

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun -Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master académique

Domaine : "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière : " Sciences Biologiques"

Spécialité : "Sciences des Procédés Biotechnologiques et Agro-alimentaires"

Thème

Etude morphologiques des champignons phytopathogènes de la tomate

Présenter et soutenu publiquement par :

M^{elle}. BELMADANI Khaldia

M^{elle}. BOUDALI Soumia

M^{elle}. BOURIAH Nacéra

Membre de jury :

Présidente: M^{elle}. BOUBAKER. B. MAA.

Promoteur: M^f. YEZLI. W. MAA.

Examinatrice: M^{elle}. MEDJEBER. N. MAA.

Année universitaire : 2014 -2015

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé La force, le courage et les moyens de pouvoir accomplir ce modeste travail.

C'est avec beaucoup de reconnaissance et de respect que nous adressons nos sincères remerciements à l'égard de notre encadreur, Monsieur YEZZI Wassim, qui nous a donné l'honneur de diriger ce travail, pour ses conseils avisés et ses grandes qualités scientifiques.

Nos profondes remerciements vont aussi au membre du jury pour avoir accepté l'examinassions de notre travail, pour leurs remarques judicieuses et leurs otiques enrichissantes qui vont valoriser notre mémoire.

Nous tenons a remercié tous particulièrement Mr.HOUCINE. L, pour ces précieux conseils et leur soutien.

Nos sincères remerciements vont à l'équipe du laboratoire de microbiologie notamment Abdelkader, Fatima et Souria pour leurs encouragements.

En fin, que tous ceux qui ont participe de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouveront ici l'expression de notre profonde gratitude.

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à mes parents que je tiens à remercier affectueusement pour m'avoir accordé toute leur confiance, leur soutien et permis de faire de longues études. Aussi pour leur grande compréhension dans les moments difficiles, pour m'avoir supporté, aidé et encouragé. Je m'excuse pour tous les tracas et stress que vous avez subi avec moi, en ces quelques lignes je vous exprime ma profonde reconnaissance « que dieu vous garde pour moi».

De même façon je remercie mon cher frère Miloud et ma belle sœur Aicha pour toute l'aide et la patience dont ils ont fait preuve et toute ma famille proche ou éloignée pour leur soutien moral.

Enfin à mes chères Fatoum, Fatima et Rachida et tous mes amis.

SOUMLA

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à mes parents que je tiens à remercier affectueusement pour m'avoir accordé toute leur confiance, leur soutien et permis de faire de longues études. Aussi pour leur grande compréhension dans les moments difficiles, pour m'avoir supporté, aidé et encouragé. Je m'excuse pour tous les tracas et stress que vous avez subi avec moi, en ces quelques lignes je vous exprime ma profonde reconnaissance « que dieu vous garde pour moi».

De même façon je remercie mes deux frères Amine et Zakaria et mes chères sœurs Fattouma et Aicha pour toute l'aide et la patience dont ils ont fait preuve et toute ma famille proche ou éloignée pour leur soutien moral.

Enfin à tous mes chères amies.

NACÉRA

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à mes parents que je tiens à remercier affectueusement pour m'avoir accordé toute leur confiance, leur soutien et permis de faire de longues études. Aussi pour leur grande compréhension dans les moments difficiles, pour m'avoir supporté, aidé et encouragé. Je m'excuse pour tous les tracassés et stress que vous avez subi avec moi, en ces quelques lignes je vous exprime ma profonde reconnaissance « que dieu vous garde pour moi».

De même façon je remercie mes chères frères Mohamed, Rabeih, Hakim, Yacine et Abd djalil et ma chère sœur Fatima pour toute l'aide et la patience dont ils ont fait preuve et toute ma famille proche ou éloignée pour leur soutien moral.

Enfin à tous mes chères amies.

KHALIDA

Liste des Abréviations

FAO	: Food Agriculture Organisation
FOL	: <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .
f.sp.	: forme spéciale
Ha	: Hectare
MADR	: Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural
PDA	: Potato Dextrose Agar
q.s.p.	: quantité suffisante pour
Qx	: Quintaux
STAT	: Statistiques
spp.	: espèce

Liste des Figures

Figure n° 01 – Feuille de tomate	4
Figure n° 02 – Fleure de tomate	4
Figure n° 03 – Fruit de tomate	5
Figure n° 04 – Tige de tomate	5
Figure n° 05 – Système racinaire de la tomate	5
Figure n° 06 – Graines de tomate	6
Figure n° 07 – Tomate <i>Lycopersicum esculentum</i>	6
Figure n° 08 – protocole expérimental	18
Figure n° 09 – Echantillonnage des plantes de tomate <i>Lycopersicum esculentum</i>	19
Figure n° 10 – Isolement à partir de la plante (Tige, racine, feuille)	20
Figure n° 11 – Culture monospore	22
Figure n° 12 – Confrontation de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> et de <i>T. harzianum</i> par contact direct sur milieu PDA.	24
Figure n° 13 – Confrontation à distance entre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> et <i>T. harzianum</i>	25
Figure n° 14 – Isolements des champignons à partir des organes des plantes et de la rhizosphère	26
Figure n° 15 – Spores en germination sur milieu Agar 2%	27
Figure n° 16 – Représentation de la morphologie cotonneuse	29
Figure n° 17 – Représentation de la morphologie duveteuse	30
Figure n° 18 – Représentation de la morphologie rase et muqueuse	31
Figure n° 19 – Observation macroscopique d’une colonie de <i>Trichoderma</i> (isolat 3VR1)....	31
Figure n° 20 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Trichoderma</i> (isolat 4BR1).....	32
Figure n° 21 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Fusarium</i> (isolat 2BR2).....	32
Figure n° 22 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Fusarium</i> (isolat 2BR1).....	33
Figure n° 23 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Penicillium</i> (isolat 10VS3)	33
Figure n° 24 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Penicillium</i> (isolat 14VSPV).	34
Figure n° 25 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Alternaria</i> (isolat 29NT2).....	34
Figure n° 26 – Observation macroscopique d’une colonie <i>Alternaria</i> (isolat 30MT3)	35
Figure n° 27 – Observation microscopique du genre <i>Alternaria</i> (Objectif x40)	36
Figure n° 28 – Observation microscopique du genre <i>Fusarium</i> (Objectif X40).....	36

Figure n° 29 – Observation microscopique de genre <i>Trichoderma</i> (Objectif x40)	37
Figure n° 30 – Observation microscopique du genre <i>Penicillium</i> (Objectif x40).....	37
Figure n° 31 – Répartition des genres fongiques isolés obtenus à partir les plantes de la tomate et de rhizosphères	38
Figure n°32 –Effet inhibiteur direct du <i>T. harzianum</i> sur la croissance mycélienne du <i>F.</i> <i>oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> pour une durée d’incubation de six jours à 28°C.....	40
Figure n° 33 – : Présentation des taux d’inhibition de FOL par <i>T. harzianum</i> a 3 ^{ème} et 6 ^{ème} jour d’incubation par confrontation directe	41
Figure n° 34 – Effet inhibiteur des substances volatiles du <i>T. harzianum</i> sur la croissance mycélienne de (Fol) pour une durée d’incubation de six jours à 28 °C	42
Figure n° 35 – présentation des taux d’inhibition de FOL par les substances volatiles de <i>T.</i> <i>harzianum</i> au 3 ^{ème} et 6 ^{ème} jour d’incubation par confrontation indirecte.....	42

Liste des Tableaux

Tableau n° 1 – Production mondiale de tomate en 2012.....	9
Tableau n° 2 – Evolution de la tomate maraichère en Algérie entre 2001-2009.....	10
Tableau n° 3 – Matériel utilisé au laboratoire	17
Tableau n° 4 –Caractères macroscopiques de quelques isolats obtenus après purification	28
Tableau n° 5 – Caractéristiques morphologiques des genres des champignons isolés	39

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux.....	iii
Introduction.....	1

Première partie : Synthèse Bibliographique

Chapitre I:

Plante hôte

I.1. Historique et origine de la tomate	3
I.2. Description botanique	3
I.2.1. Feuillage.....	3
I.2.2. Fleurs.....	4
I.2.3. Fruit.....	4
I.2.4. Tige	5
I.2.5. Racine	5
I.2.6. Graines	6
I.3. Position systématique	6
I.4. Culture de la tomate	7
I.4.1. Température	7
I.4.2. Lumière	7
I.4.3. Eau et humidité	7
I.4.4. Sol	7
I.5. Production et importance économique dans le monde	8
I.6. Production et importance économique de la tomate en Algérie	10

Chapitre II :

Maladies de la tomate

II.1. Maladies rencontrées dans les cultures de la tomate	11
II.2. Pathologies parasitaires	11
II.2.1. Pathologies fongiques.....	11

Chapitre III :

Moyens de lutte

III.1. Lutte culturale	14
III.2. Lutte génétique.....	14
III.3. Lutte physique	14
III.4. Lutte chimique	15
III.5. Lutte biologique	15

Deuxième partie : Synthèse Expérimentale

Chapitre I:

Matériel et méthodes

I.1. Objectif	17
I.2. Lieu et période du travail	17
I.3. Matériel et méthodes	17
I.3.1. Matériels biologique.....	17
I.3.2. Matériel de laboratoire	17
I.4. Protocole expérimental	18
I.4.1. Echantillonnage.....	18
I.4.2. Isolement	19
I.4.2.1. A partir de la plante	19
I.4.2.2. Isolement à partir de la rhizosphère.....	20
I.4.3. Purification	21

I.4.4. Identification	22
I.4.4.1. Etude macroscopique.....	23
I.4.4.2. Etude microscopique	23
I.4.5. Effet inhibiteur in vitro du <i>Trichoderma harzianum</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. lycopersici.....	23
I.4.5.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture solide.....	24
I.4.5.2. Confrontation à distance sur milieu de culture solide	24

Chapitre II:

Résultats et discussion

A/ Résultat	26
II.1. Isolement des champignons	26
II.2. Purification des champignons.....	27
II.3. Etude morphologique des isolats	27
II.3.1. Etude macroscopique.....	27
II.3.1.1. Caractéristique macroscopique des genres fongiques.....	31
II.3.2. Etude microscopique	35
II.4. Effet inhibiteur in vitro du <i>Trichoderma harzianum</i> sur <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. lycopersici (FOL)	40
II.4.1. Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> et <i>Trichoderma harzianum</i>	40
II.4.2. Confrontation à distance entre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> et <i>Trichoderma harzianum</i>	41
B/ Discussions.....	43
Conclusion	48
Références bibliographiques	49
Annexes	56

Introduction

Introduction

La tomate, considérée comme fruit, est l'un des produits agricoles les plus consommés dans le monde. Elle constitue une source non négligeable de minéraux, vitamines et certains composés naturels secondaires ayant un potentiel antioxydant important (**Zidani, 2009**). La production mondiale de la tomate a été estimée à 159 millions de tonnes en 2011 (**FAO-STAT, 2013**).

Les plantes subissent de nombreuses attaques de bio-agresseur. Parmi eux, les champignons phytopathogènes qui causent des maladies sur tous les organes des plantes (**Ignjatov et al., 2012**). Ces champignons suivent un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (**Garrido et al., 2012**).

Pour diminuer les pertes de rendement occasionnées sur des plantes d'intérêt agricole, des méthodes de lutte classiques, comme l'utilisation de la résistance des plantes et l'application des fongicides, sont déployées. Leur limites d'efficacité sont maintenant connues (**Ignjatov et al., 2012**).

Dans la nature, plusieurs micro-organismes sont utiles, tandis que d'autres constituent de véritables ennemis et entravent le développement de la plante et de son système racinaire. Certains agents pathogènes du sol sont responsables d'importantes pertes de récoltes en causant diverses maladies dont Le *Fusarium oxysporum* représentant typiquement la microflore des sols cultivés. Bien qu'il soit saprophyte à pouvoir compétitif très étendu, il peut développer une phase parasitaire la plus dommageable. On connaît chez cette espèce, de nombreuses formes spéciales, parmi lesquelles : *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* qui engendre la flétrissure appelée communément fusariose vasculaire (**Kolai et al., 2012**).

Les fusariums sont aussi connus par la production des substances toxiques, tel que l'acide fusarique et la lycomarasmine provoquent le jaunissement et le flétrissement des organes foliacés (**Assigbetse, 1989**).

Par contre, plusieurs micro-organismes peuvent avoir un effet bénéfique dans le contrôle des champignons phytopathogènes et ainsi minimiser l'effet délétère des pesticides (**Adams, 1990**). Parmi ces champignons antagonistes qui ont démontré un bon potentiel de lutte, *Trichoderma spp.* (**Monte, 2001; Benitez et al., 2004 ; Vinale et al., 2008**).

Le présent travail consiste à une contribution à la recherche et l'identification des agents phytopathogènes de la tomate, ainsi que des champignons antagonistes en vue d'une lutte biologique. Il se propose dans une première étape une localisation des zones de culture par des prospections et une observation des maladies fongiques suivie d'un échantillonnage de plantes de tomates présentant des symptômes de maladies fongiques, ainsi que des plantes saines. Dans une deuxième étape un isolement des agents phytopathogènes et leur identification. Enfin, un test de lutte biologique *in vitro* par un champignon antagoniste vis-à-vis l'agent phytopathogène.

Première Partie :
Etude Bibliographique

Chapitre I :

Plante hôte

I.1. Historique et origine de la tomate

La tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) est une plante annuelle de la famille des Solanacées (**Guignard, 2001**). Le centre d'origine et de domestication de cette espèce se situe entre le Mexique et la côte ouest de l'Amérique du sud, dans une zone délimitée à l'est par les contreforts des Andes et s'étalant du sud de la Colombie au nord du Chili. Après son introduction en Espagne au 16^{ème} siècle, cette espèce a été diffusée en Afrique où elle s'est très rapidement répandue (**DE LANNON, 2001**).

Le terme tomate désigne aussi ce fruit charnu, qui est l'un des aliments les plus importants dans l'alimentation humaine et qui se consomme frais ou transformé. Etymologiquement, le mot tomate est une déformation du mot inca Tomalt et le mot *Lycopersicon* qui signifie en latin "Pêche de loup", appellation peu alléchante à laquelle on a ajouté au XVIII^{ème} siècle l'adjectif *esculentum* à cause des propriétés gustatives de ce légume-fruit (**Naika et al., 2005**).

I.2. Description botanique

La tomate est une plante herbacée appartenant à la famille des solanacées, cette famille regroupe d'autres espèces qui sont également bien connues, telle que la pomme de terre, le tabac, le poivron et l'aubergine. La tomate est généralement cultivée comme plante annuelle, elle peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres (**Chaux et Foury, 1994**).

I.2.1. Feuillage

Les feuilles sont disposées en spirale de 15 à 50 mm de long et de 10 à 30 mm de large avec un pétiole mesurant entre 3 et 6 cm de long. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires (**Figure n°01**). Les vieilles feuilles perdent leur pouvoir photosynthétique et deviennent même nuisibles pour la plante, responsables du retard de croissance des fruits (**Naika et al., 2005**).



Figure n°01 : Feuille de tomate (Hamini, 2011)

I.2.2. Fleurs

Les fleurs sont bisexuées, régulières de 1,5 et 2 cm de diamètre. Elles poussent opposées aux feuilles ou entre elles. Le tube du calice est court et velu, les sépales sont parfois persistants. La corolle est constituée en général de six pétales qui peuvent atteindre une longueur de 1 cm. Elles sont jaunes et courbées lorsqu'elles sont mûres (**Figure n°02**). L'androcée est formée de quatre étamines, les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le style qui a une extrémité stérile allongée. Le gynécée dont l'ovaire est supère est formé de deux à neuf carpelles. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu grâce aux abeilles et aux bourdons qui sont les principaux pollinisateurs (**Naika et al., 2005**).



Figure n°02 : Fleure de tomate (Si Mohammed, 2010)

I.2.3. Fruit

Le fruit est une baie plus ou moins grosse (**Figure n°03**), de forme variable (sphérique, oblongue, allongée), et de couleurs variées (blanches, rose, rouge, jaune, orange, verte, noire) selon les variétés (**Renaud, 2003**).



Figure n°03 : Fruit de tomate (Hamini, 2011)

I.2.4. Tige

La tige pousse jusqu'à une longueur de 2 m, elle est pleine et fortement poilue et glandulaire (**Figure n°04**). Le port de croissance varie entre érigé et prostré (**Naika et al., 2005**).



Figure n°04 : Tige de tomate (Si Mohammed, 2010)

I.2.5. Racine

La plante de tomate possède une forte racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus (**Figure n°05**), la racine principale produit une densité de racines latérales et adventices (**Naika et al., 2005**).



Figure n°05 : Système racinaire de la tomate (Hamini, 2011)

I.2.6. Graines

Les graines sont nombreuses : en forme de rein ou de poire (**Figure n°06**), elles sont poilues, beiges, de 3 à 5 mm de long et de 2 à 4 mm de large (**Naika *et al.*, 2005**).



Figure n°06 : Graines de tomate (**Si Mohammed, 2010**)

I.3. Position systématique (**Rick *et al.*, 1990**)

Embranchement : Phanérogames

Ordre : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Gamopétales

Famille : Solanacées

Genre : *Lycopersicum*

Espèces : *esculentum*, *pimpinellifolium*, *cheesmanii*, *hirsutum*, *perviflarum*, *chmielewskii*, *peruvianum*, *pennelli*.



Figure n°07 : Tomate *Lycopersicum esculentum* (**ORIGINALE, 2015**)

I.4. Culture de la tomate

La culture de la tomate a des exigences écologiques :

I.4.1. Température

La tomate demande un climat relativement frais et sec pour fournir une récolte abondante et de qualité. Cependant, la plante s'est adaptée à une grande diversité de conditions climatiques, allant du climat tempéré vers le climat tropical chaud et humide. La température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24°C. Les plantes peuvent surmonter un certain intervalle de températures, mais en-dessous de 10°C et au-dessus de 38°C les tissus des plantes seront endommagés (Naika *et al.*, 2005).

I.4.2. Lumière

La plante est indifférente à la photopériode pour la floraison, mais en jours relativement longs, on observe une croissance supérieure de même qu'une augmentation de la teneur en matière sèche des fruits (De Lannoy, 2001).

I.4.3. Eau et humidité

La tomate exige un arrosage abondant, le stress causé par une carence en eau et les longues périodes arides font tomber les bourgeons et les fleurs et provoquent le fendillement des fruits. Par contre, les averses très intenses et l'humidité très élevée favorisent la croissance des moisissures et la pourriture des fruits (Naika *et al.*, 2005).

I.4.4. Sol

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention d'eau, une bonne aération (Naika *et al.*, 2005).

La tomate tolère modérément un large intervalle de pH, mais pousse le mieux dans des sols dont la valeur du pH varie entre 5,5 et 6,8 et où l'approvisionnement en éléments nutritifs est adéquat et suffisant (Naika *et al.*, 2005).

Le choix des variétés est également une exigence pour la culture de la tomate, les critères de sélection sont basés sur des caractéristiques telles que le type de fruit, la forme de la plante, la vitalité, la résistance aux ravageurs et aux maladies, mais également sur des facteurs liés au climat et à la gestion (**Naika et al., 2005**).

I.5. Production et importance économique dans le monde

La tomate est, après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde. Selon les statistiques de l'organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, la production mondiale de tomates s'élevait en 2007 à 126,2 millions de tonnes pour une surface de 4,63 millions d'hectares, soit un rendement moyen de 27,3 tonnes à l'hectare (**FAO-STAT, 2009**).

Son adaptation comme culture en serre, sa facilité de transformation et d'utilisation ont fait d'elle une culture qui prend de l'ampleur d'année en année. Sa dispersion s'étend des régions nordiques aux régions tropicales en passant par les régions les plus chaudes du globe. Le **tableau n°01** montre les productions de tomate dans le monde en 2012 (**FAO, 2012**)

Tableau n°01: Production mondiale de tomate en 2012 (FAO STAT ,2012)

Position	Région	Production (1000S Int)	Production (T)
1	Chine, continentale	18478200	50000000
2	Inde	6467370	17500000
3	États-Unis d'Amérique	4880813	13206950
4	Turquie	3565330	11350000
5	Égypte	3187570	8625219
6	Iran (République islamique d')	2217384	6000000
7	Italie	1896593	5131977
8	Brésil	1431685	3873985
9	Espagne	1425408	4007000
10	Mexique	1268922	3433567
11	Ouzbékistan	979344	2650000
12	Fédération de Russie	907686	2456100
13	Ukraine	840425	2274100
14	Nigéria	576519	1560000
15	Portugal	514691	1392700
16	Maroc	450524	1219071
17	Iraq	406520	1100000
17	Tunisie	406520	1100000
19	Grèce	362024	979600
20	Indonésie	328008	887556
.			
.			
51	Algérie	294529	796963

Selon le **Tableau n°01**, les deux premiers pays producteurs mondiaux sont la Chine suivie des Inde. Avec plus de 10 millions de tonnes de tomates produites chaque année. Les Etats-Unis d'Amérique occupent le troisième rang mondial. De nombreux pays tels que la Turquie, l'Égypte, l'Iran, l'Italie le Maroc et la Grèce produisent également chaque année plus d'un million de tonnes de tomates. Enfin, des pays comme la France et les Pays-Bas ont une production plus modeste de quelques centaines de milliers de tonnes (**Desmas, 2005**).

I.6. Production et importance économique de la tomate en Algérie

La tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher en Algérie. Elle est considérée à juste que la pomme de terre, l'ail et l'oignon, qui forment un groupe d'espèces prioritaires. Sa production est en plein expansion, à la faveur de nombreux programmes mis en place par le Ministère de l'agriculture et du développement rural (**Tableau n°02**). A cet effet, de nouvelles techniques de productions sont introduites ces dernières années permettant plus de rendement à l'hectare (**FAO, 2008**).

Tableau n°02: Evolution de la tomate maraîchère en Algérie entre 2001-2009 (**MADR, 2009**)

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<i>Superficies (Ha)</i>	16760	17820	18650	19432	21089	20436	20079	19655	20789
<i>Productions (Qx)</i>	3735340	4013640	4569330	5121950	5137280,4	5489336	5673134	5592491	6410343
<i>Rendements (Qx/Ha)</i>	222,87	225,2	245	263,6	243,6	268,6	282,5	284,5	308,4

Les statistiques de l'année 2009 établie par le Ministère de l'agriculture font état d'une superficie globale de tomate maraîchère cultivée de 21 320 Ha avec un rendement de 6.5 millions de quintaux et les wilayas potentielles pour la production de cette catégorie de la tomate sont Skikda, Annaba, El Taref et Guelma. Elle a démarré dans les années 1920, dans la région de l'est avec la création de la première conserverie TOMACOOOP à Bône (actuellement Annaba). Les surfaces consacrées à la tomate industrielle ont, également, augmenté, pour passer de 100 hectares en 1930 à 2 000 en 1960, pour arriver à une fourchette comprise entre 24000 et 31000 hectares ces dernières années (**Anonyme1, 2010**).

Sa production est de 3.822731Qx équivalent à 95,57% de la production totale des cultures industrielles (**Snoussi, 2010**).

Chapitre II :

Maladies de la tomate

II.1. Maladies rencontrées dans les cultures de 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, 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 (**Naika et al., 2005**).

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**).

II.2. Pathologies parasitaires

II.2.1. Pathologies fongiques

- **Le Mildiou:** causé par *Phytophthora infestans*, anciennement classé parmi les mycètes. Cette maladie peut dévaster les cultures de tomates durant les périodes fraîches et pluvieuses. Le mildiou peut s'attaquer à tous les organes aériens de la plante. Il se manifeste par des taches nécrotiques, irrégulières, d'extension rapide, entourées d'une marge livide. Sur les tiges on voit des plages brunes pouvant les ceinturer. Les fruits mildiousés bruns marbrés, irrégulièrement bosselés en surface (**Blancard, 1997**).

- **L'alternariose:** le mycètes responsable est *Alternaria tomatophila*. Il s'attaque à tous les organes aériens de la tomate et à tous les stades de croissances de la plante. Il occasionne surtout, des taches foliaires vert sombres, puis deviennent rapidement brunes à noires. Sur les tiges des taches assez comparables sont aussi constatées. Sur les fruits des taches concaves,

peut se couvrir d'une moisissure noire, veloutée. Les lésions sur fruits peuvent engendrer leur chute (**Blancard et al., 2009**).

- **Moisissure grise** : causé par *Botrytis cinerea*, la pourriture grise est une maladie réponde dans les cultures de tomate sous abris. Les symptômes observable sur fleurs, fruits, tiges, feuilles, se traduisent généralement par un pourrissement des tissus infectés, suivi par l'apparition d'un feutrage gris due a une production importante de spores. *Botrytis cinerea* peut entrainer des pertes de rendements importantes en affaiblissant les plantes et en les détruisant (**Williamson et al., 2007**).
- **Septoriose** : cette maladie causée par *Septoria lycopersici*, se manifeste sous forme de petites taches à contours angulaires, pâles au centre, bordées d'une ligne brune. De petits points noirs présentés par des pycnides se trouvent à leur surface. Les feuilles atteintes s'enroulent d'abord, puis se dessèche et tombent ce qui amène à une végétation fortement entravée (**Bovey, 1972**).
- **Oïdium**: causé par *Oïdium neolycopersici* qui provoque des taches sur feuilles assez caractéristiques des oïdiums. Celle –ci sont poudreuses et blanche et couvrent plutôt la face supérieure des folioles de tomate. Les tissus touchés deviennent chlorotiques, brunissent localement et finissent par se nécroser. Des taches comparables peuvent être observées sur la tige. Les fruits ne semblent pas affectés (**Blancard et al., 2009**).
- **Fusariose vésiculaire** : provoqué par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Ce mycète ne s'attaque qu'à certains cultivars. Les plantes infectées par ce mycète du sol présentent un jaunissement des feuilles et un flétrissement se propageant à partir de la base de la tige. Au départ, les symptômes ne sont visibles que sur une seule moitié de la surface des feuilles, des branches ou des plantes, avant de se propager à l'ensemble de la plante (**Messiaen et al., 1993**).
- **Pourriture racinaire** : causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*, elle pénètre les tissus corticaux des racines et de l'hypocotyle à

travers des blessures et aux sites d'émergence de racines secondaires (**Katan et al., 1997; Jarvis et Shoemaker, 1978**). Les plantes infectées par la pourriture racinaire présentent un brunissement des racines, de leurs cylindres centraux et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet et la présence éventuelle d'un chancre au collet (**Jarvis et Shoemaker, 1978; Couteaudier et al., 1984 ; Blancard et al., 2009**).

- **Verticilliose** : causée par *Verticillium albo-atrum* et *Verticillium dahliae*. Tout comme la fusariose, cette maladie se manifeste en premier lieu au niveau des feuilles inférieures et progresse vers la partie supérieure de la plante. Contrairement à la fusariose, les symptômes de la Verticilliose se manifestent sur l'ensemble de la surface des feuilles, des branches ou des plantes (**Ruocco et al., 2011**).
- **Cladosporiose** : causée par *Pasalora fulva* très spécifique de la tomate est mondialement répandu. Ce mycète, parasite essentiellement foliaire, provoque des taches vert clair à jaune pâle. Les tissus situés au centre des taches brunissent, se nécrose et se dessèche tandis que les feuilles s'enroulent. La tige peut aussi être affectée (**Blancard et al., 2009**).
- **Racine liégeuses** : le responsable de cette maladie est *Pyrenochaeta lycopersici* s'attaque essentiellement au système racinaire de la tomate. Les racines révèlent, localement, des altérations brunes et lisses. Les plantes attaquées voient la taille de leur système racinaire plus ou moins limitée (**Blancard et al., 2009**).
- **L'Anthracnose**: causée par le mycète pathogène *Colletotrichum coccodes*. Les symptômes se manifestent sur les fruits mûrs ou arrivant à maturation sous forme de petites tâches rondes creusées dans la peau. Lorsque ces tâches s'étendent, leur centre prend une couleur sombre ou développe des anneaux concentriques mouchetés produisant des spores (**Ruocco et al., 2011**).

Chapitre III :

Moyens de lutte

III. Moyens de lutte

Les plantes comme tous les organismes vivants, subissent l'action de divers parasites. Ces organismes nuisibles s'attaquent directement aux tissus des plantes, où ils entrent avec eux en concurrence sur le plan des ressources comme l'air, l'eau et les éléments nutritifs du sol (**Metcalf et Luckaman, 1994**).

III.1. Lutte culturale

Barna en **1985** souligne l'importance de maintenir une fertilisation azotée élevée surtout sous forme de nitrates (fumier) afin de produire beaucoup de pousses jeunes. La méthode de prévention la plus courante est de chauler afin de maintenir le pH entre 6.4 et 7.0 (**Scott, 1923**).

Des chercheurs de Taiwan (**Sun et Huang, 1985**) ont mis au point un amendement organique et minéral qui à raison de 1% par poids de sol permet de contrôler efficacement diverses espèces de *Fusarium*. Leur mélange - le mélange S-H - contient: 4,4% de bagasse (résidus de canne à sucre); 8,4% de son de riz; 4,25% de coquilles d'huîtres; 8,25% d'urée; 1,04% de nitrate de potassium; 13,16% de superphosphate de calcium; 60,5% de cendres minérales constituées de 31% de dioxyde de silice, 4,4% d'oxyde de calcium, 1,7% d'oxyde de magnésium, 18% d'oxyde d'aluminium et 1% d'oxyde ferreux (**Booth, 1971**).

III.2. Lutte génétique

La lutte génétique exploite la diversité phyto-génétique afin de cerner la maladie et peupler les zones dévastées. Cette technique consiste à introduire des gènes de résistance au niveau des plantes appelle : plante trans-génétique, ces gènes produisent des protéines susceptible pour éliminer le parasite. Mais cette technique fut inefficace car il y a eu l'apparition de nouvelles races plus virulentes du parasite (**Henni, 1998**).

III.3. Lutte physique

Anchisi et al en **1985** ont développé un traitement à l'eau chaude pour protéger les plants dans un sol où l'on sait la maladie présente. La méthode consiste à traiter les

racines avec de l'eau à 48- 49°C pendant 30 secondes avant de transplanter ou moins de 48 heures après. Cela stimule la croissance des racines.

La taille des racines amène aussi une protection contre la fusariose pour la même raison. La stérilisation ou la solarisation ne sont pas des solutions à long terme (Corbaz, 1990).

III.4. Lutte chimique

Elle est efficace contre la Fusariose, mais présente beaucoup d'effets néfastes. Cette lutte se fait par une désinfection du sol en utilisant des fongicides afin d'éliminer le maximum de plantes malades, les résidus de culture. Et une désinfection des plantes pour éliminer les transporteurs des maladies (Hislop, 1993).

Selon Touze en 1979, il existe de nombreux inconvénients :

- L'apparition de souches de *Fusarium* résistantes aux fongicides difficiles à traiter.
- Le déséquilibre de la microflore du sol par la destruction de certains antagonistes de la fusariose (l'élimination des micro-organismes participants au maintien de l'équilibre de l'écosystème).
- Pollution de l'atmosphère, de l'eau et du sol.
- Le coût élevé du traitement.
- L'intoxication des êtres vivants consommateurs des plantes traitées.

Cette lutte chimique reste utiliser pour des raisons essentiellement d'ordre économique et facilité de mise en œuvre.

Des chercheurs de Taiwan Sun et Huang en 1985 ont mis au point un amendement organique et minéral qui à raison de 1 % par poids de sol, permet de contrôler efficacement diverses espèces de *Fusarium*.

III.5. Lutte biologique

La lutte biologique est un ensemble de procédés exploitant la relation de concurrence ou d'antagonistes existant entre vivantes y compris les champignons, en vue de minimiser ou de limiter les dommages ainsi que l'abondance des agents

phytopathogènes sans nécessairement les détruire par la suite (**Alabouvette et al ., 1984**).

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux micro organisation tel que les bactéries et les champignons dans l'espoir de mettre au point un procédé de lutte efficace capable de limiter la gravité des fusarioses, parmi ces bactéries on site les bactéries lactiques, *Pseudomonas fluoresces*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens* et parmi les champignons il existe les *Fusarium* non pathogène et *Trichoderma hazianum* (**Alabouvette et al., 1984**).

Les études d'**Alabouvette** ont **1986** montré que l'introduction d'un mélange de souches de *Fusarium oxysporum* non pathogène permet d'établir un très bon niveau de résistance dans le sol traité à la chaleur, alors que l'introduction d'un mélange de souches *Pseudomonas* et du *Fusarium* ne se traduit pas un effet synergique, le niveau de résistance observé étant comparable à celui déterminé par les *Fusarium* (**Couteaudier et al., 1985**).

Les *Trichodermas*, en particulier *Trichoderma hamatum bain* et *Trichoderma harizianum rifai* sont des agents possibles de lutte biologique contre les champignons telluriques parasites des cultures (**Zaid, 2010**).

En **1982** **Sher** et **Baker** attribuent un rôle prépondérant aux *Pseudomonas fluorescens* produisant des sidérophores capable de complexer le fer nécessaire au développement des *Fusarium* (**Couteaudier et al., 1985**).

Deuxième Partie :
Etude expérimentale

Chapitre I :

Matériel et Méthodes

I.1. Objectif

L'objectif de ce travail est une contribution à la recherche et l'identification des agents phytopathogènes de la tomate, ainsi que des champignons antagonistes en vue d'une lutte biologique.

I.2. Lieu et période du travail

Ce travail a été réalisée pendant une période de trois mois, allant du mois de Mars au mois de Mai 2015 ; dans le laboratoire de microbiologie, la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

I.3. Matériel et méthodes

I.3.1. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé c'est des plantes de tomate présentant des symptômes de maladies fongiques, ainsi que des plantes saines provenant de la wilaya de Mostaganem (Mezaghrane) et d'Oran (Sidi Maarouf) respectivement en plus d'une partie de leurs rhizosphères.

I.3.2. Matériel de laboratoire

Tableau n°03 : Matériel utilisé au laboratoire

Verrerie	Appareillage	Milieus de culture	Autre produits	Autre matériels
- Boîtes de Pétri - Bécher - Pipettes Pasteur - - Pipettes graduées - tubes à essais - lames et lamelles	- Agitateur - Autoclave - Incubateur - Vortex - Balance - Bec de Bunsen -Microscope optique	- PDA(Potato Dextrose Agar) - - Agar 2%	- Eau distillée stérile - Bleu de méthylène - Eau de javel 2%	- Pissettes - Scalpel stérile - Anse de platine - Pince

I.4. Protocole expérimental

Afin de réaliser notre étude expérimentale, nous avons procédé comme suit : la **Figure n°08** résume les étapes suivies.

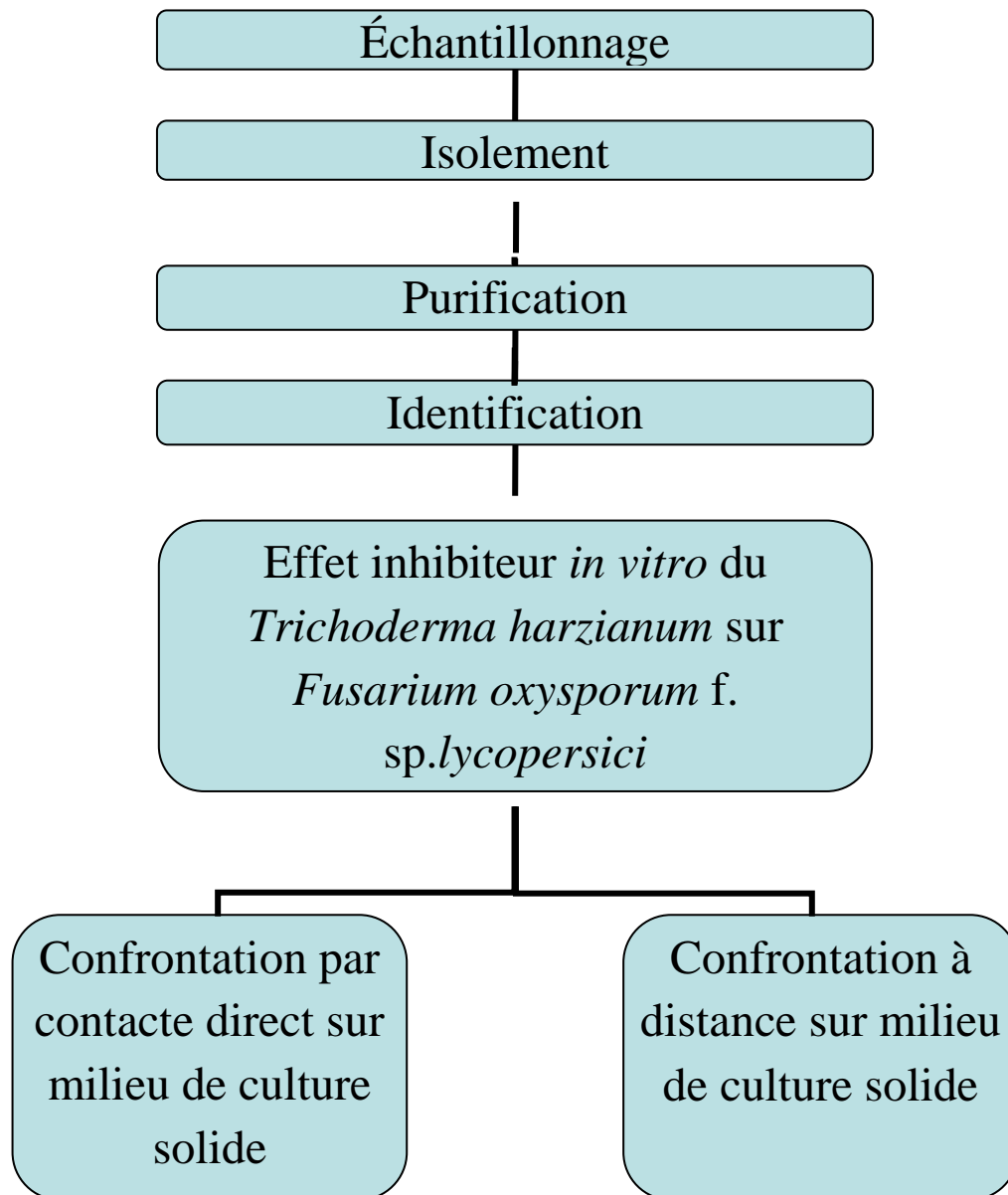


Figure n°08: Protocole expérimental

I.4.1. Echantillonnage

Les prélèvements des échantillons sont effectués à partir de différentes plantes de tomate qui présentent des symptômes de maladie en plus des plantes saines (**Figure n°09**). Les échantillons prélevés ont été placés dans des sacs en papier et

transportés au laboratoire pour l'isolement et l'identification des agents phytopathogènes.



Figure n°09 : Echantillonnage des plantes de tomate *Lycopersicum esculentum*

I.4.2. Isolement

I.4.2.1. À partir de la plante

La technique consiste d'abord à découper longitudinalement le matériel végétale (racines, tiges et feuilles) en petits fragments de 2 cm, ensuite rincer à l'eau distillée, puis désinfecté avec l'eau de javel à 2% 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 l'eau de Javel. Après rinçage, 2 à 3 fragments sont mis dans des boîtes de Pétri (**Figure n°10**) contenant du milieu PDA (voir annexe I), ces dernières sont incubées à 28°C pendant 7 jours (**Davet et Rouxel, 1997**).

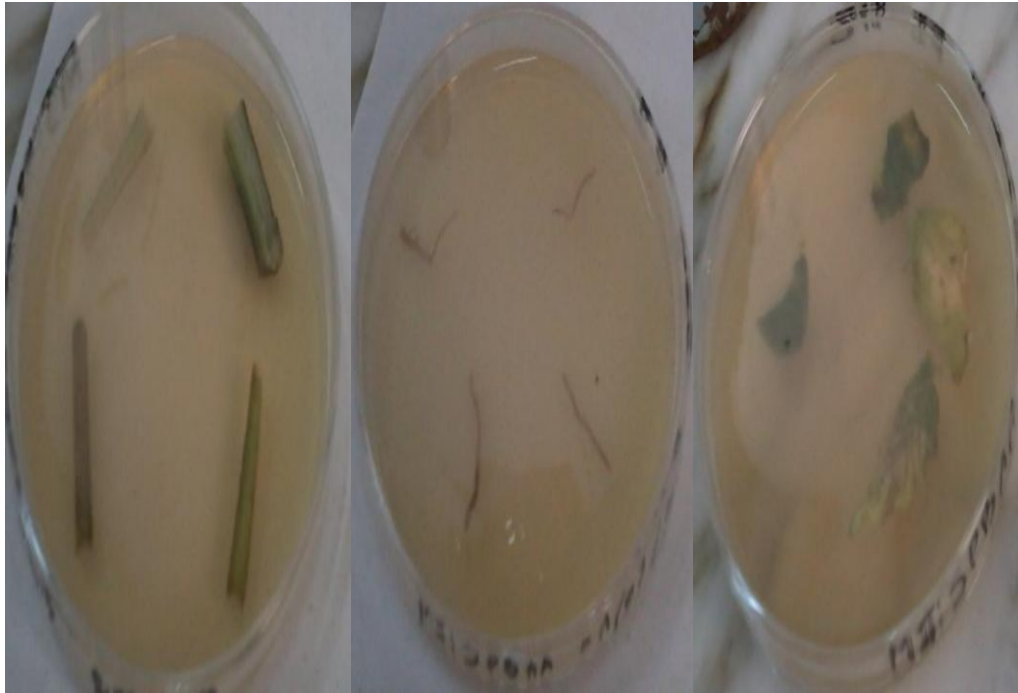


Figure n°10 : Isolement à partir de la plante (Tige, racine, feuille) (ORIGINALE, 2015)

I.4.2.2. Isolement à partir de la rhizosphère

Il existe deux types de techniques permettant de détecter la présence des champignons dans le sol et de les isoler.

➤ **Technique directe :**

Les échantillons du sol sont prélevés à 10 cm de profondeur, ils sont ensuite tamisés puis mis à sécher dans une étuve à 28°C pendant 7 jours (Hoking et Stuart, 1987).

Le principe consiste ensuite à incorporer le sol directement dans le milieu PDA, c'est la technique des « sols plats » de Warcup en 1950. Le milieu PDA coulé dans les boîtes de Pétri est maintenu en surfusion à 37- 40°C, une faible quantité de terre (5-15 mg) est saupoudrée puis immédiatement dispersée dans le milieu en agitant délicatement jusqu'à solidification, les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 28°C pendant 7 jours (Davet et Rouxel, 1997 ; Henni, 1998).

➤ **Technique indirecte :**

Le principe consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau distillée stérile (1 g de terre 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^{-6} . Rappelons que pour réaliser ces différents prélèvements, il est primordial d'utiliser des pipettes stériles qui sont changées à chaque dilution. Une fois les dilutions obtenues, 1 ml de chaque dilution est versés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (trois boîtes pour chaque dilution). Après homogénéisation, les boîtes de Pétri sont incubées à 28°C pendant 7 jours (**Rapilly, 1968**).

I.4.3. Purification

➤ **Repiquage successif :**

Après une semaine d'incubation, des filaments mycéliens apparaissent autour des petits fragments des tiges, des racines et des feuilles. A partir de là, nous procédons alors à la recherche des champignons phytopathogènes. Après une identification primaire, nous effectuons des repiquages successifs dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant du milieu PDA pour obtenir des cultures plus ou moins pures (**Rapilly, 1968**).

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 (**Rapilly, 1968**).

➤ **Culture monospore :**

Le but de cette technique est d'obtenir un matériel fongique génétiquement homogène, les cultures monospores sont obtenues de la manière suivante dans des conditions stériles. Un fragment de mycélium est introduit dans 9 ml d'eau distillée stérile, après une agitation avec le vortex la suspension sporale est diluée à fin de minimiser le nombre de spores / ml. Une goutte de la suspension contenant, généralement 2 à 5 microconidies est déposée et étalée à la surface du milieu Agar 2% en boîte de pétri, après l'incubation à 28°C pendant 24 à 48 heures, sous une loupe binoculaire, les germinations issues d'une seule spore unique sont repiquées sur une

autre boîte de pétri contenant un milieu PDA (**Figure n°11**). Après 7 jours, le comportement de chaque thalle issue de la germination des microconidies est observée (croissance, aspect du mécylium et pigmentation). Si tous les thalles présentent des caractères morphologiques identiques entre eux et à ceux de la culture mère, un seul est choisi pour constituer le clone représentatif de la souche de départ (**Henni, 1998**).

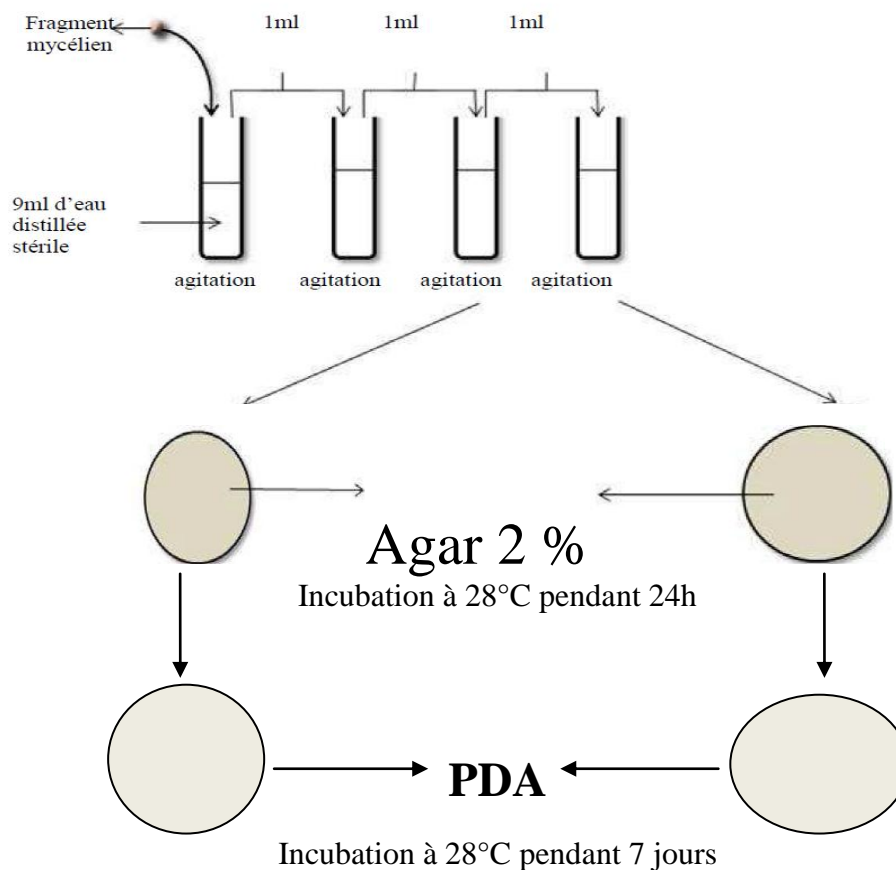


Figure n°11 : Culture monospore (Hamini, 2011)

I.4.4. Identification

Cette identification se base sur des caractères macroscopiques (couleur et l'aspect de mycélium) en plus une observation microscopique (la taille et la forme des microconidies, macroconidies et les chlamydozores) afin de reconnaître et identifier les champignons phytopathogènes de la tomate (**Eyquem et al., 1998 ; Guiraud, 1998**).

I.4.4.1. Etude macroscopique

Les différentes formes de reproduction asexuées de chlamydospores, microconidies et macroconidies représentant des caractères morphologiques stable et spécifique pour chaque champignon phytopathogène permettant ainsi l'identification de la culture mycélienne en utilisant la clé de détermination des champignons (**Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1971 ; Nelson *et al.*, 1983**).

L'aspect macroscopique des colonies est observé directement à l'œil nu sur la gélose après purification, il permet de connaître la forme, le contour, la texture, la couleur et la viscosité et la vitesse de croissance (**Guiraud, 1998**).

I.4.4.2. Etude microscopique

Pour bien montrer les caractères microscopiques de ces champignons, on a appliqué la technique de drapeau qui permet d'examiner directement une culture mycélienne sur une lame (**Eyquem *et al.*, 1998 ; Guiraud, 1998**).

➤ **Empreinte sur ruban adhésif (scotch): technique du drapeau**

Une goutte de bleu de méthylène est déposée au centre d'une lame propre, appliquer un morceau de ruban adhésif transparent délicatement sur le mycélium. Coller le ruban adhésif sur la lame en chassant les bulles d'air, ajouter une goutte de bleu de méthylène sur le ruban adhésif. Puis en ajoutant une lamelle en évitant d'emprisonner des bulles d'air. Enfin retourner l'ensemble à examiner au microscope optique à l'objectif (x40) (**Ripert, 2013**).

I.4.5. Effet inhibiteur *in vitro* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

L'agent antagoniste utilisé dans notre travail pour lutter contre le *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* est le *Trichoderma harzianum* ; ce dernier a été isolé à partir de la rhizosphère des plantes saines (W. d'Oran) et il est cultivé sur PDA à 28°C (**Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001**).

L'activité antagoniste *in vitro* du *T. harzianum* a été étudiée selon deux méthodes :

I.4.5.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture solide

Cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA, deux pastilles gélosées (6 mm de diamètre), l'une portant le *T. harzianum* et l'autre le *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte (**Figure n°12**) (**Chet et Baker, 1981**).

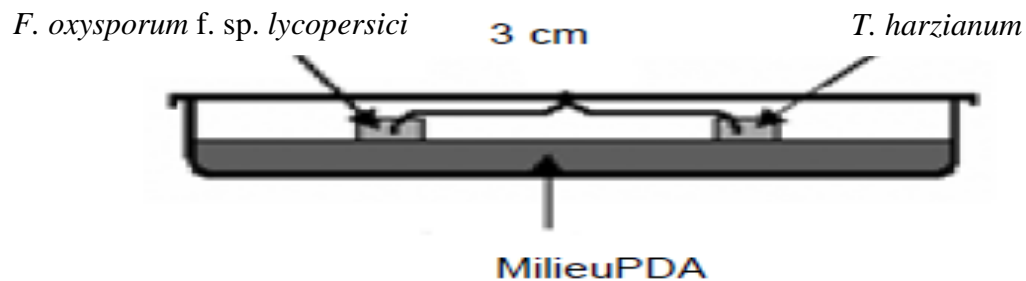


Figure n°12 : Confrontation de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* et de *T. harzianum* par contact direct sur milieu PDA.

L'incubation est réalisée à 28°C pendant six jours. Des notations concernant l'inhibition de la croissance diamétrale des colonies de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* et leur envahissement par le mycélium du *T. harzianum* sont effectuées tous les deux jours. Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène au centre de la boîte.

I.4.5.2. Confrontation à distance sur milieu de culture solide

Cette méthode consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par superposition des deux boîtes, le *Trichoderma* en bas et le *Fusarium* en haut (**Figure n°13**).

F. oxysporum f. sp. *lycopersici*

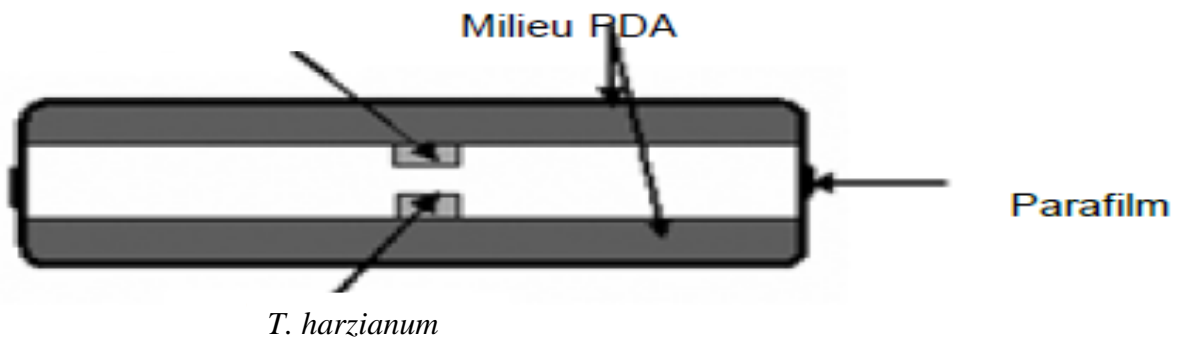


Figure n°13 : Confrontation à distance entre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *T. harzianum*.

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de Parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles (Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001). Les conditions de culture sont identiques à celles de la confrontation par contact direct sur milieu de culture. Le témoin est formé par superposition de deux boîtes, celle du haut contenant une pastille de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA.

La notation du diamètre moyen des colonies traitées est réalisée lorsque les filaments mycéliens atteignent la périphérie de la boîte dans les lots témoins.

L'évaluation de l'inhibition exercée par *T. harzianum* est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (Wang *et al.*, 2002) :

Où

$$I (\%) = (R_{\text{témoin}} - R_{\text{test}} / R_{\text{témoin}}) \times 100$$

I (%) : pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

R_{témoin} : distance radiale maximale de la croissance du champignon.

R_{test} : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

Chapitre II :

Résultats et Discussion

A- Résultats

II.1. Isolement des champignons

Les isollements à partir des organes des plantes (tiges, racines, feuilles) et de la rhizosphère révèlent un développement des isolats fongiques (l'apparition des secteurs mycéliens aux extrémités des fragments et au sol) qui présentent des colonies duveteuses à cotonneuses ou ras muqueuses avec une variabilité de la pigmentation et du type de colonies comme il est indiqué sur la **Figure n°14**.



Figure n°14 : Isolements des champignons à partir des organes des plantes
a). Feuille, b). Tige, c). Racine et d) de la rhizosphère.

II.2. Purification des champignons

La purification des isolats se fait par culture monospore. Après 24h d'incubation, on remarque l'apparition des spores en germination (**Figure n°15**).

Des cultures pures sont obtenues par un prélèvement à partir d'un seul secteur mycélien que l'on dépose dans une boîte de Pétri contenant du milieu PDA.

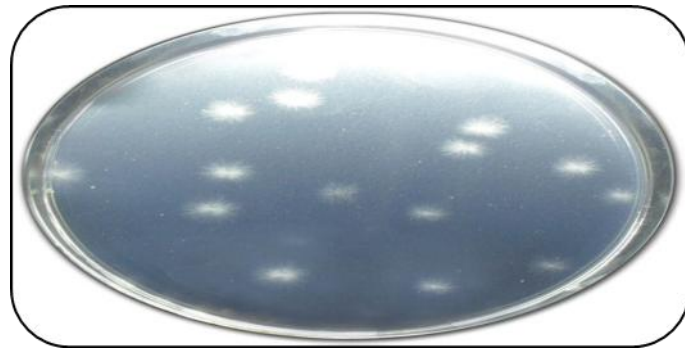


Figure n°15 : Spores en germination sur milieu Agar 2%

II.3. Etude morphologique des isolats

II.3.1. Etude macroscopique

L'étude macroscopique de nos isolats a permis de dénombrer trois morphotypes différents: (**Tableau n°03**)

- **Le morphotype cotonneux:** qui présente un mycélium aérien très abondant, épais et dense (**Figure n°16**).
- **Le morphotype duveteux :** présente un mycélium aérien assez court, mais dense (**Figure n°17**).
- **Le morphotype ras-muqueux:** qui est caractérisé par l'absence du mycélium qui donne à la culture un aspect muqueux comme si elle était envahie par des bactéries (**Figure n°18**).

Tableau n°04 : Caractères macroscopiques des isolats fongiques obtenus après purification.

Isolats	Types d'échantillon	Site	Morphotype	Pigmentation
4BR1	Racine	Sidi Maarouf - Oran-	duveteux	Colonie verdâtre au recto et blanchâtre au verso
2BR1	Racine	Sidi Maarouf - Oran-	cotonneux	Colonie rosâtre
2BR2	Racine	Mezaghrene -Mostaganem-	cotonneux	Colonie blanchâtre
3VR1	Racine	Sidi Maarouf - Oran-	Ras muqueux	Colonie blanchâtre avec centre verdâtre
30MT3	Tige	Mezaghrene -Mostaganem-	cotonneux	Colonie noire
29NT2	Tige	Mezaghrene -Mostaganem-	cotonneux	Colonie marron avec un contour blanc au recto et noire au verso
14VSPV	Sol	Sidi Maarouf - Oran-	cotonneux	Colonie grise avec un contour vert au recto et jaunâtre au verso
10VS3	Sol	Sidi Maarouf - Oran-	duveteux	Colonie verdâtre avec un contour blanc au recto et jaunâtre au verso

Les résultats illustrés dans le **Tableau n°04**, montrent qu'il y a une variété de pigmentation et d'aspect pour nos isolats et que le morphotype est différent d'un isolat à un autre.

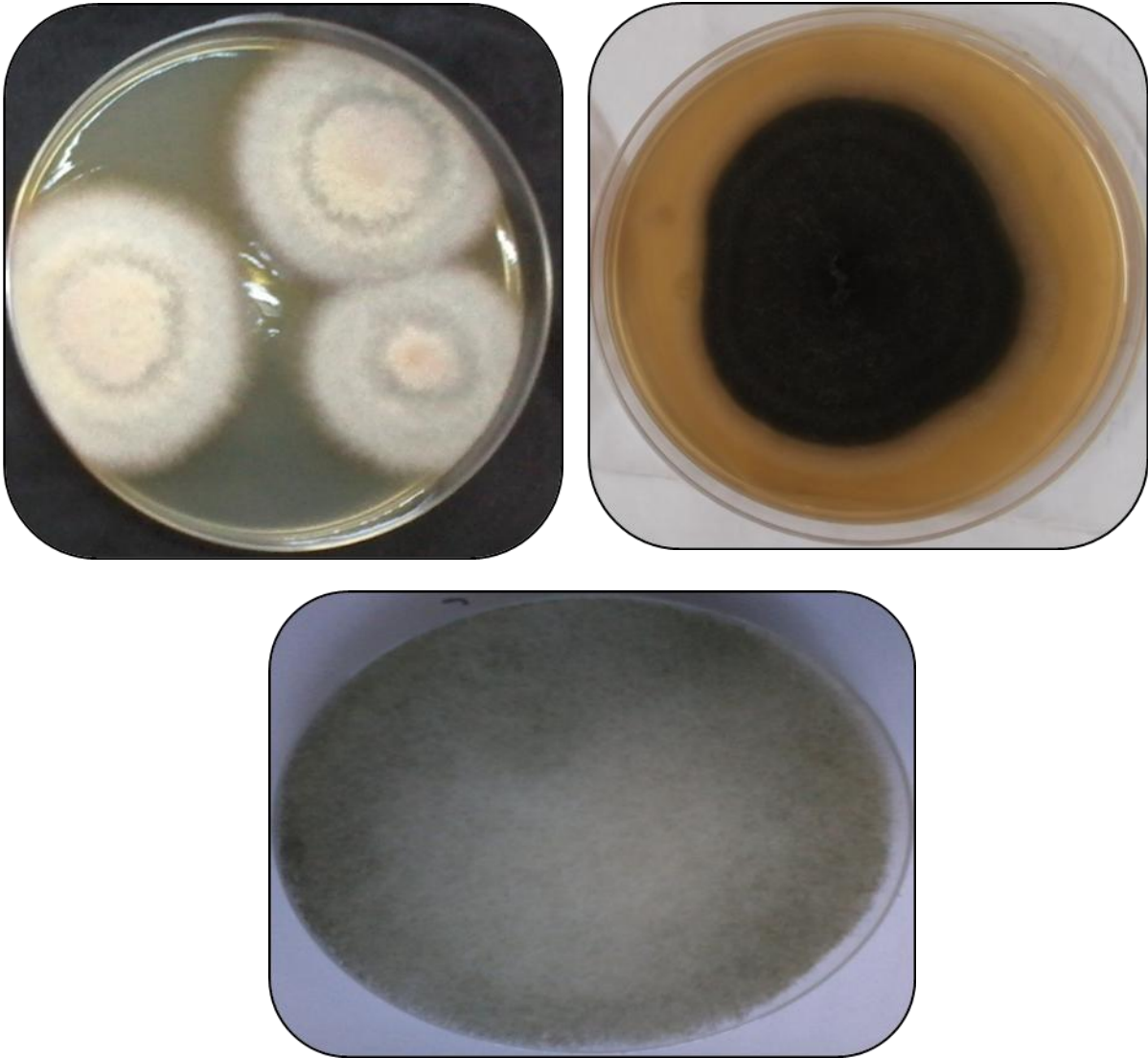


Figure n°16 : Représentation de la morphologie cotonneuse

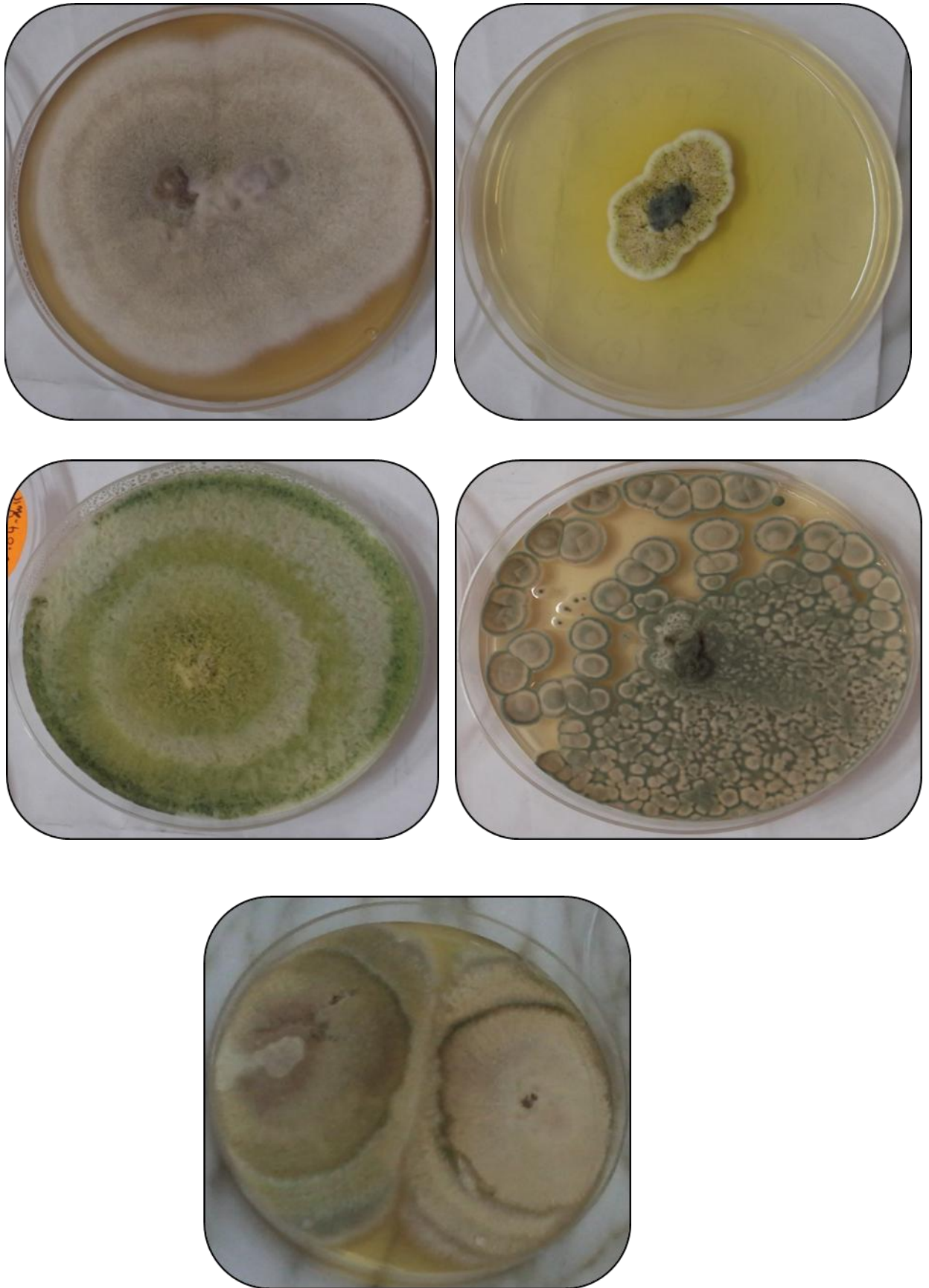


Figure n°17: Représentation de la morphologie duveteuse

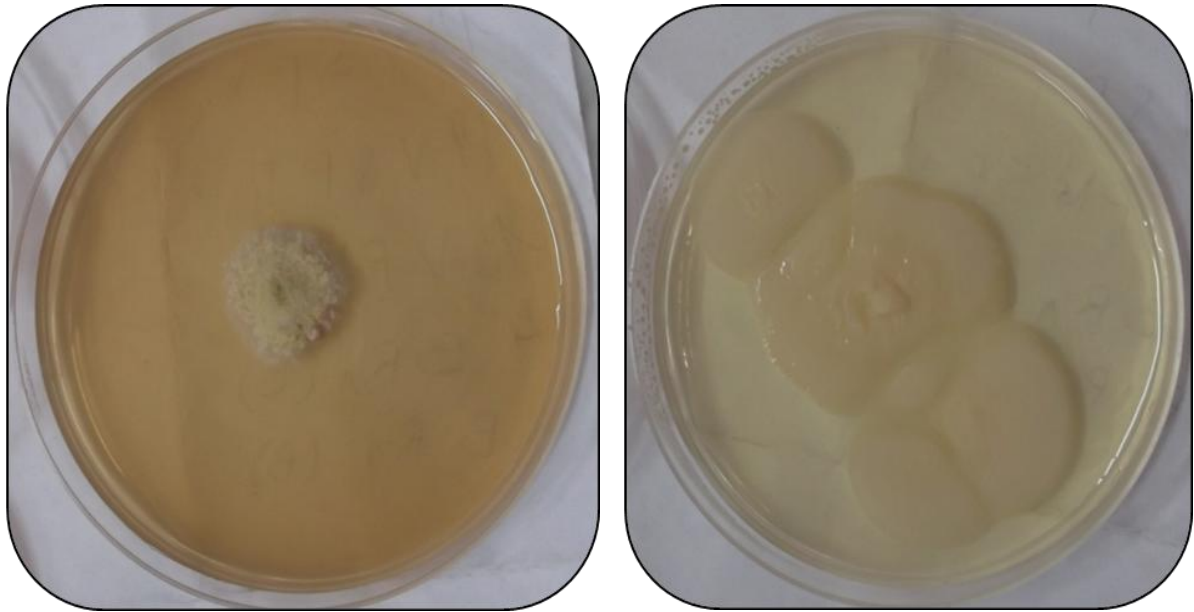
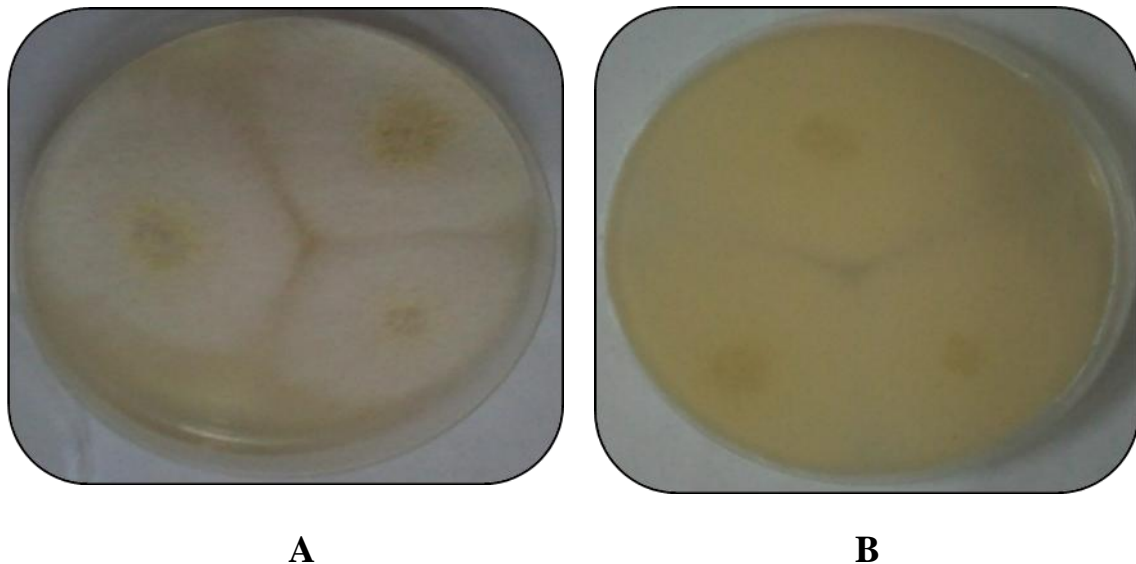


Figure n°18 : Représentation de la morphologie ras-muqueuse.

II.3.1.1. Caractéristiques macroscopiques des genres fongiques

Pour chaque champignon, **A** représente la face recto et **B** la face verso de la boîte de Pétri au niveau de laquelle se développe le champignon.



A

B

Figure n°19 : Observation macroscopique d'une colonie blanchâtre avec centre verdâtre de *Trichoderma* (isolat 3VR1)

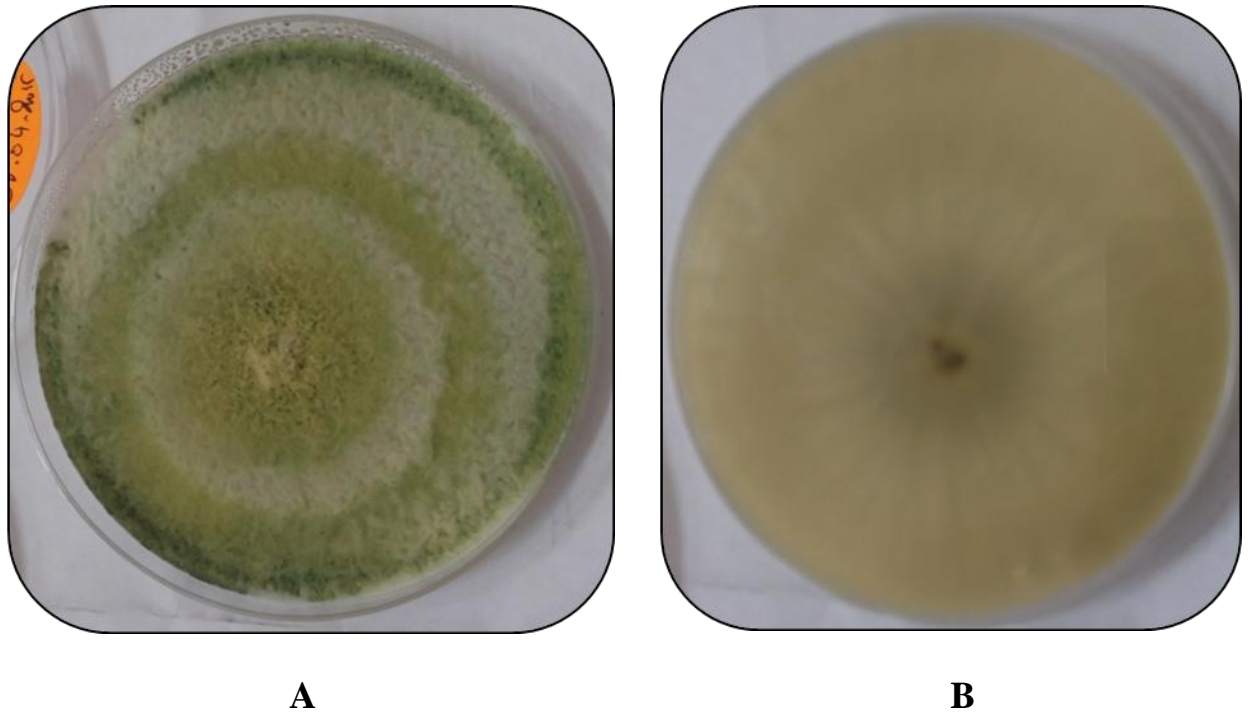


Figure n°20 : Observation macroscopique d'une colonie verdâtre au recto et blanchâtre au verso de *Trichoderma* (isolat 4BR1)

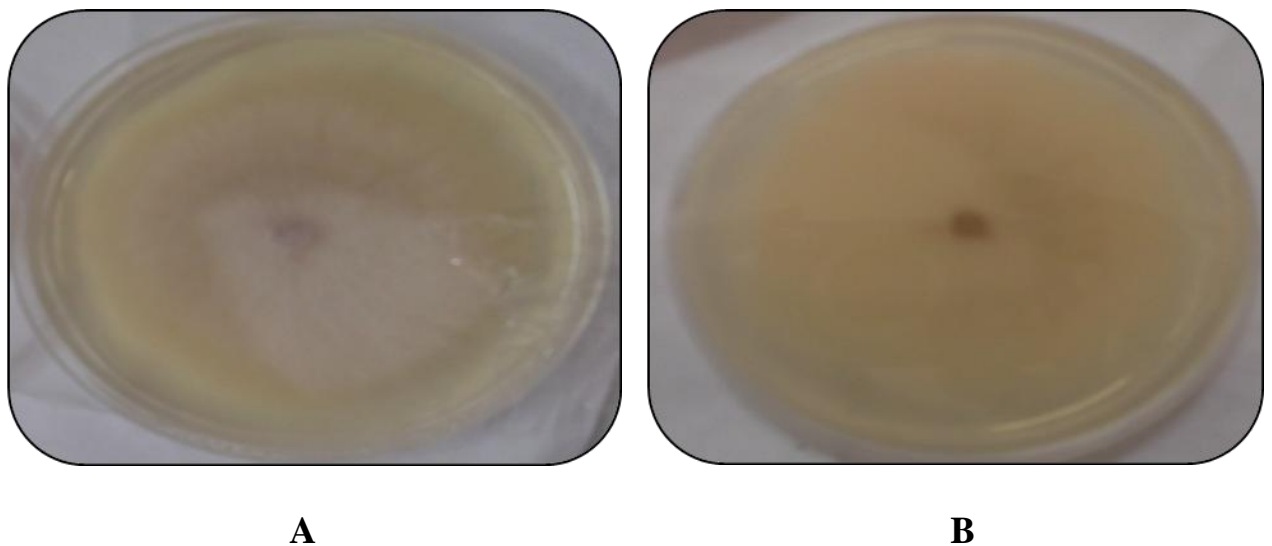


Figure n°21: Observation macroscopique d'une colonie blanchâtre de *Fusarium* (isolat 2BR2)

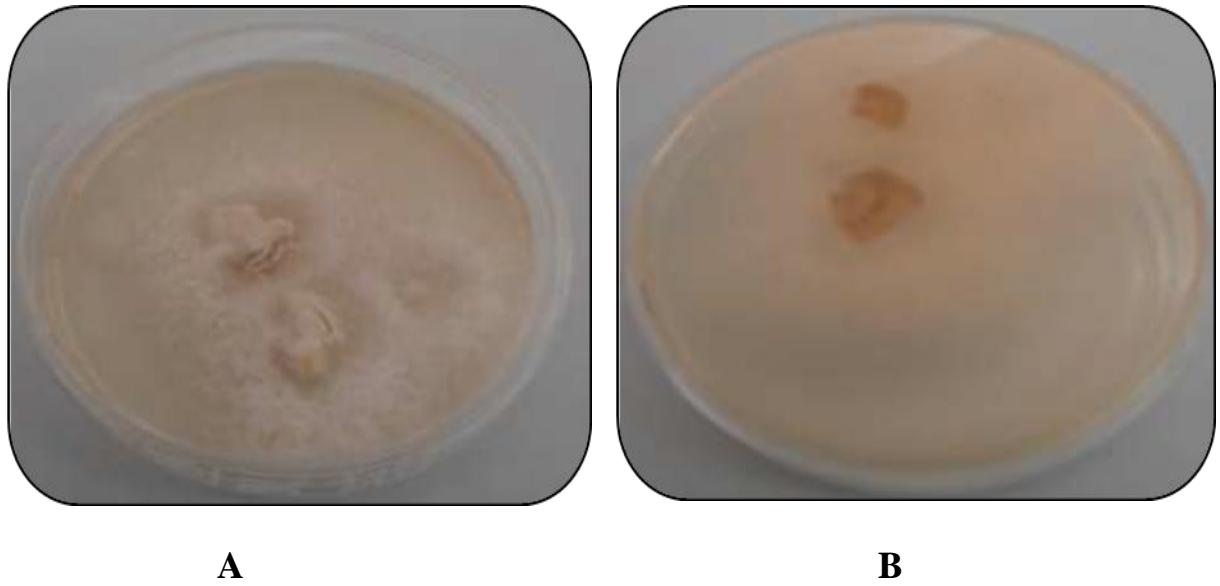


Figure n°22: Observation macroscopique d'une colonie rosâtre de *Fusarium* (isolat 2BR1)

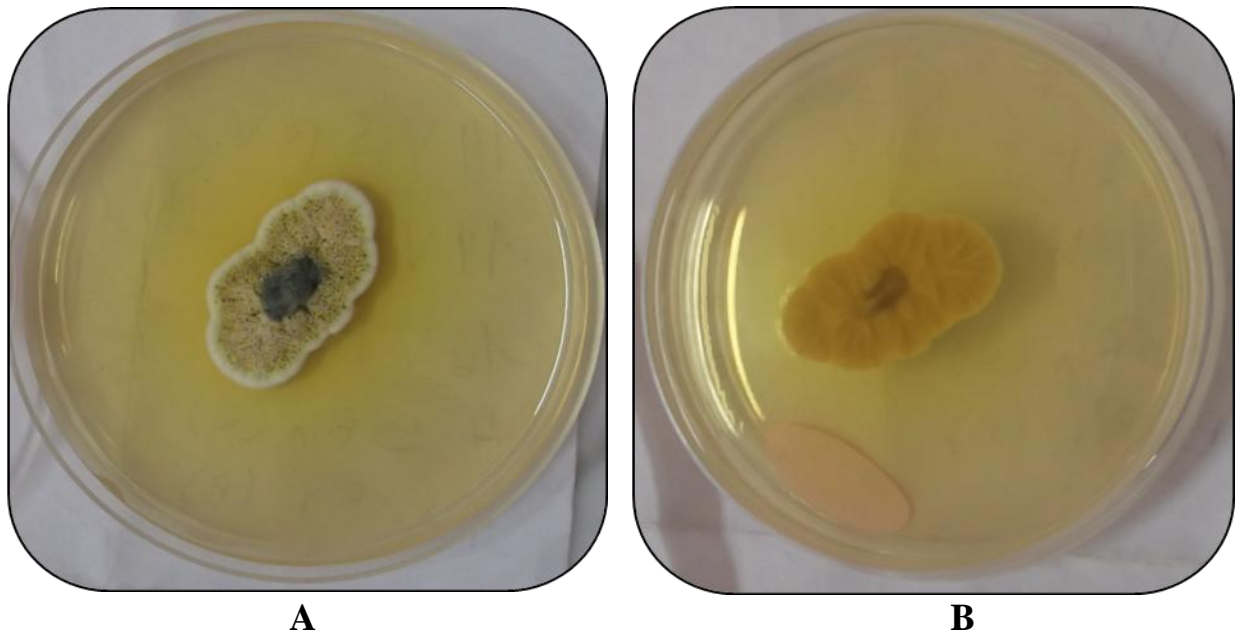


Figure n°23: Observation macroscopique d'une colonie verdâtre avec un contour blanc au recto et jaunâtre au verso de *Penicillium* (isolat 10VS3)

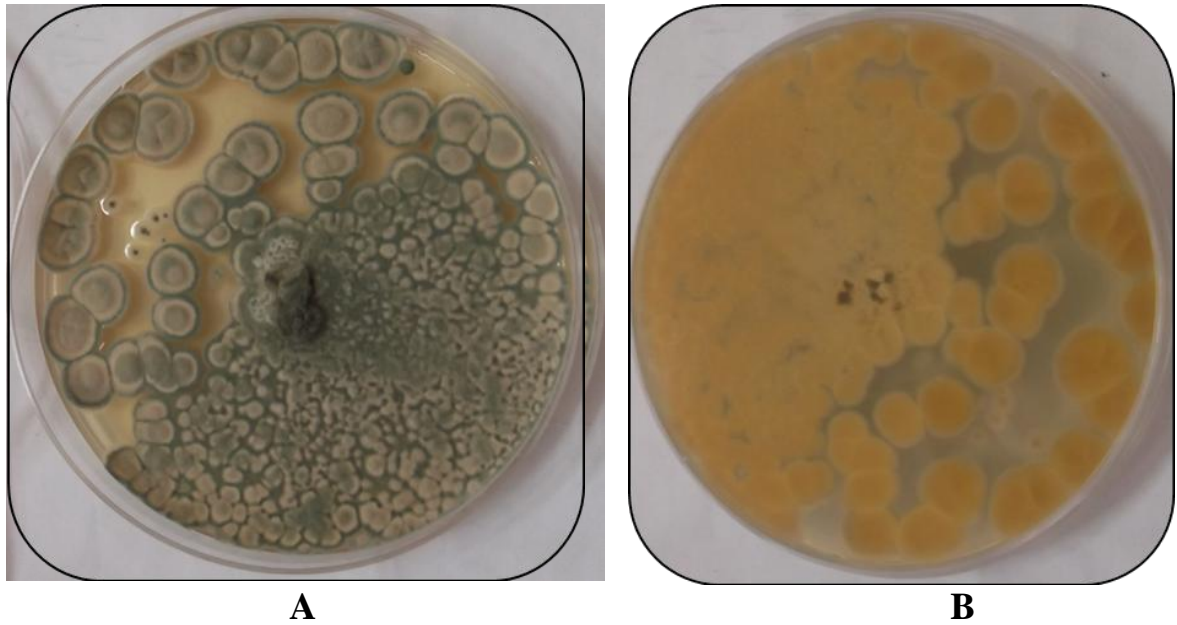


Figure n°24: Observation macroscopique d'une colonie grise avec un contour vert au recto et jaunâtre au verso *Penicillium* (isolat 14VSPV)

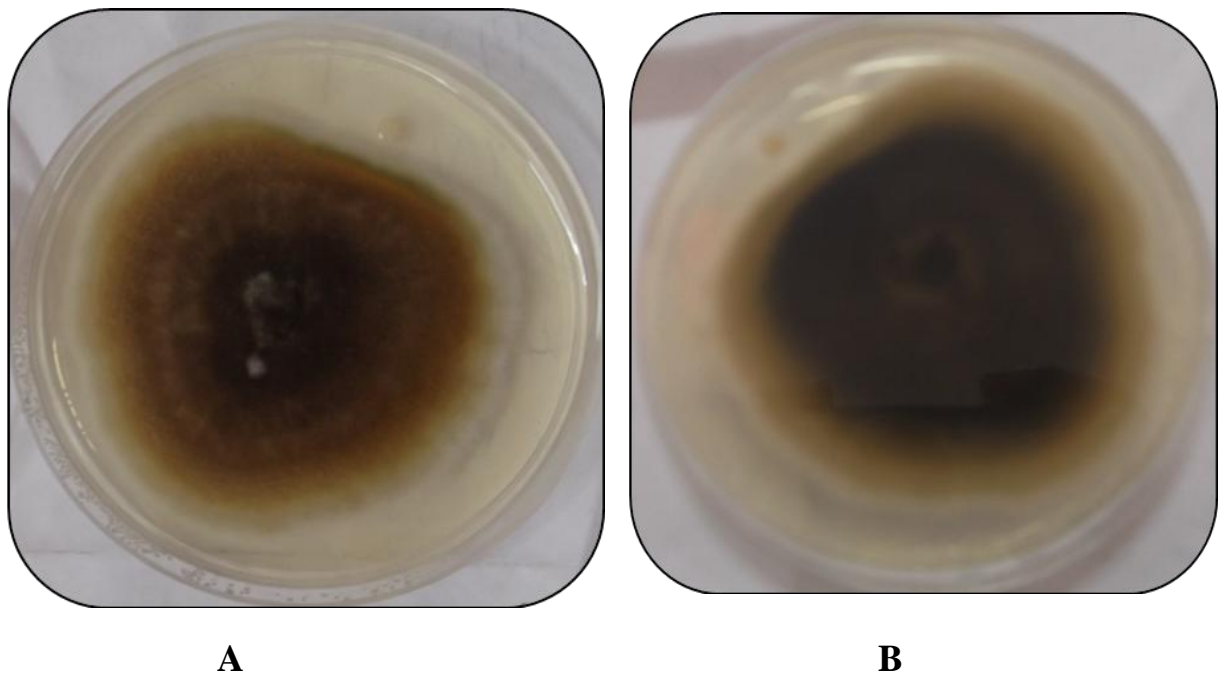


Figure n°25: Observation macroscopique d'une colonie marron avec un contour blanc au recto et noire au verso du genre *Alternaria* (isolat 29NT2)

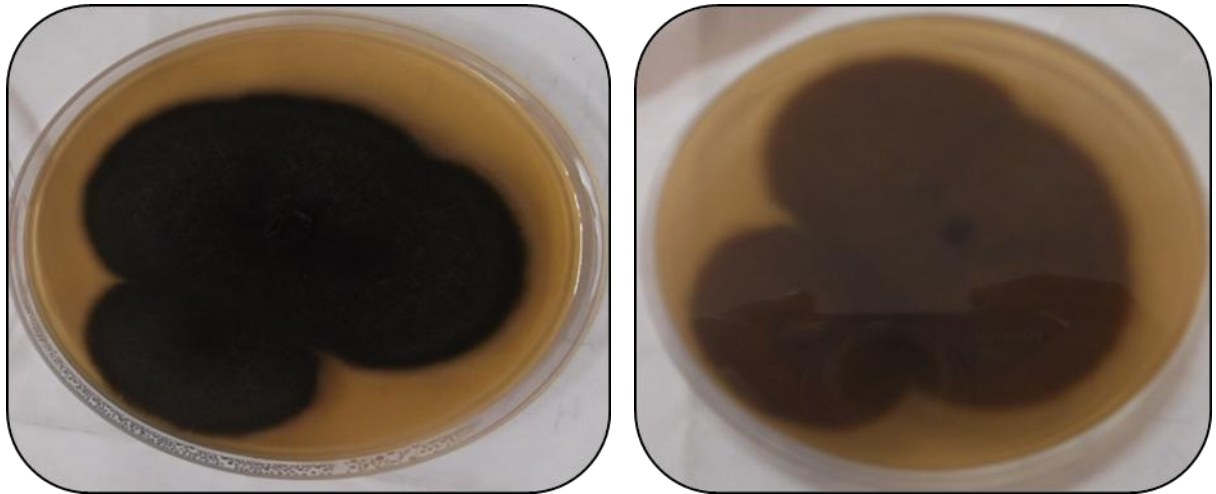
**A****B**

Figure n°26 : Observation macroscopique d'une colonie noire du genre *Alternaria* (isolat 30 MT3)

II.3.2. Etude microscopique :

L'observation microscopique révèle que nos isolats produisent des spores en quantités différentes selon le morphotype des souches.

Pour caractériser et identifier nos isolats, nous avons utilisé la technique du drapeau (ruban adhésif) et l'observation a été réalisé à l'aide de l'objectif (x40) vu la taille importante du mycélium et des spores.

L'identification et la caractérisation ont permis de mettre en évidence 4 genres fongiques :

➤ *Alternaria*.

Type des spores (Les conidies simples ou ramifiées, au départ, ovoïdes, les conidies pluricellulaires, divisées par des septas transversaux, longitudinaux ou obliques tout à fait caractéristiques, prennent la forme d'une massue en vieillissant avec un rostre apical bien différencié sous forme de grenade de couleur noire) (**Figure n°27**).

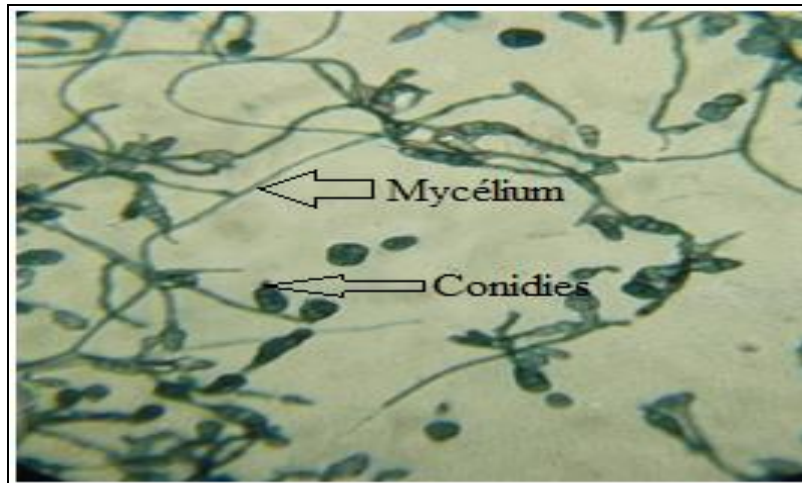


Figure n°27 : Observation microscopique du genre *Alternaria* (objectif x40)

➤ *Fusarium*.

Ce genre produit trois types de spores (**Figure n°28**) :

- **Les microconidies (m)** : sont unicellulaires ou bicellulaires, globuleuses ou arrondies, elles sont formées sur des phialides courtes, perpendiculaires aux filaments.
- **Les macroconidies (M)** : sont pourvues de 2 à 3 cloisons, leur taille varie considérablement.
- **Les chlamydospores (C)** : sont présentes en position terminales ou intercalaire.

Le mycélium (**my**) de *Fusarium* est cloisonné et ramifié.



Figure n°28 : Observation microscopique du genre *Fusarium* (objectif x40)

➤ *Trichoderma*.

Type de spores (Les conidies unicellulaires, rondes ou ellipsoïdales, lisses ou verruqueuses, sont produites en masses mucilagineuses formant des glomérules au sommet des phialides) (**Figure n°29**).

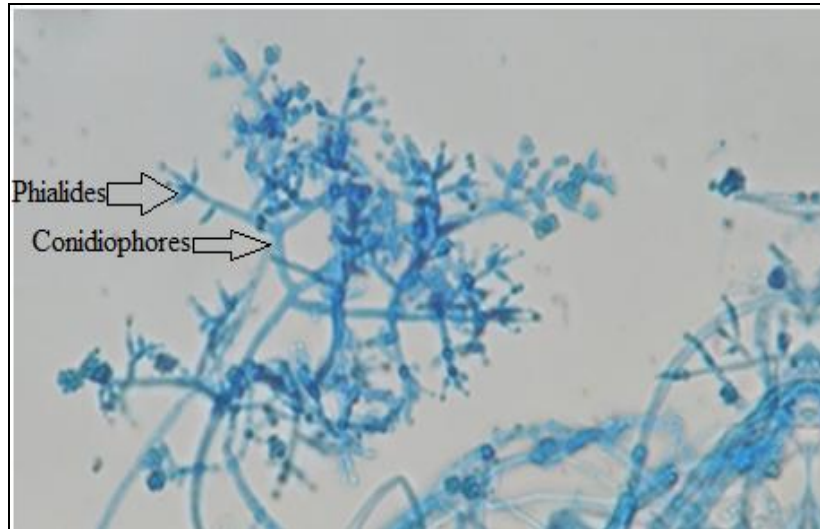


Figure n°29 : Observation microscopique de genre *Trichoderma* (Objectif x40)

➤ *Penicillium*

Type de spores (Les conidies sont disposées en longues chaînes, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres sous forme de balai de sorcière) (**Figure n°30**)

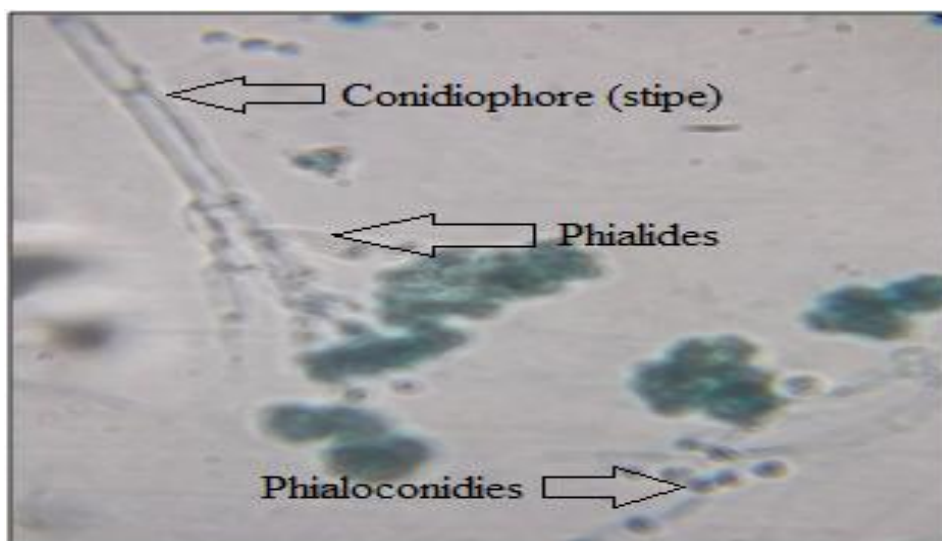


Figure n°30 : Observation microscopique du genre *Penicillium* (Objectif x40)

Les résultats obtenus sont présentés dans une répartition des genres fongiques isolés (**Figure n°31**) et résumé dans le **tableau n°05**.

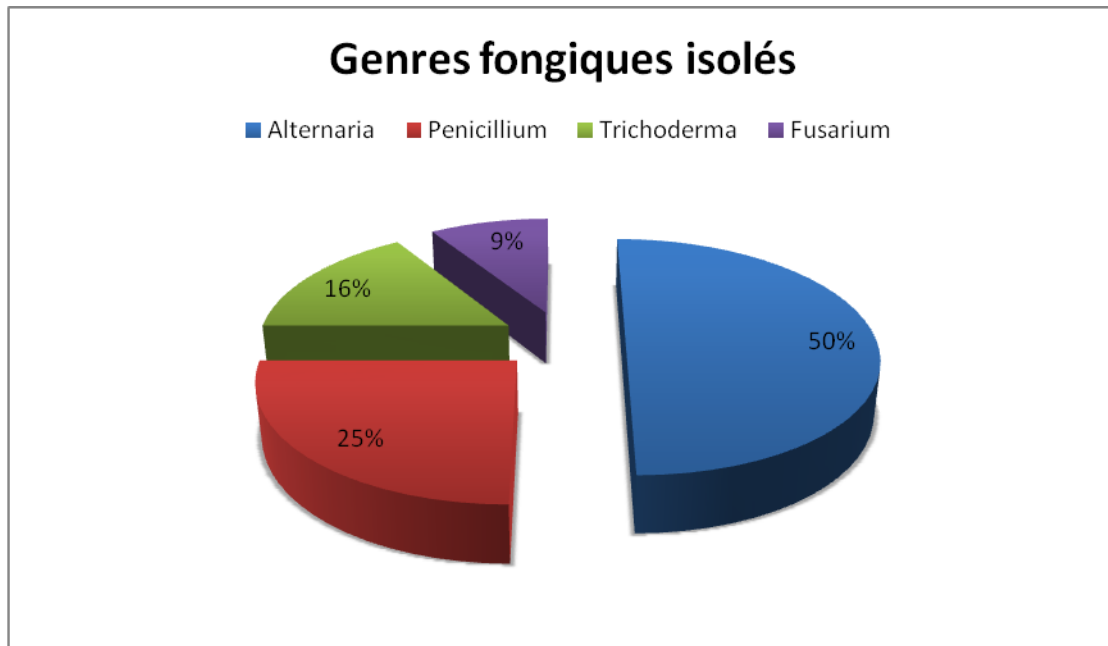

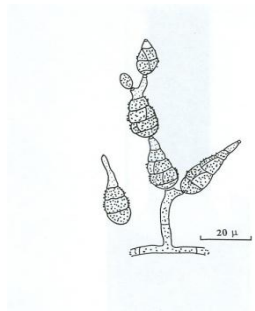
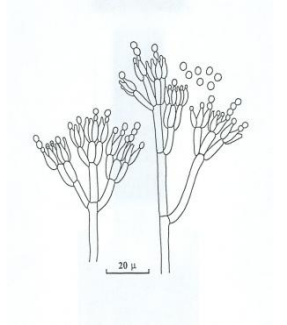
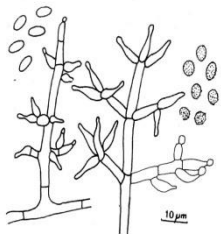


Figure n°31 : Répartition des genres fongiques isolés obtenus à partir les plantes de la tomate et de rhizosphères.

D'après cette répartition on trouve la manifestation de quatre genres fongiques: le genre *Alternaria* présente un pourcentage de 50%, le genre *Penicillium* présente 25%, le genre *Trichoderma* présente 16% et le genre *Fusarium* présente 9%.

Tableau n°05: Caractéristiques morphologiques des genres des champignons isolés
(Barnet et Hunter, 1972)

Genres et espèces	Colonies	Mycélium (hype)	Conidies et spores
<p><i>Fusarium sp.</i></p> 	<p>Blanchâtre puis rosées, cotonneuse à laineuse</p>	<p>Cloisonné</p>	<p>Conidies fusiformes, incurvée, atténuées aux deux extrémités Hyalines, allongées, cloisonnées (plus de deux cloisons).</p>
<p><i>Alternaria alternata</i></p> 	<p>Thalle noir</p>	<p>Cloisonné</p>	<p>conidies en chaînes simples ou ramifiées, brunes, irrégulières, plus souvent avec un rostre apicale court mais bien différencié.</p>
<p><i>Penicillium</i></p> 	<p>duveteuses ou poudreuses sont de couleur vertes ou plus rarement blanches.</p>	<p>Cloisonné</p>	<p>Les conidiophores isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien définies, simples ou ramifiés, possèdent une forme ressemblant à celle d'un pinceau. Les conidies sont disposées en longues chaînes, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres.</p>
<p><i>Trichoderma</i></p> 	<p>Laineuses rapide sont de couleur blanche, jaune-verte ou verte</p>	<p>Cloisonné</p>	<p>Les conidiophores hyalins sont septés et ramifiés. Les phialides sont ovoïdes à ellipsoïdales. Les conidies unicellulaires, rondes ou ellipsoïdales, lisses ou verruqueuses.</p>

II.4. Effet inhibiteur *in vitro* du genre *Trichoderma* *harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol)

II.4.1. Confrontation directe sur milieu de culture entre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Trichoderma harzianum*

Le repiquage simultané de *T. harzianum* et des isolats de (Fol) a montré une croissance plus rapide de *T. harzianum* que des isolats de (Fol).

Les résultats illustrés sur la **Figure n° 33** montre qu'au bout de trois jours d'incubation, la boîte est partiellement envahie par l'antagoniste, alors que (Fol) n'occupent qu'une surface de 0,7 cm de diamètre ; ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 81 %. Le témoin (Fol) cultivé seul occupe une surface d'environ 3,8 cm de diamètre.

Par contre au sixième jour d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, alors que l'isolat de (Fol) n'occupent qu'une surface de 1,2 cm de diamètre ; ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 84 %. Le témoin (Fol) cultivé seul occupe une surface d'environ 7,9 cm de diamètre

La confrontation directe de l'antagoniste *T. harzianum* vis-à-vis du pathogène *Fusarium.oxysporum* f.sp. *lycopersici* *in vitro* au 6eme jour montre qu'il n'y a pas de zone de séparation des fronts mycéliens des deux champignons, ainsi que l'envahissement de la colonie de *Fusarium* par la colonie de *T. harzianum* (**Figure n°32**).



Figure n°32: Effet inhibiteur direct du *T. harzianum* sur la croissance mycélienne du *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* pour une durée d'incubation de six jours à 28 °C.

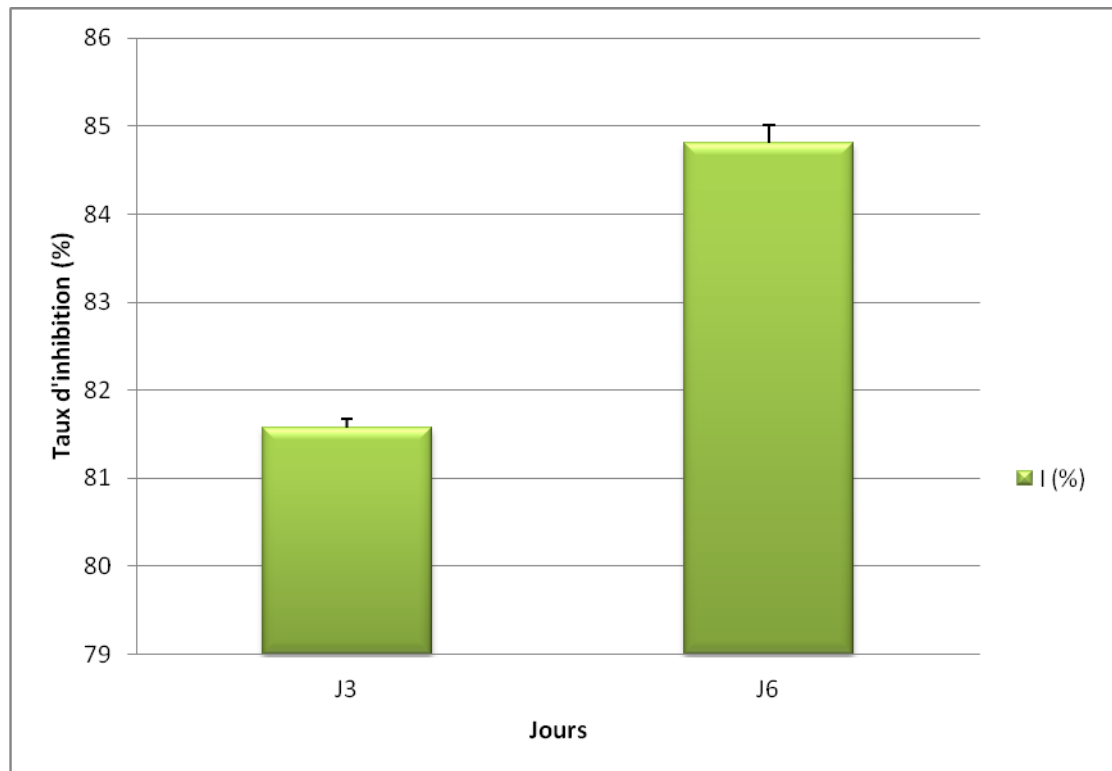


Figure n°33: Présentation des taux d'inhibition de FOL par *T. harzianum* au 3^{ème} et 6^{ème} jour d'incubation par confrontation directe

II.4.2. Confrontation à distance entre *Fusarium oxysporum* f. *sp. lycopersici* et *Trichoderma harzianum*

Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur des substances volatiles sécrétées par *T. harzianum* exercé sur l'isolat de (Fol) (**Figure n°34**) ; cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies de ce dernier cultivé en présence ou en absence de l'antagoniste.

Les résultats obtenus et illustrés sur la **Figure n°35** montrent une réduction du diamètre des colonies de (Fol) en présence de *T. harzianum* par rapport au témoin non traité. Après trois jours d'incubation, cette réduction atteint 0,7 cm pour l'isolat traduisant une inhibition de l'ordre de 81 %. Le témoin (Fol) cultivé seul occupe une surface d'environ 3,8 cm de diamètre. Par contre, au bout de six jours d'incubation, la réduction atteint 1,2 cm pour l'isolat traduisant une inhibition de l'ordre de 84 %. Le témoin (Fol) cultivé seul occupe une surface d'environ 7,9 cm de diamètre.



Figure n°34: Effet inhibiteur des substances volatiles du *T. harzianum* sur la croissance mycélienne de (Fol) pour une durée d'incubation de six jours à 28 °C.

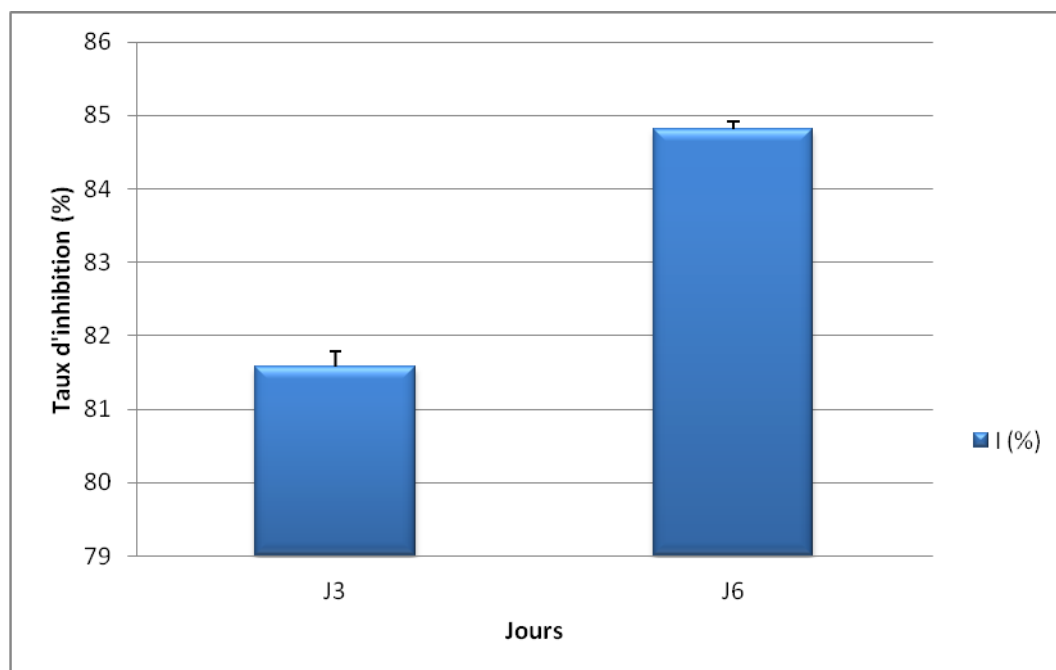


Figure n°35: présentation des taux d'inhibition de FOL par les substances volatiles de *T. harzianum* au 3^{ème} et 6^{ème} jour d'incubation par confrontation indirecte

B-Discussion

Notre travail de recherche s'inscrit dans le cadre d'une étude morphologique des champignons phytopathogènes de la tomate, avec objectif : une contribution à la recherche et l'identification des agents phytopathogènes de la tomate, ainsi que des champignons antagonistes en vue d'une lutte biologique. Il se propose dans une première étape une localisation des zones de culture par des prospections et une observation des maladies fongiques suivie d'un échantillonnage de plantes de tomates présentant des symptômes de maladies fongiques, ainsi que des plantes saines. Dans une deuxième étape un isolement des agents phytopathogènes et leur identification. Enfin, un test de lutte biologique *in vitro* par l'utilisation de l'agent antagoniste le *Trichoderma harzianum* vis-à-vis l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

L'étude morphologique de nos isolats, a fait apparaître trois morphotypes différents : l'aspect cotonneux, l'aspect duveteux et l'aspect ras muqueux.

Après les études et la comparaison des aspects macroscopiques et microscopiques de nos isolats avec la bibliographie et en basant sur la clé d'identification des champignons imparfait (**Barnet et Hunter, 1972**) on trouve la manifestation de quatre espèces fongiques appartenant à la Classe des Deutéromycètes (Champignons imparfaits): *Fusarium* et *Alternaria* considérés comme des agents phytopathogènes de la tomate et *Penicillium* et *Trichoderma* sont considérés comme des agents antagonistiques utilisés dans la lutte biologique (**Botton et al., 1990**).

Les *Alternaria* sont des champignons filamenteux imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Quelques formes parfaites (sexuées) sont connues et appartiennent à la classe des Ascomycètes (*Clathrospora*, *Leptosphaeria*, *Lewia*, *Pleospora*). On connaît 44 espèces mais il y en a certainement près d'une centaine. Les colonies veloutées sont généralement de couleur grise à noire. Les conidiophores foncés et septés produisent à leurs extrémités, des chaînes de conidies simples ou ramifiées (**Botton et al., 1990**).

Les *Alternaria* sont cosmopolites. Ce sont des champignons ubiquitaires avec un certain nombre d'espèces phytopathogènes, provoquant sur les plantes cultivées des maladies regroupées sous le terme d'alternariose. On peut les retrouver sur différents substrats tels que les plantes sénescents, les légumes, le sol, les produits alimentaires et sur divers matériaux organiques. Les *Alternaria* sont également connus pour être de puissants allergènes, déclenchant des réactions saisonnières durant les mois d'été. Toutes les espèces ne sont pas pathogènes ni indésirables, certaines sont utilisées comme agents biologiques pour contrôler les plantes invasives (**Bessadat, 2014**).

Les *Fusarium* sont des champignons filamenteux imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Les formes parfaites (sexuées) connues appartiennent à la classe des Ascomycètes (*Gibberella*, *Calonectria*, *Nectria*, *Plectosphaerella*). Ce genre comprend 50 à 70 espèces, dont plusieurs sont phytopathogènes, provoquant sur les plantes cultivées des maladies regroupées sous le terme de fusarioses (**Botton et al., 1990**). Les colonies, cotonneuses ou floconneuses, à croissance rapide, sont généralement de couleurs claires : blanche à crème, jaune, brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas. Les conidiophores sont regroupés en sporodochies, formés de phialides plus ou moins allongées produisant des microconidies (1 à 2 cellules), piriformes, fusiformes ou ovoïdes et des macroconidies cloisonnées fusiformes, courbées, pluriseptées (en forme de croissant) avec une cellule basale pédicellée (**Yezli, 2010**).

Cette diversité morphologique du genre *Fusarium* a été déjà observé dans les travaux de (**Yezli, 2010 ; Ouinten, 1996**) sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et par (**Guessas, 1993 ; Henni, 1998 et Hamini, 2002**) sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

L'étude microscopique des souches a démontré que le mycélium est cloisonné avec l'apparition des trois sortes de conidies les microconidies les macroconidies et les chlamidospores. Ces résultats sont concordent avec ceux trouvés par (**Armstrong et Armstrong, 1981; Davis et al., 1977; Henni, 1998; Toshiaki et Takashi, 2004**).

Les *Trichoderma* sont des champignons filamenteux imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. La forme parfaite appartient à la classe des

Ascomycètes (*Hypocrea*). Ce genre comprend 20 espèces environ, cellulolytiques. Les colonies laineuses, à croissance rapide sont de couleur blanche, jaune-verte ou verte. Les conidiophores hyalins, en touffe plus ou moins compactes, sont septés, régulièrement et abondamment ramifiés à angle droit par rapport à l'axe principal. Les phialides, ovoïdes à ellipsoïdales, isolées ou groupées en petit nombre (2-3) sont disposées sur les branches, généralement perpendiculaires à l'axe. Les conidies unicellulaires, rondes ou ellipsoïdales, lisses ou verruqueuses, sont produites en masses mucilagineuses formant des glomérules au sommet des phialides (**Monte, 2001; Benitez et al., 2004 ; Vinale et al., 2008**).

Les *Trichoderma* ont un intérêt agro-alimentaire dans la production de cellulase et de l'hémicellulase et comme exhausteur d'arômes. Certaines espèces sont utilisées en lutte biologique pour la protection d'arbres et cultures végétales contre l'attaque d'agents phytopathogènes (**Hibar et al., 2005**).

Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. Quelques formes parfaites (sexuées) sont connues et appartiennent à la classe des Ascomycètes (*Carpenteles, Eupenicillium, Talaromyces*). Ce genre comprend entre 100 et 250 espèces. Les colonies, duveteuses ou poudreuses, à croissance rapide, sont généralement vertes ou plus rarement blanches. Les conidiophores isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien définies, simples ou ramifiés, possèdent une forme ressemblant à celle d'un pinceau. Les conidies sont disposées en longues chaînes, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, lisses ou rugueuses, hyalines, grisâtres ou verdâtres. Les *Penicillium* sont des champignons polyphages, très communs dans l'environnement pouvant être responsables de nombreuses dégradations (**Pitt, 1988**)

A la lumière des résultats obtenus dans les études morphologiques, macroscopiques et microscopiques (citées précédemment), nous avons lancé un essai de lutte biologique contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycoperisi* par l'utilisation de l'agent antagonistique *Trichoderma harzianum* par deux méthodes :

Les résultats du test de lutte biologique ont montré que *T. harzianum* envahit les colonies de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et sporule même sur celles-ci,

révélant ainsi son pouvoir hautement mycoparasitaire (**Benhamou et Chet, 1996 ; Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001**).

L'envahissement du mycélium du pathogène par *T. harzianum* a également été observé par **Benhamou et Chet (1996)** en réalisant une confrontation directe sur milieu de culture entre cet antagoniste et un autre champignon tellurique. Cependant, **Daami-Remadi et El Mahjoub (2001)** ont signalé, en testant l'activité antagoniste de *T. harzianum* vis-à-vis de deux espèces de *Pythium*, que pendant les trois premiers jours la boîte de Pétri est totalement envahie par *Pythium* spp. et que *T. harzianum* ne commence à exercer son activité antagoniste qu'à partir du 4^e jour d'incubation. Des observations microscopiques réalisées au niveau de la zone de contact entre *T. harzianum* et *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, montrent une modification profonde au niveau du mycélium du pathogène se marquant par une lyse importante, une transformation en cordons des filaments mycéliens et un enroulement du mycélium du *T. harzianum* sur celui du *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (**Hibar, 2005**).

Trichoderma harzianum a été testé par **Daami-Remadi (2001)** sur *F. solani* var *coerulum*, *F. roseum* var *sambucinum* et *F. roseum* var *graminearum*, responsables des pourritures sèches sur tubercules de pomme de terre envers lesquels ils induisent également une lyse importante au niveau du mycélium de ces pathogènes. Il en est de même des mycéliums de *Pythium* spp. En présence du même antagoniste (**Daami-Remadi, El Mahjoub, 2001**). Dans le même sens, **Benhamou et Chet (1996)** ont signalé une altération du mycélium de *Sclerotinium rolfsii* causée par *T. harzianum*, se traduisant par une agrégation, une rétraction et une vacuolisation du cytoplasme qui illustre bien le pouvoir hautement myco-parasitaire que possède *T. harzianum*.

Ghisalberti et Sivasithamparam (1991) ont décrit une batterie de substances antibiotiques produites par *Trichoderma* qui serait responsable de leurs propriétés antagonistes et qui sont classés dans différents groupes basés sur leur origine biosynthétique ou leur structure chimique (**Cardoza et al., 2005; Reino et al., 2008**).

Il ressort que, malgré l'absence d'un contact direct entre les isolats de *Fusarium* testés et *T. harzianum*, ce dernier a pu exercer une activité inhibitrice sur le développement des colonies de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Ceci s'expliquerait

par l'aptitude de *Trichoderma* à produire des substances volatiles qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.

Des observations microscopiques réalisées au niveau du mycélium de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en présence de *T. harzianum* ont révélé la présence d'une lyse importante et une transformation en cordons du mycélium du pathogène et ce comparativement au témoin non traité. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par **Chérif et Benhamou (1990)** qui ont signalé la présence d'altérations avec une perte cytoplasmique du mycélium de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* suite à l'action du *T. harzianum*, malgré l'absence de contact direct entre les deux champignons.

Conclusion

Conclusion

Le but de notre travail est consacré à une contribution à la recherche et l'identification des agents phytopathogènes de la tomate, ainsi que des champignons antagonistes en vue d'une lutte biologique.

Dans la première partie, notre travail a été consacré à une prospection des symptômes sur champs et un échantillonnage, suivie d'un isolement des champignons et leur identification. Les isolats ont montré des variations au niveau macroscopique et microscopique. L'étude morphologique des isolats, nous a permis de démontrer la présence de quatre champignons appartenant à la Classe des Deutéromycètes : *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Alternaria*.

La deuxième partie est consacrée à un test de lutte biologique *in vitro* par un champignon antagoniste isolé à partir de la rhizosphère de la tomate saine (*T. harzianum*) vis-à-vis l'agent phytopathogène (Fol) isolé à partir des vaisseaux de la tomate présentant des symptômes de la fusariose vasculaire. Les résultats ont démontré que l'agent antagoniste *T. harzianum* a un effet sur Fol, que ce soit, par confrontation directe, là où on a remarqué un envahissement de la colonie du pathogène (Fol) par la colonie de l'antagoniste (*T. harzianum*) ce qui prouve son pouvoir mycoparasitaire ; ou bien par confrontation indirecte, ce qui a démontré que cet agent antagoniste sécrète des substances volatiles qui inhibe la croissance mycélienne de (Fol).

En se basant sur les résultats obtenus, on peut dire qu'il est d'intérêt primordial d'utiliser *T. harzianum* en tant qu'agent de lutte biologique naturel contre la fusariose vasculaire de la tomate causée par *Fol* d'autant plus que les produits chimiques actifs contre ce pathogène sont en nombre relativement réduit à cause de leurs effets sur l'environnement.

A l'issue de notre étude, on peut dire qu'il reste comme perspective l'identification moléculaire de nos isolats, ainsi que, des tests de lutte biologique *in vivo*, pour contribuer dans le domaine de la protection des végétaux et de l'environnement.

Références
Bibliographiques

- ❖ **Adams P. B. (1990).** The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28, 59-72.
- ❖ **Alabouvette C, Couteaudier Y et Louvet J. (1984).** Recherches sur la résistance des sols aux maladies. X-Comparaison de la mycoflore colonisant les racines de melons cultivés dans un sol résistant ou dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires, 4, 735-740.
- ❖ **Alabouvette C. (1986).** *Fusarium*-wilt suppezsive soils from the châteaurenard region: review of a 10-year study .*A gronomie*, 6, 273-284.
- ❖ **Anchisi M, Gennari M et Matta, A. (1985).** Retardation of *Fusarium* wilts symptoms in tomato by pre- and post-inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot water. *Physiological Plant Pathology.* 26, 175-183.
- ❖ **Anonyme 1. (2010).** Association Méditerranéenne Internationale de la Tomate. La tomate d'industrie en Algérie [archive]. Site officiel : <http://www.amitom.org>. Consulter le 25/01/2015 à 22:30.
- ❖ **Assigbetse KB. (1989).** Etude de variabilité spontané chez *Fusarium oxysporum* f .sp. *vasinfectum* : agent causal de la fusariose du cotonnier. Mémoire D. E. Universités Paris XI, Paris VI, INAPG, 391-399.
- ❖ **Armstrong G. M, Armstrong J. K. (1981).** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy.* Nelson, P.E., Tousson, T.A., Cook, R.J. Ed. Pennsylvania State University Press, University Park. 391-399.
- ❖ **Barna B, Sarhan A et Kiraly Z. (1985).** The influence of nitrogen nutrition on the sensitivity of tomato plants to culture filtrates of *Fusarium* and to fusaric acid. *Physiological Plant Pathology.* 23, 257-263.
- ❖ **Barnet H. L et Hunter B. B. (1972).** Illustrated Genera of imperfect fungi. Third edition. *Burgess Publishing Company.* USA.
- ❖ **Benhamou N et Chet I (1996).** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopatjology* 86. P 405-416.

- ❖ **Benitez T, Rincon A. M, Limon M. C et Codon A. C. (2004).** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 7, 249–260.
- ❖ **BESSADAT Na. (2014).** Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp.* responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée, Université d’Oran. P199.
- ❖ **Blancard D. (1997).** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 212p.
- ❖ **Blancard D, Laterrot H, Marchoux G et Candresse T. (2009).** Les maladies de la tomate. Edition. INRA.
- ❖ **Booth C. (1971).** The genus *Fusarium*. Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, P 237.
- ❖ **Botton B, Bretton A, Fevre M, Gauthier S, Guy Ph, Larpent J. P, Reymond P, Sanglier J. J, Vayssier Y et Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles : importance industrielle. 2^{ème} édition. Paris. 512-309.
- ❖ **Bovey R. (1972).** La défense des plantes cultivées traité pratique de phytopathologie et de zoologie agricole. 6^{ème} ed. Payot Lausne.
- ❖ **Buxton, E. (1954).** Heterokaryosis and variability in *Fusarium. oxysporum.f. sp. gladioli* *J Gem, Micro*, 10, 8-71.
- ❖ **Cardoza R. E, Hermosa M. R, Vizcaino J. A, Sanz L, Monte E et Gutierrez S. (2005).** Secondary metabolites produced by *Trichoderma* and their importance in the biocontrol process. In: Mellado, E., Barredo, J.L. (Eds.), *Microorganisms for Industrial Enzymes and Biocontrol*. Research Signpost, Kerala, 1–22.
- ❖ **Cause M, Caranta C, Saliba-Coloombani V, Moretti A, Damidaux R et Rousselle P. (2000).** Valorisation des ressources génétiques de la tomate par l’utilisation de marqueurs moléculaires. *Agricultures*. Vol 9, 3, 197-210.
- ❖ **Chet I et Baker R. (1981).** Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 71, 286-290.
- ❖ **Chet I, Harman GE et Baker R. (1981).** *Trichoderma harzianum*: Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium spp.* *Microbiol. Eco*, 7, 29-38.

- ❖ **Chaux C. L et Foury C. L. (1994).** Culture légumière et maraichère. Tome 3: légumineuses potagères, légumes fruit. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 563 p.
- ❖ **Corbaz R. (1990).** Principe de phytopathology, Annual Revie. Paolo Alto. California.
- ❖ **Couteaudier Y, Alabouvette C et Louver J. (1984).** Nécrose du collet et pourriture des rasines de tomate causée par *Fusarium oxysporum*. 24^{ème} colloque de la Soc. France.
- ❖ **Couteaudier Y, Alabouvette C et Soulas ML. (1985).** Nécrose du collet et pourriture des racines de tomate. P.H.M., Revue Horticole, n° 254, 39-42.
- ❖ **Daami-Remadi M. (2001).** Lutte biologique contre les *Fusarium spp*. Agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Tunisie : Ecole supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem, P 72.
- ❖ **Daami-Remadi M, El Mahjoub M. (2001).** Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. l'INRAT 74, 167-186.
- ❖ **Davet R et Rouxel F. (1997).** Détection et isolement des champignons du sol. Edition INRA. Paris, 17-54.
- ❖ **Davis N. D, Diener U. L et Morgan-Jones G. (1977).** Tenuazonic acid production by *Alternaria alternata* and *Alternaria tenuissima* isolated from cotton. Applied and Environmental Microbiology. 34. 155-157.
- ❖ **De Iannoy G. (2001)** Légumes fruits in agriculture en Afrique tropicale, Direction générale de la coopération internationale, Ministère des Affaires Etrangères, du Commerce Extérieur et de la Coopération Internationale, Bruxelles-Belgique, 503-513.
- ❖ **Desmas S. (2005).** Analyse comparative de compétitivité : le cas de la filière tomate dans le contexte euro-méditerranéen. Thèse D.A.A., Institut Agronomique Méditerranéen de Montpellier, 68 p.
- ❖ **Eyquem A, Alouf J et Montagnier L. (1998).** Traité de microbiologie clinique. Picci. P 1055.
- ❖ **FAO. (2008).** L'actualité agricole en Méditerranée. Ed. Ciheam, 33p.
- ❖ **FAO-STAT. (2009).** World tomatoes, all production by country, 1990-2005.

- ❖ **FAO. (2012).** Food Agriculture Organisation, <http://www.fao.Org/corp/statistics / fr />. Consulter le 16/04/2015 à 15 :30
- ❖ **FAOSTAT. (2013).** Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture,<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>
- ❖ **Garrido C, Fernández-Acero F, Carbú M, González-Rodríguez V, Liñeiro E et Cantoral J. (2012).** Molecular Microbiology Applied to the Study of Phytopathogenic Fungi, Gel Electrophoresis - Advanced Techniques.
- ❖ **Ghisalberti E. L et Sivasthamparam K. (1991).** Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma spp.* Soil Biol. Biochem. 23, 1011-1020.
- ❖ **Guessas B. (1993).** Etude physiologique et lutte biologique de l'agent de la fusariose vasculaire de la tomate (*Lycopersicum esculentum L.*) *Fusarium oxysporum*. Thèse de Magister. Université d'Oran. P 84.
- ❖ **Guiraud JP. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. Paris.
- ❖ **Hamini N. (2002).** Etude physiologique et évaluation de l'efficacité de certains fongicides vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici*. Thèse de magister. Université d'Oran.
- ❖ **Hamini N. (2011).** Diversité génétique des populations de *Fusarium* pathogène de la tomate sur le pourtour méditerranéen .Thèse De Doctorat En Microbiologie Université d'Es- Senia. Oran. 9 -34
- ❖ **Henni J. E. (1998).** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. P 171.
- ❖ **Hibar K. (2002).** La fusariose du collet et des racines de la tomate : Pathogénicité et moyens de lutte. Mémoire de Diplôme d'études approfondies en Protection des Plantes et Environnement. École Supérieure d'Horticulture et d'Élevage de Chott Mariem, 54 p.
- ❖ **Hibar K, Daam-Remadi M, Khiareddine H et El-Mahjoub M., (2005).** Effet inhibiteur *in vitro* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum f.sp. radicle-lycopersici*. Biotechnol. agron. Soc. Environ. 9 (3), 163-171.
- ❖ **Hislop E. C. (1993),** Application technology for Crop protection: An introduction. *CAB Int*, UK, 3-11.
- ❖ **Henni J. E, Boisson C et Geiger J. P. (1994).** Variabilité de la morphologie chez *Fusariumoxysporumf.sp. lycopersici*. *Phytopathol. Medit.*, 33, 51-58.

- ❖ **Hoking A. D et Stuart A. (1987).** Dichloran chloramphenicol peptone agar an identification medium for *Fusarium* species and some Dematiageous hyphomycetes. *Trans. Brit. Mycol.Soc.* 89(2), 239-244.
- ❖ **Ignjatov M, Milošević D, Nikolić Z, Gvozdanović-Varga J, Jovičić D et Zdjelar G. (2012).** *Fusarium oxysporum* as Causal Agent of Tomato Wilt and Fruit Rot. *Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Serbia*, 25-31.
- ❖ **Jarvis W. R et Shoemaker R. A. (1978).** Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root-rot of tomato. *Phytopathology.* 68, 1679-1680.
- ❖ **Katan T, Shlevin E et Katan J. (1997).** Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surface of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology.* 87, 712–719.
- ❖ **Kolai N, Saiah F, Boudia A. (2012).** Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle D'*Artemisia herba alba* SUR DEUX SOUCHES DE *Fusarium oxysporum* f. sp.*radicis-lycopersici* Laboratoire de protection des végétaux, Université Abed El Hamid Ibn Badis Mostaganem, 71p.
- ❖ **MADR. (2009).** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, Direction des statistiques (Alger), 18p.
- ❖ **Massiaen CM et Cassini R. (1968).** Recherche sur les fusarioses. IV la systématique *Fusarium*. *Ann.Epiphytes.* 19 (3) :387-454.
- ❖ **Messiaen C M, Blancard D, Rouxel F et Lfon R. (1993).** Les maladies des plantes maraichères. 3^{ème} ed. INRA, Paris.
- ❖ **Metcalf R. L et Luckman W. H. (1994).** Introduction to insect pest management. *Wiley Interscience*, New York, 650p.
- ❖ **Monte E. (2001).** Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int. Microbiol.* 4, 1–4.
- ❖ **Naika S, Van Dam B et Florijn A. (2005).** La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation, cinquième édition révisée, Agromisa Foundation, coll. « Agrodok », Wageningen, 2005, 105 p.
- ❖ **Nelson P E , Toussoun T A et Marasas. (1983).** *Fusarium* species an illustrated manuel for identification. The Pennsylvania State University. Press. University. Press. University Park.

- ❖ **Ouinten M. (1996).** Diversité et structure génétique des populations Algériennes de *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis*, agent causal de la fusariose vasculaire (bayoud) du palmier dattier. Thèse de doctorat, université de Montpellier II. P 170.
- ❖ **Pitt J. I. (1988).** A laboratory guide to common *Penicillium* species. 2^{ème} ed. Commonw Scientif Ind Research Organisation, North Ride Australia, P 197.
- ❖ **Rapilly F. (1968).** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. INRA.Paris.
- ❖ **Reino J. L, Guerrero R. F, Hernández-Galan R et Collado I. G. (2008).** Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. Phytochem. Rev.7, 89–123.
- ❖ **Renaud V. (2003).** Tous les légumes courants, rares ou méconnus cultivables sous nos climats. 49, 549-565.
- ❖ **Rick C. M, Laterrot H et Philouze J.(1990).** A revised key for the
- ❖ Lycopersicon species. Tomato Genet. coop. rep. 40, P 31.
- ❖ **Ripert C. (2013).** Mycologie médicale. Ed Céline Poiteaux, Lavoisier, Paris. P 332.
- ❖ **Ruocco M. L, Massimo G, Oscar A, Bernard B et Jurgen K. (2011).** Food quality safety. Lutte biologique .Tome2. CNR, Italie, UE. P 104.
- ❖ **Scott T. (1923).** The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of *Fusarium lycopersici* and on tomato wilt. Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin. P 64.
- ❖ **Si Mohamed A. (2010).** Etude de compatibilité végétative chez des populations de *Fusarium oxysporum* isolées dans l'ouest algérien. Mémoire de magister. Spécialité : Microbiologie Option : Phytopathologie et phytopharmacie, 6-9.
- ❖ **Scher F. M et Baker R. (1982).** Mechanism of biological control in a *Fusarium* suppressive soil. Phytopathology .70, 412-417.
- ❖ **Snoussi S. A. (2010).** Rapport de mission : Eude de base sur la tomate en Algérie. Ministère de l'Agriculture et du développement rural, Direction des statistiques. (MRAD).
- ❖ **Sun S. L et Huang J. W. (1985).** Formulated soil amendment for controlling *Fusarium* wilt and other soilborne diseases. Plant Disease. 69, 917-920.

- ❖ **Toshiaki O et Takashi T. (2004).** FoSSTUA, Encoding a Basid Helix-Loop-Helix Protei, Differentially Regulates Development of Three Kinds of Asexual Spores, Macroconidia, Microconidia and Chlamydo spores, in the Fungal Plant Pathogen *Fusarium oxysporum*. University, Chikusa. Japan.
- ❖ **Touze A. (1979).** Les moyens de défenses des plantes contre les micro-organismes parasites. In : les relations hôte parasite *Bull.Soc.Bot. Fr* 126, 103-110.
- ❖ **Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti E. L, Marra R, Woo S. L et Lorito M. (2008).** *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40, 1–10.
- ❖ **Wang X, Yu J, Wang Y et Wang L. (2002).** Mechanism based quantitative structure activity relationships for the inhibition of substituted phenols on germination rate of *Cucumis sativus*. *Chemosphere*. 46, 241-250.
- ❖ **Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P et Van Kan JAL. (2007).** *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*. 8, 561–580.
- ❖ **Zaid.R., 2010.** Inventaire des ennemis naturels de *Tuta absoluta* (Meyrick,1917) (Lepidoptera, Gelechiidae) et effet de son parasitoïde *Diglyphus isaea* (Hymenoptera, Eulophidae) sur deux variétés de tomate dans les régions de Staouali et Chéraga .Mémoire d’Ing.département d’agronomie .Université de Blida. P 96.
- ❖ **ZIDANI S. (2009).** Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine. Thèse de magister, option : Technologie Alimentaire. Laboratoire de Recherche Technologie Alimentaire L.R.T.A, université M'hamed Bougara Boumerdes, 74 p.
- ❖ **Yezli W. (2010).** Étude morphologique, pouvoir pathogène et activité protéolytique chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis*, Mémoire de Magister en Microbiologie Appliquée, Université d’Oran. P105.

Annexes

Annexe I : Composition des milieux de culture

- Tous les milieux de culture sont stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes sous une pression de 1 bar.

* Milieu PDA (g/l) :

Pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
Agar agar	20 g
Eau Distillée q.s.p.	1000 ml

- La pomme de terre est épluchée, coupée en petits dés puis cuite dans un litre d'eau distillée. Après cuisson, le filtrat est récupéré, ajusté à 1000 ml puis ajuster le **pH** à **6,5**.

* Gélose 2 % :

Agar agar	20 g
Eau Distillée q.s.p.	1000 ml

pH = 6,5

Résumé

Notre présente étude est consacrée à une contribution à la recherche et l'identification des agents phytopathogènes de la tomate (*Lycopersicum esculentum* L.), ainsi que des champignons antagonistes en vue d'une lutte biologique.

Dans notre étude nous avons démontré la présence de quatre champignons appartenant à la Classe des Deutéromycètes : *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Alternaria*.

Les résultats de la lutte biologique ont démontré que l'agent antagoniste *Trichoderma harzianum* a un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, que sa soit, par confrontation directe, là où on a remarqué un envahissement de la colonie du pathogène par la colonie de l'antagoniste, ce qui prouve son pouvoir mycoparasitaire; ou bien par confrontation indirecte, ce qui a démontré que cet agent antagoniste sécrète des substances volatiles qui inhibe la croissance mycélienne de (Fol) avec un taux d'inhibition supérieure à 84 %.

Mots clés : Tomate, champignons phytopathogènes, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, lutte biologique, *Trichoderma harzianum*.

ملخص

عملنا الحالي يهدف إلى المساهمة في البحث والتعرف على مسببات الأمراض النباتية للطماطم (*Lycopersicum esculentum* L.) وكذلك الفطريات المعادية للمكافحة البيولوجية.

من خلال دراستنا أظهرنا وجود أربعة فطريات و التي تنتمي إلى فئة Deutéromycètes :

Fusarium, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Alternaria*

وقد أظهرت نتائج مكافحة الحيوية أن خصم *Trichoderma harzianum* له تأثير كايح بشكل خاص على نمو فطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*، إما عن طريق المواجهة المباشرة، حيث لاحظنا غزو مستعمرة الخصم قبل مستعمرة الممرض، وهو ما يثبت قوته في المكافحة؛ أو من خلال المواجهة غير المباشرة، والتي أثبتت أن هذا الخصم يفرز المواد المثبطة التي تمنع نمو فطر (Fol) مع معدل تثبيط أعلى من 84%.

الكلمات المفتاحية: نبات الطماطم، الفطريات المسببة للأمراض، *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*، المكافحة البيولوجية، *Trichoderma harzianum*.

Abstract

Our present study is devoted to a contribution to the search and identification of plant pathogens of tomato (*Lycopersicum esculentum* L.), as well as antagonistic fungi for biological control.

In our study we demonstrated the presence of four fungi belonging to the class Deuteromycetes: *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Alternaria*.

The results of biological control have demonstrated that the antagonist *Trichoderma harzianum* has an inhibitory effect on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, its either by direct confrontation, where we noticed an invasion of the pathogen colony by colony antagonist, which proves its mycoparasite power; or by indirect comparison, which demonstrated that this antagonist secretes volatile substances which inhibit mycelial growth (Fol) with an inhibition rate higher than 84%.

Keywords: Tomato, plant pathogenic fungi, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, biological control, *Trichoderma harzianum*.