A- Ré-isolement à partir du collet d'une plantule inoculée par la souche MH<sub>1</sub> (le recto de la boîte).
- B- Ré-isolement à partir du collet d'une plantule inoculée par la souche MH<sub>1</sub> (le verso de la boîte).
- C- Ré-isolement à partir de tige d'une plantule inoculée par la souche MH<sub>3</sub> (le recto de la boîte).
- D- Ré-isolement à partir de tige d'une plantule inoculée par la souche MH<sub>3</sub> (le verso de la boîte).



**6- Essai de lutte biologique :**

D'après les résultats obtenus à partir du complexe d'interaction entre bactérie *Pseudomonas fluorescents* et le champignon *fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, alors que les isolats de *fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* n'occupent qu'une surface de 15 mm de diamètre, ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 75 % (voir figure 42) en comparaison avec le témoin (*Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* est cultivé seul) ou le champignon occupe une surface d'environ 50 mm de diamètre (voir figure 43).

**NB :** même résultats pour les 3 souches de l'agent pathogène MH<sub>1</sub>, MH<sub>2</sub> et MH<sub>3</sub>.



**Figure 42 :** Complexe d'interaction entre bactérie *Pseudomonas fluorescents* et le champignon *Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* cultivé sur GN.



**Figure 43 :** Le témoin *Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici* cultivé sur GN.

Les résultats obtenue sont identique du résultats de Jacques, G. 1993, qu'il s'agirait de souches *Pseudomonas fluorescents* réduisent significativement la gravité de la fusariose vasculaire de la tomate.

# Conclusion

Produced with Scantopdf

La tomate est une culture maraîchère importante dans les pays du bassin méditerranéen et en particulier dans les pays du Maghreb. Elle représente une source de revenu monétaire pour les producteurs. Cependant, sa culture est menacée par des attaques sévères dont la fusariose causée par *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* et *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici*, qui souvent provoque jusqu'à 100% de pertes de récoltes.

A l'issue des différents isolements effectués à partir du sol et des fragments de tiges et des racines et en se basant sur les différents caractères macroscopiques et microscopiques, nous avons obtenus quatre (04) isolats de *Fusarium oxysporum*.

Afin de mettre en évidence le pouvoir pathogène des souches isolées, un test miniaturisé sur plantules de tomate a été mis au point.

Les résultats obtenus nous ont permis de distinguer 4 souches pathogènes appartenant à la forme spéciale *radicis-lycopersici*.

Les symptômes observés sur les plantules inoculées au niveau du système racinaire sont les suivants : brunissements du pivot, brunissement du cylindre central et des nécroses racinaires.

Concernant la lutte biologique vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* en utilisant *Pseudomonas fluorescens* comme antagoniste. L'étude, nous a permis de confirmer la sensibilité du champignon à la bactérie *Pseudomonas fluorescens* qui ralentit considérablement son développement.

En perspective, il serait souhaitable dans les prochaines travaux de :

- L'utilisation des souches non-pathogènes comme moyen de lutte biologique potentiel susceptible de protéger les cultures de tomates tout en limitant l'utilisation des pesticides, ce qui s'intègre parfaitement dans une démarche respectueuse de l'environnement.
- L'inoculation de la semence avec *Trichoderma harzianum* est plus efficace que les traitements fongicides et permet d'accroître les rendements de 26% dans un sol infecté.

# **Références bibliographiques**

Produced with ScantOPDF

1. **Agrios, G.N. 2005.** Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495. p. 524-525, 539.
2. **Anonyme, 2010.** Proclaim, material safety data sheet, Syngenta crop protection, MSDS.5p.
3. **Armstrong, G.N. et Armstrong, J.K., 1981.** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases, p. 391-399. In P.E. Nelson, T.A. Toussoun, and R.J. Cook (ed.), *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park.
4. **Barak, R., Elad, Y., Mirelman, D., and Chet, I. 1985.** Lectins: A possible basis for specific recognition in the interaction of trichoderma and sclerotium rolfsii. *Phytopathology* 75: 485-462.
5. **Benhamou N., Chet I. (1996).** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Pseudomonas fluorescens* ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405-416.
6. **Blancard, D. 1997.** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 76 p.
7. **Booth, C. 1971.** The Genus *Fusarium*, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
8. **Bouhot, D. 1981.** Some aspects of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on *Cucurbitaceae*. In *Fusarium, diseases, biology and taxonomy*. 318-326.
9. **Bounaga, N. 1985.** Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Killian et Maire) Gordon, agent de la fusariose du palmier dattier. Thèse de Doctorat d'état. Université de sciences et technologies « Houari Boumediene » Alger.
10. **Brault, P. 2005.** Semences et Plants Bio. Fiches techniques, Dossier solanacées en Langue doc- Roussillon. Bulletin N° 5 deuxième semestre Biocivam de l'Aude et FRAB-LR. 47p.
11. **Burgess, L.W. 1981.** General ecology of the Fusaria. In *Fusarium: diseases biology and taxonomy*. (ed. P. E. Nelson, T. A. Toussoun and R. J. Cook), p. 225-235. Pennsylvania State University Press: University Park and London.



12. Burgess, L.W., and C.M. Liddell. 1983. Laboratory manuel for *Fusarium* research. University of Sydney, Sydney, Australia.
13. Causse, M., Caranta, C., Saliba-Colombani, V., Moretti, A., Damidaux, R., Rousselle, P. 2000. Valorisation des ressources génétique de la tomate par l'utilisation de marqueurs moléculaires. Cahiers Agricultures 9: 197-210.
14. Chaux, C. et Foury, C. 1994. Production légumières. Tome 3, Légumineuses potagères, légumes fruits. Editions Tec & Doc, Paris, Lavoisier, 1994, p. 125-153.
15. Davet, P., and Rouxel, F. 1997. Détection et isolation des champignons du sol. INRA. Paris. 17-54.
16. Desmas S., 2005. Analyse comparative de compétitivité : le cas de la filière tomate dans le contexte euro-méditerranéen. Thés. d'Etudes Diplôme d'Agronomie Approfondie (D.A.A.). Dépar. Economie Rurale et Gestion, option : Politique Economique de l'Agriculture et de l'Espace. Institut Agronomique Méditerranéen de Montpellier (I.A.M.M), 75p.
17. Dommergues, Y. et Mangenot, F. 1970. Ecologie microbienne du sol. Edition MASSON. 40-45p.
18. El Mahjoub, M., Le Picard, D., and Moreau, M. 1984. Origin of tyloses in melon (*Cucumis melo*) in response to a vascular *Fusarium*. IAWA Bulletin n.s., Vol.5(4), 307-311.
19. El Modafar, C. 1994. Aspects histologiques et biochimiques des interactions hôte-parasites (*Platanus spp.*, *Ceratocystis fimbriata f.sp. platani*). Réactions associées à la défense de l'hôte. Thèse Doctorat d'Etat. Université de Montpellier II. Sciences et Techniques du Languedoc. 258p.
20. FAO., 2007. L'actualité agricole en Méditerranée. Ed. CIHEAM, 33 p.
21. Fisher, N.L., Burgess, L.W., Toussoun, T.A., and Nelson, P.E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. *Phytopathology*, 72:151-153.

22. **Hatting, J.K., Hashikawa, T. and Van Lieshout, D. 1986.** Laminar distribution of tectal, parabigeminal and pretectal inputs to the primate dorsal lateral geniculate nucleus : conectional studies in *Galago Crassie audatus*. *Brain Res* 366 : 358-363.
23. **Jarvis, W.R., Shoemaker, R.A. 1978.** Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root-rot of tomato. *Phytopathology*, 68:1679-1680.
24. **Jacques, G. 1993.** Paramètres influençant la lutte biologique contre la fusariose vasculaire de la tomate et la pourriture noire des racines de concombre: du laboratoire à la pratique. Thèse EPFZ no 10379.
25. **Komi, A. 1993.** Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.sp. vasinfectum* (ATK) SN. Et H. : Agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier II. Sciences et Techniques du Languedoc.
26. **Laterrot, H., Blancard, D., Couteaudier, Y. 1988.** Les fusarioses de la tomate. *PHM-Rev. Hortic.*, 288:29-32.
27. **Leslie, J.F., and Summerell, B.A. 2006.** *The Fusarium Laboratoy Manuel*. Blackwell Professional Publishing, Ames, Iowa. 6, 103.
28. **Messiaen, C.M. et Cassini, R. 1968.** Recherche sur les fusarioses. IV- La systématique *Fusarium*. *Ann. Epiphyt.* 19, 387-454.
29. **Naika, S., Van Dam, B., Florijn, A. 2005.** La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation, cinquième édition révisée, Agromisa Foundation, coll. « Agrodok », Wageningen, 2005, 105 p.
30. **Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas, W.F.O. 1983.** *Fusarium species. An illustrated Manuel for Identification*. Pennsylvania State University Press, University Park, PA.
31. **Ozenda, P. 1990.** Les organismes végétaux, tome 1 : Végétaux inférieurs, Masson, 220 p.
32. **Palleroni, N.J. 1984.** Pseudomonadaceae. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Krieg, N. R. and Holt J. G. (editors) Baltimore: The Williams and Wilkins Co., pg. 141 – 199.

33. **Rapilly, F. 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann. Epiphyties*, 19(no hors série), 102p.
34. **Rep, M. 2004.** A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for 1-3-mediated resistance in tomato. *Mol Microbiol* 53: 1373-1383.
35. **Si mohammed, A. 2010.** Etude de la compatibilité végétative chez des populations de *Fusarium oxysporum* isolées dans l'ouest Algérien, Mémoire de magister, Oran, université d'Oran, p84.
36. **Smith, H.C. 1965.** The morphology of *Verticillium albo-atrum*, *V. dahlia*, and *V. tricopis*. *New Zealand J. Agric. Res.* 8 :450-47.
37. **Snyder, W.C., and Hansen, H.N. 1945.** The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *American Journal of Botany* 32:657-666.
38. **Snyder, W.C., and Hansen, H.N. 1954.** The species concept in *Fusarium* with reference to *discolor* and other section. *Am. J. Bot.* 27:738-742.
39. **Tello-Marquina, J.C. et Alabouvette, C. 1984.** Observation de la persistance dans le sol des microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie* 4 (9) : 123-130.
40. **Tivoli, B. 1988.** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. *Agronomie*, 8(3): 211-222.
41. **Toussaint A., Baudoin J.P., 2010.** La biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et valorisation de la collection « Luc Fichot », gembloux agro tech. 105p.
42. **Walker, J.C. 1971.** *Fusarium* wilts of tomato. Monogr. 6. *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN.
43. **Ziri, S. 2010.** Contribution à la lutte intégrée contre *Tuta absoluta* sur tomate en plein champ, mémoire de magister en science agronomiques, Alger, École nationale supérieur agronomique EL-HARRACH, p 92.



1. [http://www.anancy.net/documents/file\\_fr/17-f-2005-screen.pdf](http://www.anancy.net/documents/file_fr/17-f-2005-screen.pdf)  
(consulté le : 04/04/2013, 13:30h)
2. <http://www.agriculture.gov.mg/pdf/Tomate.pdf>  
(consulté le : 04/04/2013, 13:30h)
3. [http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate\\_utilisateur/images/racine\\_tomate\\_DB\\_132\\_429.jpg&imgrefurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate\\_utilisateur/index\\_appli.php%3Fportail%3Dlegumes%26produit%3Dtomate%26main%3D1%26ssrub1%3D8%26ssrub2%3D12&usq=\\_\\_ceMeBhH4VmuJ6Tkpel513K-mBog=&h=520&w=700&sz=83&hl=fr&start=1&zoom=1&tbnid=UGTdwncettatOIM:&tbnh=104&tbnw=140&ei=PRRLUdieDcmutAasyYDAAw&prev=/search%3Fq%3Dracine%2Bde%2Btomate%26hl%3Dfr%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbnid%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CCsQrQMwAA](http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate_utilisateur/images/racine_tomate_DB_132_429.jpg&imgrefurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate_utilisateur/index_appli.php%3Fportail%3Dlegumes%26produit%3Dtomate%26main%3D1%26ssrub1%3D8%26ssrub2%3D12&usq=__ceMeBhH4VmuJ6Tkpel513K-mBog=&h=520&w=700&sz=83&hl=fr&start=1&zoom=1&tbnid=UGTdwncettatOIM:&tbnh=104&tbnw=140&ei=PRRLUdieDcmutAasyYDAAw&prev=/search%3Fq%3Dracine%2Bde%2Btomate%26hl%3Dfr%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbnid%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CCsQrQMwAA)  
(consulté le : 20/03/2013, 15 :08h).
4. <http://landstuck.blogspot.com/2011/05/poils-de-tomate.html>  
(consulté le : 20/03/2013, 14 :59h).
5. [http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://us.123rf.com/400wm/400/400/alexan66/alexan661109/alexan66110900119/10676913-feuille-de-tomate.jpg&imgrefurl=http://fr.123rf.com/photo\\_10676913\\_feuille-de-tomate.html&usq=\\_\\_MoJDIToeXpoA\\_15gACYTSWkL7Ag=&h=921&w=1200&sz=107&hl=fr&start=11&zoom=1&tbnid=Nl59XXsnRE51aM:&tbnh=115&tbnw=150&ei=LhJLUBavNM3jtQbWh4CwDO&prev=/search%3Fq%3Dfeuille%2Bde%2Bla%2Btomate%26hl%3Dfr%26sa%3DX%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbnid%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CD8OrQMwCg](http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://us.123rf.com/400wm/400/400/alexan66/alexan661109/alexan66110900119/10676913-feuille-de-tomate.jpg&imgrefurl=http://fr.123rf.com/photo_10676913_feuille-de-tomate.html&usq=__MoJDIToeXpoA_15gACYTSWkL7Ag=&h=921&w=1200&sz=107&hl=fr&start=11&zoom=1&tbnid=Nl59XXsnRE51aM:&tbnh=115&tbnw=150&ei=LhJLUBavNM3jtQbWh4CwDO&prev=/search%3Fq%3Dfeuille%2Bde%2Bla%2Btomate%26hl%3Dfr%26sa%3DX%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbnid%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CD8OrQMwCg)  
(consulté le : 20/03/2013, 15 :00h).
6. <http://regard-de-papillon.mabulle.org/index.php/2006/09/29/18506-tomate-fleur-et-fruit> (consulté le : 20/03/2013, 14 :56h).
7. [http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://www.folkloredelazonemondiale.fr/mailorder/images/tomates.jpg&imgrefurl=http://www.folkloredelazonemondiale.fr/mailorder/product\\_info.php%3Fproducts\\_id%3D1113&usq=\\_\\_UBlnxDxxDgNVIzRSzeBdBcCrK](http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://www.folkloredelazonemondiale.fr/mailorder/images/tomates.jpg&imgrefurl=http://www.folkloredelazonemondiale.fr/mailorder/product_info.php%3Fproducts_id%3D1113&usq=__UBlnxDxxDgNVIzRSzeBdBcCrK)

- [Jk=&h=480&w=342&sz=29&hl=fr&start=20&zoom=1&tbnid=sipY6XVqxrIYEM:&tbnh=129&tbnw=92&ei=yBVLUcnSBPPB7AbPy4GwCg&prev=/search%3Fq%3Dfruit%2Bde%2Btomate%26hl%3Dfr%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbn%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CFEQrQMwEw](http://www.google.fr/search?hl=fr&start=20&zoom=1&tbnid=sipY6XVqxrIYEM:&tbnh=129&tbnw=92&ei=yBVLUcnSBPPB7AbPy4GwCg&prev=/search%3Fq%3Dfruit%2Bde%2Btomate%26hl%3Dfr%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbn%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CFEQrQMwEw)  
(consulté le : 20/03/2013, 15 :15h).
8. <http://eap.mcgill.ca/agrobio/ab320-05.htm>  
(consulté le : 28/12/2012, 09 :02h).
9. [http://www.homejardin.com/fusariose/prevenir\\_diagnostiquer\\_et\\_guerir.html](http://www.homejardin.com/fusariose/prevenir_diagnostiquer_et_guerir.html)  
(consulté le : 28/12/2012, 09 :30h).
10. [http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium\\_tomate/Marchitamiento25.jpg&imgrefurl=http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium\\_tom.html&img\\_\\_NE2PyyJG7YCziCdk7Ih.7lqg.1wH4=&h=640&w=480&sz=104&hl=fr&start=20&zoom=1&tbnid=FKnamJbmOCRh8M:&tbnh=137&tbnw=103&ei=4y9pUY2xB8bKPdGogOgJ&prev=/search%3Fq%3Dla%2Bfusariose%2Btomate%26sa%3DX%26hl%3Dfr%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbn%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CFEQrQMwEw](http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tomate/Marchitamiento25.jpg&imgrefurl=http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html&img__NE2PyyJG7YCziCdk7Ih.7lqg.1wH4=&h=640&w=480&sz=104&hl=fr&start=20&zoom=1&tbnid=FKnamJbmOCRh8M:&tbnh=137&tbnw=103&ei=4y9pUY2xB8bKPdGogOgJ&prev=/search%3Fq%3Dla%2Bfusariose%2Btomate%26sa%3DX%26hl%3Dfr%26biw%3D1366%26bih%3D677%26tbn%3Disch&itbs=1&sa=X&ved=0CFEQrQMwEw)  
(consulté le : 03/05/2013, 10 :13h).
11. [http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate\\_utilisateur/images/FORL\\_tomate\\_DB\\_650.jpg&imgrefurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate\\_utilisateur/index\\_appli.php%3Fportail%3Dlegumes%26produit%3Dtomate%26main%3D1%26ssrub1%3D8%26ssrub2%3D12%26ssrub3%3D40%26id\\_fiche%3D43%26theme%3D204&usg=\\_\\_cO82w9ME3vleF6p1ASrj-wTEOs=&h=520&w=347&sz=46&hl=fr&start=26&zoom=1&tbnid=Fpa1xtF\\_Pd1O8M:&tbnh=131&tbnw=87&ei=IYCDUdGSMIaM7Aapv4HgCO&prev=/search%3Fq%3Dla%2Bfusariose%2Bde%2Bla%2Btomate%2Bcollet%26start%3D20%26um%3D1%26sa%3DN%26biw%3D1366%26bih%3D677%26hl%3Dfr%26tbn%3Disch&um=1&itbs=1&sa=X&ved=0CDUQrQMwBTgU](http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate_utilisateur/images/FORL_tomate_DB_650.jpg&imgrefurl=http://ephytia.inra.fr/tomate/tomate_utilisateur/index_appli.php%3Fportail%3Dlegumes%26produit%3Dtomate%26main%3D1%26ssrub1%3D8%26ssrub2%3D12%26ssrub3%3D40%26id_fiche%3D43%26theme%3D204&usg=__cO82w9ME3vleF6p1ASrj-wTEOs=&h=520&w=347&sz=46&hl=fr&start=26&zoom=1&tbnid=Fpa1xtF_Pd1O8M:&tbnh=131&tbnw=87&ei=IYCDUdGSMIaM7Aapv4HgCO&prev=/search%3Fq%3Dla%2Bfusariose%2Bde%2Bla%2Btomate%2Bcollet%26start%3D20%26um%3D1%26sa%3DN%26biw%3D1366%26bih%3D677%26hl%3Dfr%26tbn%3Disch&um=1&itbs=1&sa=X&ved=0CDUQrQMwBTgU)  
(consulté le : 03/05/2013, 10 :15h).
12. <http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/pest/decisions/erc2010-07/index-fra.php>(Consulté le: 15/05/2013, 20:23h).
13. [http://www.jle.com/fr/revues/agro\\_biotech/agr/e-docs/00/04/1b/2c/resume.phtml](http://www.jle.com/fr/revues/agro_biotech/agr/e-docs/00/04/1b/2c/resume.phtml)  
(Consulté le: 15/05/2013, 18:23h).



# Résumé

Produced With Scantopdf

Parmi les champignons, agents de maladies vasculaires, ceux appartenant au genre *Fusarium*, d'origine tellurique les plus fréquents et les plus dommageables pour les cultures.

En Algérie, au cours de ces dernières années, les cultures de la tomate sous serre et en plein champ ont subi d'énormes dégâts provoqués par deux types de fusariose, la flétrissure fusarienne causée par *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*, soit la pourriture des racines causée par *Fusarium oxysporum f.sp radidis-lycopersici*.

L'étude a porté sur 4 souches de *Fusarium oxysporum* isolées à partir des tiges, des collets et des racines et à partir de la rhizosphère de plantes de tomates atteintes de fusariose.

Deux essais ont été effectués ; le premier est le bio-essai, un test rapide et miniaturisé sur plantules de tomate qui nous a permis de confirmer à la fois, le pouvoir pathogène et la forme spéciale.

Le second essai correspond à la lutte biologique vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* en utilisant *Pseudomonas fluorescens* comme antagoniste. Cette technique consiste à mettre en évidence l'effet inhibiteur de cette dernière sur la croissance des isolats de *Fusarium oxysporum*.

**Mots clés :** *Fusarium oxysporum*, tomate, pouvoir pathogène, *Pseudomonas fluorescens*.

Produced with Scantopdf

Including the fungi, agents of vascular disease, those who belong to *Fusarium* genus and telluric sources are the most common and the most damaging to crops.

In Algeria, in the last few years, the cultures of greenhouse tomatoes and those which are planted in fields have suffered a huge damage caused -by two types of *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* either rot root and collar rot caused by *Fusarium oxysporum f.sp radialis-lycopersici*.

The study was focused on four strains of *Fusarium oxysporum* isolated from the stem, collar, and roots and from the rhizospher of tomato plants.

Two tests were done: the first is the bio-test, a quick test and miniaturized on tomato plantlets which allowed us to confirm both the pathogenicity and the special form.

The second test is the biological control against to the *Fusarium oxysporum* using *Pseudomonas fluorescens* as antagonist. This technique is to demonstrate the inhibitory effect of the latter on the growth of isolates of *Fusarium oxysporum*.

**Keywords:** *Fusarium oxysporum*, tomato, pathogenicity, *Pseudomonasfluorescens*.

Produced with Scantopdf

من بين الفطريات، المسببة للأمراض الوبائية، تلك التي تنتمي إلى جنس *Fusarium* أصلها تراثية جد منتشرة، والأكثر ضررا للمحاصيل .  
 في الجزائر، وفي السنوات الأخيرة، عانت مزارع الطماطم المحمية و المزرعة في الحقول ضررا هائل بسبب نوعين من مرض الفيزاريوز، النبول والمتسبب فيه *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* أو تعفن الجذور والمسبب فيه *Fusarium oxysporum f. sp. radice lycopersici* .  
 ارتكزت الدراسة على أربعة سلالات من *Fusarium oxysporum* التي تم عزلها من السيقان والجذور ومنطقة الجذور لنباتات الطماطم المصابة بمرض الفيزاريوز.  
 اجريا اختبارين، الأول لاختبار البيولوجي، هو اختبار مصغر وسريع على نباتات الطماطم الفتية مكننا من إثبات القدرة المرضية وشكل السلالة في آن واحد .

الاختبار الثاني يتمثل في المكافحة البيولوجية باستخدام *Pseudomonas fluorescens* كمضاد لفطر *Fusarium oxysporum* . هذه التقنية إثبات على التأثير المثبط لنمو أربعة سلالات من الفطريات المسببة للمرض .  
 الكلمات المفتاحية : *Fusarium oxysporum* ، الطماطم، القدرة الممرضة ، *Pseudomonas fluorescens* .

Produced with Scantopdf