

**UNIVERSITÉ DE BLIDA 1**

**Faculté des Sciences de la nature et de la vie**

**Département de Biotechnologies**

## **THESE DE DOCTORAT**

En Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des plantes et de l'environnement

### **ETUDE DE LA VERTICILLIOSE EN HORTICULTURE : CARACTERISATION ET APPROCHE EPIDEMIOLOGIQUE**

Par

**DEGAICHIA Hoceme**

Devant le jury composé de :

CHAOUIA C.	Professeur	U. Blida 1	Présidente
BENRIMA A.	Professeur	U. Blida 1	Directrice de thèse
BOUCHENAK F.	M.C.A	U. Blida 1	Examinatrice
AMRANI S.	Professeur	USTHB-Alger	Examineur
BISSAAD F.Z	Professeur	UMB- Boumerdes	Examinatrice
SMAIL SAADOUN N.	Professeur	UMMTO –Tizi ousou	Examinatrice

Blida, Octobre 2020

**C**hacun d'entre nous peut atteindre son potentiel maximum. Notre destination finale est peut être prédéterminée, mais c'est à nous de choisir les chemins à emprunter pour y arriver.

Nous ne devons jamais laisser nos peurs ou les attentes de notre entourage établir les frontières de notre destin.

Notre destin est immuable mais il peut être défié, nous naissant tous de la même manière mais le jour de notre mort chacun d'entre nous est *unique*.

A handwritten signature in black ink, written in a cursive style. The signature is slanted and appears to be a name, possibly "A. Dubois" or similar, though the letters are stylized and difficult to decipher precisely.

## REMERCIEMENTS

J'exprime toute ma reconnaissance à ma directrice de thèse, **Pr. BENRIMA Atika**, pour m'avoir supervisé directement, tout en me laissant une grande marge de manœuvre et de liberté pour gérer ce projet. Je la remercie d'avoir toujours été présente et disponible quand cela s'avérait nécessaire.

Au **Pr. CHAOUIA C.** qui m'a fait l'honneur de présider le jury. Mes remerciements vont également vers le **Pr. BISSAD F.Z** ; **Pr. AMRANI.S** et **Pr. SMAIL-SAADOUN N.** et **Dr. BOUCHENAK** qui ont acceptés d'examiner ce modeste travail. La contribution de leurs compétences enrichira certainement le débat, nous en sommes plus que convaincus.

Je remercie également **Pr. BENREBIHA F.Z**, **Dr. MOUAS A.**, **Pr. SAIDI F.** et **Pr. SENOUSSE S.A** qui m'ont toujours guidé, aidé et cru en moi même dans mes moments de doutes.

Au **Dr. SADI N.** qui m'a encouragée, non seulement dans le laboratoire, mais également dans les couloirs du département. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect et de ma parfaite ma gratitude.

Je remercie **Mme. BENCHABAN** de m'avoir épaulé tout au long de mon cursus universitaire, avec ces conseils et son sourire maternel. Vous étiez présente dans tous les remerciements que j'ai écrit pour mes trois mémoires ... ceci ne fera jamais l'exception.

Mes remerciements vont à **Mme BRIKI F.** et **Mr .ALIOUSSALAH A.** dont le départ à laisser un grand vide

Je remercie mes étudiants avec qui j'ai partagé des instants « Verticilliens » je cite, **OUATARA eps KEITA R.**, **MOKHTARI F.**, **LAADJEL M.L.B.**, **AIT YOUSSEF S.** et **CHADI A.**

Mes remerciements vont également à tout le staff administratif et le corps enseignant du département des biotechnologies et surtout à Mr. **OUELMOUHOUB.** sans oublier **Hassiba**, **Akila**, **Hannen**, **Kheira**, **Malika** et **Amina**. Ma gratitude va également aux ingénieurs et techniciens des laboratoires du département : **Walid**, **Samia**, **Nassima**, **Ghania**, **Zakia**, **Nadjia**, et spécialement **Amina et Djamila**.

  
**DEGAÏCHIA Houssem.**

## DÉDICACE

« 1 »

À celle dont mon paradis est sous ces pieds ...

À celle dont le prénom est symbole de patience ...

À celle qui m'aime au-delà de mes défauts ...

À celle pour qui je serais toujours un petit garçon ...

... À ma mère,

Au pilier de la famille ...

Au rempart qui se dresse entre moi et mes soucis ...

À l'homme qui a fait de moi un Homme ...

... À mon père,

Je dédie ce travail à vous

À mes frères et sœurs ... à ma famille

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'H. Duran', written in a cursive style.

## DÉDICACE

« 2 »

Au deux femmes qui m'ont soutenue tout au long de mon parcours. Celles qui m'ont adopté, épaulé et séché mes larmes.

À celle avec qui j'ai partagé des moments de bonheur entre une tasse de café et une tasse de thé ...

À celle avec qui j'ai partagé des repas dans un salon chaleureux ...

À celles dont la vie m'a gratifié de leur présence. Je vous dédie ce travail en vous remerciant d'avoir été des mamans pour moi.

En lisant ces mots vous vous reconnaitriez

Je vous remercie pour ce que vous avez fait et continuer à faire pour moi

... À mes mamans

## DÉDICACE

« 3 »

À celui avec qui j'ai partagé des moments de folies .... Celui avec qui je n'ai jamais pu argumenter quand ça parle d'insectes .....

.... À Farid

**DÉDICACE**  
**« Apres Correction »**

Je dédie ce travail a ceux qui restent à nos côtés après la fin de la fête...

Aux amis ... aux frères qui m'ont aidé à finaliser les corrections pour aboutir à ce document final.

A Samy,

Zaki,

et Riadh

## TABLE DES MATIÈRES

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Resumé	
Abstract	
ملخص	
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE I SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....	4
I.1. Généralités sur les cultures maraichères : .....	4
I.2. Cultures maraichères des pleins champs : .....	4
I.3. Importance des cultures maraichères en Algérie .....	5
I.4. Principales maladies des cultures maraichères .....	6
I.5. Généralités sur la Verticilliose .....	6
I.5.1. Taxonomie .....	7
I.5.2. Spécificité parasitaire .....	9
I.5.3. Symptômes de la Verticilliose observés sur cultures maraichères .....	9
I.5.4. Biologie du <i>Verticillium dahliae</i> .....	11
I.5.5. Moyens de lutte .....	13
I.5.6. Importance économique de la Verticilliose dans le monde et en Algérie .....	14
I.6. Effets de l'azote, du potassium, et du magnésium sur le développement de différentes maladies des cultures .....	16
I.7. Influence des facteurs abiotiques sur la croissance, la sporulation et la pathogénicité des agents pathogènes telluriques .....	17
I.8. Influence des facteurs abiotiques sur l'activité biologique des agents pathogènes telluriques .....	19
I.9. Exsudation racinaire .....	21
I.10. Rôle des exsudats racinaires dans les étapes précoces des interactions racinaires-microorganismes telluriques .....	22

CHAPITRE II MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	24
PARTIE 1 ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION CULTURALE ET PATHOGÉNIQUE DE <i>Verticillium dahliae</i> .....	24
1. Échantillonnage du matériel végétal.....	24
2. Isolement à partir du matériel végétal .....	26
3. Obtention des isolats fongiques .....	26
4. Identification des isolats .....	28
5. Détermination des Compatibilités Végétatives (VCGs) .....	28
6. Recherche du pouvoir pathogène de <i>Verticillium dahliae</i> .....	31
6.1. Préparation de l'inoculum fongique .....	31
6.2. Obtention des plants.....	31
6.3. Inoculation de <i>Verticillium dahliae</i> .....	32
7. Évaluation de la virulence des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	33
7.1. Indice de rabougrissement .....	33
7.2. Évolution temporelle du flétrissement : .....	33
7.2.1. Pourcentage des feuilles flétris (PWL) .....	33
7.2.2. Area Under Disease Progression Curve (AUDPC).....	33
8. Caractérisation culturale de <i>Verticillium dahliae</i> .....	34
8.1. Effet du potentiel d'hydrogène du milieu de culture .....	34
8.2. Effet des ions du chlorure de sodium .....	34
8.3. Effet des éléments minéraux sur le développement et la croissance de <i>Verticillium dahliae</i> .....	35
8.4. Détermination de la croissance diamétrale mycélienne.....	36
8.5. Détermination de la croissance pondérale .....	36
8.6. Détermination du nombre de conidies produites (sporulation) .....	37
8.7. Détermination du nombre de conidies viables (germination).....	37
9. Évaluation de l'activité enzymatique de <i>Verticillium dahliae</i> .....	38
9.1. L'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase .....	38
9.2. L'activité $\beta$ -1,4 glucosidase.....	38
9.3. Dosage de protéines libérées dans le milieu .....	38
10. Analyse statistique des données .....	39

PARTIE 2 EXTENSION LINÉAIRE DE <i>Verticillium dahliae</i> DANS LE SOL EN FONCTION DES EXSUDATS RACINAIRES DE L'AUBERGINE, DU POIVRON ET DE LA TOMATE .....	40
11. Objectif .....	40
12. Matériel végétal .....	40
13. Choix du stade de prélèvement des exsudats racinaires .....	40
14. Extraction des exsudats racinaires .....	40
15. Teneur en sucres solubles totaux des exsudats .....	41
17. Extension linéaire de <i>Verticillium dahliae</i> .....	45
17.1. Préparation de l'inoculum .....	45
17.2. Description du dispositif (tube d'Evans) .....	45
17.3. Préparation du tube d'Evans .....	46
17.4. Inoculation des exsudats racinaires .....	46
17.5. Prélèvement des échantillons de sol .....	46
17.6. Ré-isolement du champignon .....	46
17.7. Évaluation de la vitesse de déplacement de <i>Verticillium dahliae</i> .....	47
18. Modélisation de l'extension linéaire de <i>Verticillium dahliae</i> .....	47
19. Analyse statistique des données .....	47

CHAPITRE III RÉSULTATS.....	48
PARTIE 1 Caractérisation culturale et pathogénique de <i>Verticillium dahliae</i> .....	48
1. Isolement et identification .....	48
2. Détermination des compatibilités végétatives (VCG).....	49
3. Évolution temporelle du flétrissement .....	52
4. Indice de rabougrissement.....	55
5. Effet des traitements sur la croissance de <i>Verticillium dahliae</i> .....	59
5.1. Effet du potentiel hydrogène .....	59
5.2. Effet du chlorure de sodium .....	62
5.3. Effet des éléments minéraux .....	69
6. Effet des traitements sur la sporulation et la germination des microconidies des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	69
6.1. Effet du potentiel hydrogène .....	69
6.2. Effet du chlorure de sodium .....	72
6.3. Effet des éléments minéraux .....	76
7. Effet des traitements sur les activités enzymatiques des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	82
7.1. Effet du pH sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase et $\beta$ -1,4 glucosidase .....	82
7.2. Effet du NaCl sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase et $\beta$ -1,4 glucosidase .....	87
7.3. Effet des éléments minéraux sur les activités enzymatiques .....	91
8. Effet des traitements sur la teneur en protéines secrétés par des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	97
8.1. Effet du pH.....	97
8.2. Effet du NaCl.....	99
8.3. Effet des éléments minéraux .....	100
PARTIE 2 Évaluation de la Vitesse de déplacement du <i>Verticillium dahliae</i> dans le sol en fonctions de la qualité des exsudats racinaires.....	103
9. Composition biochimique des exsudats racinaire .....	103
10. Extension linéaire de <i>Verticillium dahliae</i> .....	105
11. Modélisation de la vitesse du déplacement du <i>Verticillium dahliae</i> .....	109
11.1. Évaluation de la pertinence du modèle de régression .....	110
11.2. Évaluation de la variabilité expliquée par le modèle de régression.....	114

DISCUSSION .....	118
CONCLUSION .....	133
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	136
ANNEXE	

## LISTE DES FIGURES

Figure 1. 1. Morphologie des conidiphores , phialides, et microconidies de <i>Verticillium dahliae</i> .....	8
Figure 1. 2 Détail au microscope photonique des microsclérotés formés par <i>Verticillium dahliae</i> .....	9
Figure 1. 3. Brunissement de racines et des tiges atteintes par le <i>Verticillium dahliae</i> .....	10
Figure 1. 4 Brulure et jaunissement des feuilles de tomate atteintes par le <i>Verticillium dahliae</i> .....	10
Figure 1. 5 Cycle de développement de <i>Verticillium dahliae</i> Kleb . .....	12
Figure 2. 1. Obtention des souches de <i>Verticillium dahliae</i> par culture de spores....	27
Figure 2. 2. Mise en culture des graines et croissance des plantules de Tomate d'aubergine et du poivron .....	32
Figure 2. 3. Transplantation des plantes tests .....	32
Figure 2. 4: Perméabilisation des racines sous agitation.....	41
Figure 2. 5 : Dosage des sucres solubles totaux .....	42
Figure 2. 6: Dosage des acides aminés solubles .....	44
Figure 2. 7: Schéma représentatif du tube d'Evans.....	46

Figure 3. 1 : Aspect macroscopique de quelques isolats de <i>Verticillium dahliae</i> (V11, V22, V36 et V14) sur milieu PDAS (a : vue de face ; b : vue de dos) .....	48
Figure 3. 2 : Aspect microscopique (x500) de quelques isolats de <i>Verticillium dahliae</i> sur milieu PDAS (Microconidies (a) et conidiophore (b) des isolats V36, V11, V22 ; c : Microsclérotos de l'isolat V11) .....	49
Figure 3. 3 : Abondance relative des groupes végétatifs de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des régions d'échantillonnage .....	50
Figure 3. 4: Évaluation quantitative de la pathogénicité des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> envers le poivron, l'aubergine et la tomate.....	52
Figure 3. 5 : Pathogénicité moyenne des groupes végétatifs compatibles de <i>Verticillium dahliae</i> envers le poivron, l'aubergine et la tomate.....	54
Figure 3. 6 : Indice de rabougrissement des plants inoculés par les isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	55
Figure 3. 7 : Indice de rabougrissement moyen des plants inoculés par les groupes végétatifs compatibles de <i>Verticillium dahliae</i> .....	56
Figure 3. 8 : Classification ascendante hiérarchique des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> selon leur pathogénicité.....	58
Figure 3. 9 : Effet du pH sur la croissance diamétrale (cm <sup>2</sup> ) de <i>Verticillium dahliae</i> .	59
Figure 3. 10 : Répartition des groupes homogènes de la croissance diamétrale de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction du pH.....	61
Figure 3. 11 : Effet du pH sur la croissance pondérale (mg MS) de <i>Verticillium dahliae</i> .....	62
Figure 3. 12: Répartition des groupes homogènes de la croissance pondérale des conidies de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction du pH.....	63
Figure 3. 13 : Effet du NaCl sur la croissance diamétrale (cm <sup>2</sup> ) de <i>Verticillium dahliae</i> .....	64

Figure 3. 14 : Répartition des groupes homogènes de la croissance diamétrale de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction de la concentration en NaCl .....	66
Figure 3. 15 : Effet du NaCl sur la croissance pondérale (mg MS) de <i>Verticillium dahliae</i> .....	67
Figure 3. 16 : Répartition des groupes homogènes de la croissance pondérale de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction de la concentration en NaCl .....	68
Figure 3. 17 : Effet des éléments minéraux sur la croissance diamétrale (cm <sup>2</sup> ) de <i>Verticillium dahliae</i> .....	69
Figure 3. 18 : Répartition de la croissance diamétrale de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des traitements avec les éléments minéraux .....	71
Figure 3. 19 : Effet des éléments minéraux sur la croissance pondérale (mg MS) de <i>Verticillium dahliae</i> .....	72
Figure 3. 20 : Répartition de la croissance pondérale de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des traitements avec les éléments minéraux .....	68
Figure 3. 21 : Effet du potentiel d'hydrogène sur la sporulation (UFC/cm <sup>2</sup> ) des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	69
Figure 3. 22 : Effet du potentiel d'hydrogène sur la germination (UFC/ml) des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	70
Figure 3. 23 : Effet du potentiel d'hydrogène sur le pourcentage de viabilité (%) des conidies des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	71
Figure 3. 24 : Répartition des groupes homogènes de la viabilité des conidies de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction du pH .....	72
Figure 3. 25 : Effet du chlorure de sodium sur la sporulation (UFC/cm <sup>2</sup> ) des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	73
Figure 3. 26 : Effet du chlorure de sodium sur la germination (UFC/ml) des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	74

Figure 3. 27 : Effet du chlorure de sodium sur le pourcentage de viabilité (%) des conidies des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	75
Figure 3. 28 : Répartition des groupes homogènes de la viabilité des conidies de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction de la concentration en NaCl .....	76
Figure 3. 29 : Effet des éléments minéraux sur la sporulation (UFC/cm <sup>2</sup> ) des conidies des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	77
Figure 3. 30 : Effet des éléments minéraux sur la germination (UFC/ml) des conidies des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	78
Figure 3. 31 : Effet des éléments minéraux sur le pourcentage de viabilité (%) des conidies des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	79
Figure 3. 32 : Répartition de la viabilité des conidies de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des traitements avec les éléments minéraux .....	81
Figure 3. 33: Effet du pH du milieu sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	82
Figure 3. 34 : Répartition des groupes homogènes de l'activité endo-B-1,4-glucanase de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction du pH.....	84
Figure 3. 35: Effet du pH du milieu sur l'activité $\beta$ -1,4 glucosidase des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	85
Figure 3. 36: Répartition des groupes homogènes de l'activité B-1,4 glucosidase de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction du pH.....	86
Figure 3. 37: Effet du NaCl sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	87
Figure 3. 38 : Répartition des groupes homogènes de l'activité endo-B-1,4-glucanase de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction de la concentration en NaCl .....	88
Figure 3. 39. Effet du NaCl sur l'activité $\beta$ -1,4 glucosidase des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	89

Figure 3. 40 : Répartition des groupes homogènes de l'activité B-1,4 glucosidase de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction de la concentration en NaCl .....	90
Figure 3. 41: Effet des éléments minéraux sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	91
Figure 3. 42 : Répartition de l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des traitements avec les éléments minéraux .....	93
Figure 3. 43: Effet des éléments minéraux sur l'activité $\beta$ -1,4 glucosidase des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	94
Figure 3. 44: Répartition de l'activité $\beta$ -1,4-glucosidase de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des traitements avec les éléments minéraux .....	96
Figure 3. 45: Effet du pH sur la teneur en protéines secrétés dans le milieu par les deux isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	97
Figure 3. 46 : Répartition des groupes homogènes de la teneur en protéines de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction du pH.....	98
Figure 3. 47 : Effet du NaCl sur la teneur en protéines secrétés dans le milieu par les deux isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	99
Figure 3. 48: Répartition des groupes homogènes de la teneur en protéines de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction de la concentration en NaCl .....	100
Figure 3. 49 : Effet des éléments minéraux sur la teneur en protéines secrétés dans le milieu par les deux isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	101
Figure 3. 50: Répartition de la teneur en protéine de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des traitements avec les éléments minéraux.....	102
Figure 3. 51: Teneur des exsudats racinaire en sucres solubles totaux ( $\mu\text{g/gMF}$ )..	103
Figure 3. 52 : Teneur des exsudats racinaire en acides aminées ( $\mu\text{mol eq.Leu./gMF}$ ) .....	104
Figure 3. 53 : Teneur des exsudats racinaire en protéines (g/l).....	105

Figure 3. 54: Vitesse de translation (cm/min) de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des stades phénologiques de l'aubergine.....	106
Figure 3. 55: Vitesse de translation (cm/min) de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des stades phénologiques du Poivron.....	107
Figure 3. 56 : Vitesse de translation (cm/min) de <i>Verticillium dahliae</i> en fonction des stades phénologiques de la Tomate .....	109

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. 1 : Pertes économiques causées par la Verticilliose (61). .....	15
Tableau 2. 1. Origine des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> .....	25
Tableau 2. 2. Caractérisation des différents types de mutants résistant au chlorate par leur déficience pour l'assimilation de l'azote sous forme de nitrate, de nitrite ou d'hypoxanthine.....	30
Tableau 2. 3 : Concentrations des différentes sources d'azote, de potassium et de magnésium retenu .....	35
Tableau 2. 4: Sources d'éléments minéraux testées .....	36
Tableau 3. 1 : Compatibilité végétative des isolats de <i>Verticillium dahliae</i> et leurs diversités génétiques.....	51
Tableau 3. 2 : Analyse de variance pour le modèle de régression de l'Aubergine .	111
Tableau 3. 3 : Analyse de variance pour le modèle de régression du Poivron .....	112
Tableau 3. 4: Analyse de variance pour le modèle de régression de la Tomate ....	113
Tableau 3. 5 : Paramètres de l'équation du modèle de régression de l'Aubergine .	114
Tableau 3. 6 : Paramètres de l'équation du modèle de régression du Poivron.....	115
Tableau 3. 7 : Paramètres de l'équation du modèle de régression de la tomate ....	116
Tableau 3. 8 : Formules prédictives de la distance de déplacement de <i>Verticillium dahliae</i> dans un espace linéaire .....	117

## RÉSUMÉ

### Étude de la verticilliose en horticulture : caractérisation et approche épidémiologique

Un totale de 37 isolats de *Verticillium dahliae* a été isolés et identifiés du collet de la Tomate, Aubergine et Poivron. La détermination des groupes végétatifs compatibles (VCGs) effectué par le croisement des 37 isolats avec 4 souches de références révèle que les isolats appartiennent à deux groupes végétatifs (VCG 2B et VCG 4A). L'isolat V11 est un isolat représentatif du groupe VCG 2B qui est le groupe le plus agressif. Par contre l'isolat V36 représente le groupe le moins agressif (VCG 4A). L'abondance relative des groupes végétatifs en fonction des régions d'échantillonnage indique que les isolats de la région de Tebessa sont uniquement du groupe VCG 2B. Ce groupe est majoritaire dans la région de Guelma et Tlemcen. Les régions de Souk ahras, Annaba et Tiaret sont représentées de manière égale par les isolats du groupe 2B et 4A. Ce dernier est abondant majoritairement dans les régions de Taref, Alger et Blida. L'étude du pouvoir pathogène de ces isolats par le calcul de l'AUDPC (*Area Under Disease Progression Curve*) que la tomate est plus sensible à la verticilliose par rapport au poivron et à l'aubergine avec des valeurs de l'AUDPC avoisinants 620,3. Ce chiffre est engendré par l'isolat le plus agressif (V11). Un isolat moins agressif s'est distingué par un AUDPC = 142,1, il s'agit de l'isolat V36. Il est de même pour l'indice de rabougrissement, où on note que la tomate présente une réduction importante de taille (IR=61,9% pour l'isolat V11). La croissance, le développement et les activités biologiques des deux isolats retenus ont été également étudiés *in-vitro* en fonction des facteurs telluriques abiotiques. La croissance diamétrale et pondérale de l'isolat V11 est diminuée par le pH basique du milieu. Tandis que l'isolat V36 ne semble pas être affecté par la variance du pH. Par contre, le nombre de conidies viables des isolats est amoindri dans le milieu à pH acide. Le chlorure de sodium à 10g/l inhibe la croissance de l'isolat le plus agressif (V11) et induit une diminution de la viabilité des conidies. Par contre il n'a aucun effet sur l'isolat V36. Le chlorure de sodium à 8 g/l stimule la croissance diamètre des isolats et les souches de référence. Ces deux concentration on l'effet inverse pour l'isolat V36 et VCG 4A. La croissance pondérale n'est pas affectée par le chlorure de sodium. Le nitrate d'ammonium à 0,33 ppm est un élément prometteur pour la diminution de la croissance et la viabilité des conidies de *Verticillium dahliae* V11 et V36. Il va de même pour le chlorure de magnésium à 1 ppm. Lors d'essais avec les deux isolats de *Verticillium dahliae*, les activités de la  $\beta$ -1,4 Glucanase et endo- $\beta$ -1,4 Glucosidase ont diminué en fonction du pH acide dans le milieu de culture. L'ajout de sels sous forme de NaCl à 4g/l a le même effet sur ces activités enzymatiques nécessaire à la pathogénicité. Le chlorure de magnésium à 0,05 ppm réduit l'activité glucanase tandis que le sulfate de potassium à 0,77 ppm diminue l'activité glucosidase. La distance parcourue par les deux isolats est en corrélation avec la qualité des exsudats racinaires. L'étude de l'extension linéaire de *Verticillium dahliae* V11 et V36 a abouti à la possibilité d'établir treize modèles statistiques permettant de prédire le développement du champignon en fonction du stade phénologique et des exsudats racinaires de l'aubergine, du poivron et de la tomate.

**Mots clé :** *Verticillium dahliae* Kleb, Verticilliose, Caractérisation, épidémiologie, modélisation

## ABSTRACT

### Study of *Verticillium wilt* in horticulture: characterization and epidemiological approach

A total of 37 isolates of *Verticillium dahliae* were isolated and identified from the bottom of plant stem of Tomato, Eggplant and Pepper. The determination of compatible vegetative groups (VCGs) carried out by crossing 37 isolates with 4 reference strains reveals that the isolates belong to two vegetative groups (VCG 2B and VCG 4A). Isolate V11 is a representative isolate from the VCG 2B group which is the most aggressive group. In contrast, the isolate V36 represents the least aggressive group (4A). The relative abundance of vegetative groups according to the sampling regions indicates that the isolates from Tebessa are only from the VCG 2B group. This group is in the majority in Guelma and Telemcene. The regions of Souk ahras, Annaba and Tiaret are represented equally by the isolates from group 2B and 4A. 4A is abundant mainly in the regions of Taref, Algiers and Blida. The study of the pathogenic effect of these isolates by calculating the AUDPC (Area Under Disease Progression Curve) shows that the tomato is more sensitive to the verticillium wilt compared to peppers and eggplant with neighboring AUDPC values of 620,3. This number was generated by the most aggressive isolate (V11). A less aggressive isolate was distinguished by an AUDPC = 142.1, it is isolate V36. It is the same for the stunting index, where we note that the tomato has a significant reduction in size (IR = 61.9% for isolate V11). The growth, development and biological activities of the two isolates selected were also studied in vitro, as a function of telluric abiotic factors. The diametral and weight growth of isolate V11 is reduced by the basic pH of the medium. Whereas, isolate V36 does not appear to be affected by the variance in pH. On the other hand, the number of viable conidia of the isolates is reduced in the medium at acid pH. Sodium chloride at 10g/l inhibits the growth of the most aggressive isolate (V11) and induces a decrease in the viability of conidia. However, it has no effect on isolate V36. Sodium chloride at 8g/l stimulates. These two concentrations have the opposite effect for isolate V36 and VCG 4A. Weight growth is not affected by sodium chloride. 0.33 ppm ammonium nitrate is a promising element for the reduction of growth and viability of the conidia of *Verticillium dahliae* V11 and V36. The same goes for 1 ppm magnesium chloride. In tests with the two isolates of *Verticillium dahliae*, the activities of  $\beta$ -1,4 Glucanase and endo- $\beta$ -1,4 Glucosidase decreased as a function of the acid pH in the culture medium. The addition of salts in the form of NaCl at 4 g / l has the same effect on these enzymatic activities necessary for pathogenicity. Magnesium chloride at 0.05 ppm reduces glucanase activity while potassium sulfate at 0.77 ppm reduces glucosidase activity. The study of the linear extension of *Verticillium dahliae* V11 and V36 resulted in the possibility of establishing thirteen statistical models making it possible to predict the development of the fungus according to the phenological stage and the root exudates of eggplant, pepper and the tomato.

**Keywords:** *Verticillium dahliae* Kleb, *Verticillium wilt*, Epidemiology, characterization, modeling.

## ملخص

### دراسة الذبول الفرتيسيليومي في البستنة: الوصف والنهج الوبائي

تهدف هذه الدراسة إلى عزل و تمييز الفرتيسيليوم داهليا كلابهان *Verticillium dahliae* Kleb (فطر أرضي) الذي يعد عامل الذبول الفرتيسيليومي في المحاصيل البستانية. ركزت دراستنا على عمليات الاستكشاف التي أجريت من 2016 إلى 2018 في 12 منطقة في الجزائر تتميز بالإنتاج المكثف لمحاصيل الخضروات في الحقول المفتوحة و البيوت البلاستيكية. تم عزل وتحديد 37 عينة من عنق الطماطم و الباذنجان و الفلفل. أظهر تحديد المجموعات النباتية المتوافقة (م.ن.م)، الذي تم عن طريق تهجين 37 عينة معزولة مع 4 سلالات مرجعية، أن العينات المعزولة تنتمي إلى مجموعتين نباتيتين (م.ن.م 2ب و م.ن.م 4أ). العينة ن11 هي عينة معزولة تمثيلية للمجموعة م.ن.م 2ب و التي تعد المجموعة الأكثر حدة. في المقابل، تمثل العينة المعزولة ن36 المجموعة الأقل حدة (م.ن.م 4أ). تشير الوفرة النسبية للمجموعات النباتية حسب مناطق أخذ العينات إلى أن العينات المعزولة المأخوذة من منطقة تبسة تنتمي فقط إلى المجموعة م.ن.م 2ب. تمثل هذه المجموعة الأغلبية في منطقتي قالمة و تلمسان. تمثل العينات المعزولة لمجموعة 2ب و 4أ مناطق سوق أهراس و عنابة و تيارت بصفة متساوية. تتواجد هذه المجموعة بوفرة في مناطق الطارف و الجزائر و البليدة. بينت دراسة القدرة المرضية لهذه العينات المعزولة عن طريق حساب م.ت.م.ت.م (مساحة تحت منحنى تقدم المرض)، أن الطماطم أكثر حساسية للذبول الفرتيسيليومي مقارنة بالفلفل و الباذنجان، بحيث تقترب قيم م.ت.م.ت.م من 620.3. نتج هذا الرقم عن العينة المعزولة الأكثر حدة (ن11). تم تمييز عينة معزولة أقل حدة بواسطة م.ت.م.ت.م = 142.1. يتعلق الأمر بالعينة المعزولة ن36. نفس الشيء بالنسبة لمؤشر توقف النمو حيث نلاحظ أن الطماطم تبدي انخفاضا كبيرا في الحجم (م.ت.ن = 61.9% بالنسبة للعينة المعزولة ن11). تمت كذلك دراسة نمو العينتين المعزولتين المختارتين وتطورهما ونشاطهما البيولوجية في المختبر حسب العوامل الأرضية غير الحيوية. تقلل درجة الحموضة القاعدية للوسط من زيادة القطر والوزن للعينة المعزولة ن11. بينما لا يبدو أن العينة المعزولة ن36 تتأثر بالتغير في درجة حموضة الوسط. من جهة أخرى، يقل عدد البكتريا الحية للعينات المعزولة في وسط تكون فيه درجة الحموضة عالية /حمضية. يثبط كلور الصوديوم بتركيز 10 غ / لتر نمو العينة المعزولة الأكثر حدة (ن11) و يؤدي إلى انخفاض في قابلية بقاء الفطريات. غير أنه لا يؤثر على العينة المعزولة ن36. يحفز كلور الصوديوم بتركيز 8 غ / لتر نمو قطر العينات المعزولة والسلالات المرجعية. يتميز هذان التركيزان بتأثير عكسي لدى العينات المعزولة ن36 و م.ن.م 4أ. لا تتأثر زيادة الوزن بكلور الصوديوم. تعتبر نترات الأمونيوم بتركيز 0.33 جزء من مليون عنصرا واعداد للحد من نمو فطريات الفرتيسيليوم داهليا ن11 و ن36 و قابلية بقائها. كما ينطبق ذلك أيضا على كلور المغنيزيوم بتركيز 1 جزء من مليون. أثناء الاختبارات التي أجريت على العينتين المعزولتين من الفرتيسيليوم داهليا، انخفضت أنشطة البيتا-1.4 غلوكاناز و الإندو بيثا-1.4 غلوكوسيداز حسب درجة الحموضة الحمضية في وسط الزرع. تحدث إضافة الأملاح في شكل كلور الصوديوم بتركيز 4 غ/لتر نفس التأثير على هذه الأنشطة الإنزيمية اللازمة لإحداث المرض. يقلل كلور المغنيزيوم بتركيز 0.05 جزء من المليون من نشاط الغلوكاناز بينما تقلل كبريتات البوتاسيوم بتركيز 0.77 جزء من المليون من نشاط الغلوكوسيداز. إن نوعية إفرازات جذور نباتات الاختبار لما تحتويه من السكريات القابلة للذوبان و الأحماض الأمينية القابلة للذوبان و من البروتينات تؤثر بشكل إيجابي على سرعة التنقل الخطي للعينتين المعزولتين ن11 و ن36 مع سرعة أكبر للعينة المعزولة ن11. ترتبط المسافة التي تقطعها العينتان المعزولتان بجودة الإفرازات الجذرية

**الكلمات المفتاحية:** فرتيسيليوم داهليا كلابهان ، الذبول الفرتيسيليومي، وصف وبائي، نمذجة.

## INTRODUCTION

La verticilliose, causée par *Verticillium dahliae* Kleb. Et *V. albo-atrum* Reinke & Berthold est l'une des maladies vasculaires les plus importantes rapportée sur des plantes appartenant à 45 familles botaniques **(1)**. Ces deux espèces sont d'une importance économique majeure **(2)** et sont distribuées dans le monde entier **(3)**.

*Verticillium dahliae*, champignon très polyphage, a été signalé sur cultures horticoles dans de nombreux pays producteurs des zones tempérées et subtropicales. Il affecte plusieurs centaines de plantes hôtes herbacées et ligneuses, et notamment plusieurs autres solanacées : le tabac, la pomme de terre, le poivron et surtout l'aubergine, qui est particulièrement sensible.

Plusieurs études ont montré que la sévérité de certaines maladies des plantes cultivées peut être affectée par certains éléments minéraux essentiels à la croissance de la plante **(5, 6, 7)** et que ces derniers peuvent être exploités pour limiter le développement d'une grande variété de maladies **(8)**

En Algérie, la verticilliose est considérée comme un sérieux problème pour l'olivier car les dégâts occasionnés sont énormes **(4)**. Cependant, elle est mal caractérisé sur cultures maraichères de fait que ces symptômes externe sont souvent confondu avec ceux de la fusariose

Actuellement, il n'existe aucune méthode permettant de lutter efficacement contre cette maladie. Elle est toujours au stade prospection notamment sur cultures maraichères **(4)**

Le développement d'un grand nombre de maladies des cultures maraichères comme la *Verticilliose* (*Verticillium dahliae* et *V.albo-atrum*) est affecté par les éléments minéraux présents dans le sol **(10)**.

L'effet de ces éléments sur le développement des maladies peut engendrer des changements structuraux ou physiologiques au niveau de la Plante, d'une augmentation de l'activité des antagonistes microbiens ou d'une toxicité directe envers l'agent pathogène par une inhibition de la croissance mycélienne et ces activités biologiques **(10)** Ainsi, la manipulation ou la modification des propriétés

chimiques du sol apparaît comme une pratique culturale intéressante pour le contrôle des maladies des plantes notamment la verticilliose **(8)**. Il est aussi noté que la sévérité et l'incidence de la maladie de la verticilliose sur pomme de terre est en corrélation négative avec certains facteurs agronomiques comme la fertilisation azotée sous forme de chlorure d'ammonium **(11)**

L'agent pathogène survit dans le sol sous forme de microsclérote fortement persistant. Ces microsclérotés restent inactifs jusqu'à ce que les exsudats racinaires d'une racine étroitement située induisent leur germination, **(26)**. Les exsudats racinaires composés de molécules de plus petite taille comme des sucres simples, des acides aminés, des acides organiques, des enzymes, des phénols, des stérols ou encore des vitamines favorisent le déplacement des champignons **(13)**.

Dans le cas des maladies provoquées par des champignons pathogène telluriques, il a été clairement montré que les exsudats des semences et des racines dans le sol ont une influence nette sur l'activité du parasite **(14)**. Pour que l'infection puisse se réaliser, il est nécessaire que le champignon soit dans des conditions nutritives qui lui permettent une croissance mycélienne vigoureuse et une activité métabolique intense. **(14)**.

La quantité et la qualité des exsudats racinaires dépendent de l'espèce, du cultivar, du stade de développement de la plante et des facteurs environnementaux. Ces derniers favorisent la stimulation des agents pathogènes telluriques les plus redoutables et leurs dynamiques dans le sol **(15)**.

La colonisation des tissus par le parasite est rendue aisée par la production d'enzymes de dégradation des parois cellulaires de l'hôte **(16)**. Une corrélation positive existe entre l'activité des cellulases et des pectinases produites par des isolats de *Verticillium* sp. et leur agressivité vis-à-vis de leurs plantes hôtes **(17)**, **(16)**, **(18)**.

En outre, ce champignon est apte à produire des métabolites toxiques à l'intérieur des tissus infectés et qui seraient impliqués dans l'expression des symptômes de la maladie **(19)**, **(20)**, **(18)**.

La variabilité des caractères morphologiques et physiologiques des pathogènes telluriques ainsi que la croissance mycélienne et les activités biologiques peuvent changer en fonction de la nature du milieu, la concentration en éléments nutritifs du sol, de son pH, de l'aération, la salinité du sol, la température et de la lumière (18).

Notre travail de recherche vise à caractériser le comportement de *Verticillium dahliae* en fonction de quelques éléments minéraux (azote, potassium et magnésium), du pH et du NaCl par l'étude de la croissance diamétrale et pondérale, la conidiogénèse et son activité enzymatique glucanase et glucosidase ainsi la production de protéines.

D'un point de vue épidémiologique, on s'est intéressé à mieux comprendre la dynamique de *Verticillium dahliae* dans un sol inoculé artificiellement en fonction de la composition chimique des exsudats racinaires et du stade phénologique de la tomate, l'aubergine et du poivron. De ce fait, scorer l'existence des corrélations entre la nature chimique des exsudats racinaires et la vitesse de déplacement de cet agent pathogène tellurique. Ainsi que la corrélation entre sa vitesse de déplacement et le stade phénologique de la tomate, l'aubergine et du poivron. Ceci nous envoie à mettre la lumière sur l'intensité de la relation des pathosthèmes : *Verticillium dahliae*-Tomate ; *Verticillium dahliae*-Aubergine et *Verticillium dahliae*-Poivron. L'étude in-silico concerne la modélisation statistique de la vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* et aboutir à des formules mathématiques prédisant le déplacement du champignon en fonction du temps et du stade phénologique des plantes tests.

# CHAPITRE I

## SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

### I.1. Généralités sur les cultures maraîchères :

Le maraîchage (ou maraichage en orthographe rectifiée), ou horticulture maraîchère ou agriculture maraîchère est la culture de végétaux à usage alimentaire, de manière professionnelle, c'est-à-dire dans le but d'en faire un profit ou simplement d'en vivre, ce qui le distingue du jardinage.

Le maraîchage s'est d'abord développé dans la proche périphérie des villes pour approvisionner les marchés en légumes frais, souvent dans des zones marécageuses (zone humide), comme les hortillonnages d'Amiens ou le plus souvent dans les plaines alluviales des fleuves comme les jardins maraîchers de la Baratte au bord de la Loire à Nevers. Ce type de maraichage se caractérise par la petite surface des exploitations de type familial, par sa production diversifiée et souvent par la vente directe traditionnelle, les maraîchers tenant eux-mêmes un étal dans les marchés locaux **(21)**

Alors que la culture de plantes alimentaires en potager concerne plutôt l'autoconsommation, le maraichage concerne les cultures pour la vente à la consommation. Les producteurs maraîchers vendent leurs récoltes soit en "circuit long" à des chaînes de supermarchés, à des centrales d'achat (grossistes en alimentation) ou à l'industrie agroalimentaire, soit en "circuit court", directement de l'agriculteur aux consommateurs. **(21)**

### I.2. Cultures maraîchères des pleins champs :

Elles se distinguent des cultures légumières par leur intensification ; en effet elles se caractérisent par :

- Des exploitations spécialisées dans la production des cultures maraîchères.
- Les investissements élevés.
- Des terres de bonnes qualités.

- Large emploi des fumures, produits phytosanitaires et technicité. **(21)**

- **Les cultures maraîchères abritées** : ce sont des cultures qui se font à des époques anormales en utilisant des matériaux destinés à transformer le micro climat local en un climat plus proche des exigences de la plante .Ces matériaux peuvent être des serres, des tunnels ou des châssis. On distingue deux grands groupes de cultures sous abris :

- **Les cultures hâtées** : ce sont des cultures abritées qui n'utilisent pas de sources de chaleur artificielles (presque 100%des cultures abritées)

- **Les cultures forcées** : ce sont des cultures abritées qui utilisent des sources de chaleur artificielle **(21)**

### **I.3. Importance des cultures maraichères en Algérie**

Les cultures maraîchères sont cultivées dans toutes les régions d'Algérie, on les trouve aux alentours des centres urbains et là où il y a possibilité d'irrigation (barrages, oueds, sources ou moyens de pompage).

Le maraîchage à une grande importance dans l'économie nationale car il permet :

- La création d'un grand nombre d'emploi chaque année.
- La satisfaction des besoins en légumes des populations du pays.
- L'entrée de devises par le biais des exportations.
- L'approvisionnement de l'industrie agroalimentaire et la transformation en matière première **(21)**.

#### **I.4. Principales maladies des cultures maraichères**

Les cultures maraichères sont affectées par de nombreuses maladies fongiques, bactériennes et virales qui affectent la plante en totalité ou en parties (racines, tiges, feuilles et tubercules) pendant la phase de culture au champ et/ou pendant la phase de conservation des tubercules **(22)**. Les principales maladies fongiques sont la brûlure tardive (*Phytophthora infestans*), le rhizoctone brun (*Rhizoctonia solani*), la gale argentée (*Helminthosporium solani*), pourriture sèche (*Fusarium sambucinum*), l'altémariose (*A.solani,A.alternata*), la pourriture à sclérotés (*Sclerotinia sclerotium*), la verticilliose (*Verticillium sp.*), la pourriture aqueuse (*Pythium ultimum*), la pourriture rose (*Pythium erythroseptica*). Les principales maladies bactériennes sont la jambe noire (*Erwinia carotovora*), la gale commune (*Streptomyces scabies*) et la pourriture brune (*Ralstonia solanacearum*). Les principales maladies virales sont les mosaïques bénignes **(22)**.

#### **I.5. Généralités sur la Verticilliose**

La verticilliose, causée par *Verticillium dahliae* est l'une des maladies vasculaires les plus importantes rapportée sur des plantes appartenant à 45 familles botaniques **(1)**. Cette espèce cause d'importantes pertes économiques **(2)** et est distribuée dans le monde entier **(3)**. La verticilliose ou flétrissement verticillien est une maladie cryptogamique vivant majoritairement dans le sol et se propage par les racines lors de la montée de sève.

Longtemps considérée comme une maladie d'importance secondaire la verticilliose est devenue une maladie économiquement importante suite au développement du *Verticillium* **(23)**.

Le champignon de *V.dahliae* est un parasite facultatif, saprophyte du sol et biotope des plantes **(24)**. Son développement *in vivo* nécessite un sol humide. Son développement *in vitro* a un taux de croissance relativement lent. Il se développe différemment sur les milieux communs aussi bien organiques (Richards, Czapek) que synthétiques (PDA, MEA) **(25)**. Sa croissance *in vitro* est optimale aux températures de l'ordre 21 à 27°C **(26)** ; Avec un pH compris entre 6 et 9 **(23)**.

La croissance est inhibée par des températures extrêmes telles que 5 ou 35 °C (25) et des pH en dessous de 5 (23).

### I.5.1. Taxonomie

L'agent infectieux *Verticillium dahliae* a été décrit pour la première fois comme une espèce distincte par Klebhan (1913). C'est un champignon imparfait, haploïde et dimorphe (23), (26).

La classification de ce champignon établie par Agrios 1988 (27) ; puis Botton 1990 (28) est la suivante :

Division : *Amastigomycota*  
Group : Deutéromycètes  
Classe : Hyphomycètes  
Ordre : Hyphales ou Moniliales  
Famille : *Moniliaceae*  
Genre : *Verticillium*  
Espèce : *dahliae* (Kleb)

Du point de vue morphologique, le champignon porte des conidiophores disposés en verticilles autour de l'axe principal de l'hyphe. Une phialide se trouve à l'extrémité de chacune de ces branches et les conidies sont formées une par une à l'extrémité de la phialide. Les conidies peuvent s'agglomérer à l'extrémité des phialides. Par ailleurs,

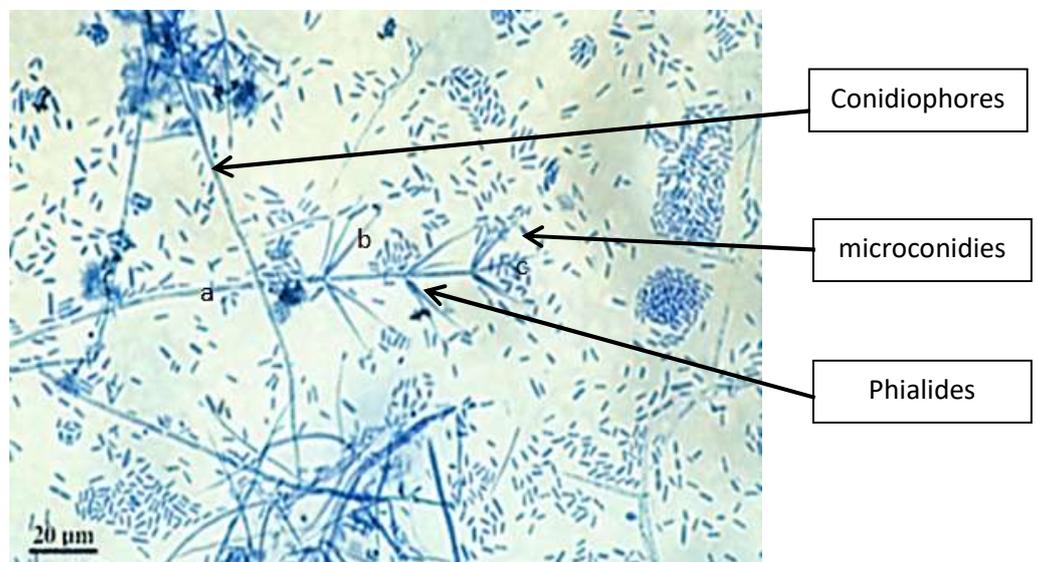
*V. dahliae* produit sous certaines conditions des microsclérotos. Cette particularité permet de le distinguer de *Verticillium albo-altrum*, un autre pathogène causant des symptômes similaires sur les plantes (23).

Les microsclérotos sont des structures de survie formées par l'agglomération d'hyphes contigus dont les parois sont épaissies et mélanisées. Les agglomérats formés ont l'aspect de petites boules noires (entre 20 et 200 picomètre de diamètre) pouvant être séparées des hyphes. Leur germination peut être induite artificiellement sur certains milieux sélectifs. Leur persistance dans le sol varie de 4 à 15 ans (29); (23).

Le genre *Verticillium* appartient au groupe des champignons imparfaits et possède deux types d'organes reproducteurs :

- les microconidies, unicellulaires, ovales ( $4-6\mu\text{m}\times 2-3\mu\text{m}$ ) contenues dans une gouttelette muqueuse, portées à l'extrémité des phialides (la sphérule) (Figure 1.1)
- Les microsclérotés, de forme et de tailles variables, reconnaissables par leur couleur noire, due à un pigment : la mélanine. Ils se forment par augmentation de taille, épaissement et mélanisation de la paroi des hyphes (30) (Figure 1.2)

Les champignons du genre *Verticillium* sont connus par leur grande facilité de variations. Ces variations touchent aussi bien la morphologie des thalles que le pouvoir pathogène (31)



**Figure 1. 1. Morphologie des conidiphores (a), phialides (b), et microconidies (c) de *Verticillium dahliae*.**



**Figure 1. 2 Détail au microscope photonique des microsclérotos formés par *Verticillium dahliae* (33)**

### **1.5.2. Spécificité parasitaire**

Le dahlia fut la première plante hôte attaquée par *Verticillium dahliae* (34). Originaire des hauts plateaux du Mexique, les Aztèques le cultivent aussi comme une plante ornementale. Le dahlia a été découvert par des botanistes espagnols dans la "Nueva españa", le Mexique actuel.

Ce parasite est extrêmement polyphage puisqu'il peut attaquer plus de 400 espèces de plantes appartenant à des genres et familles différentes dont beaucoup ont un intérêt agricole et économique (35) comme des arbres fruitiers (l'olivier, l'amandier, l'abricotier (36), des plantes herbacées aussi bien maraichères (pommes de terres, poivron, tomates, aubergines) qu'ornementales (Chrysanthèmes ,rosier et lychnis) (37), (38), des légumes chou-fleur, artichaut (36).

### **1.5.3. Symptômes de la Verticilliose observés sur cultures maraichères**

Comme de nombreuses autres maladies vasculaires, les attaques de verticilliose sur tomate se traduisent par le flétrissement des plantes au moment les plus chauds de la journée. Les folioles ne tardent pas à présenter un jaunissement internervaire du limbe, qui prend la forme d'un « V ». Progressivement, les tissus foliaires se nécrosent et se dessèchent dans la partie centrale des décolorations. Au fur et à mesure de la progression de la maladie, plusieurs folioles et feuilles montrent des symptômes comparables. Une coupe longitudinale dans la tige permet de constater

que les vaisseaux sont plus ou moins bruns, les brunissements vasculaires sont observés (Figure 1.3) (38).

L'obstruction des vaisseaux provoque des flétrissements rapides. Chez les légumes, deux familles de champignons sont en cause : les fusarioses et la verticilliose. Pour cette dernière, le coupable est *Verticillium dahliae*, qui s'en prend surtout aux solanaceae : tomates, aubergines et parfois poivrons. La verticilliose peut aussi s'attaquer aux artichauts et aux melons. (33)

Les symptômes sont variables selon les plantes-hôtes. Les plus caractéristiques chez toutes les espèces sensibles sont une chlorose foliaire précoce suivie de nécrose (Figure 1.3), puis par la chute prématurée des feuilles atteintes, ainsi que la décoloration vasculaire des tiges et des racines (Figure 1.4).



Figure 1. 3. Brunissement de racines et des tiges atteintes par le *Verticillium dahliae* (38)

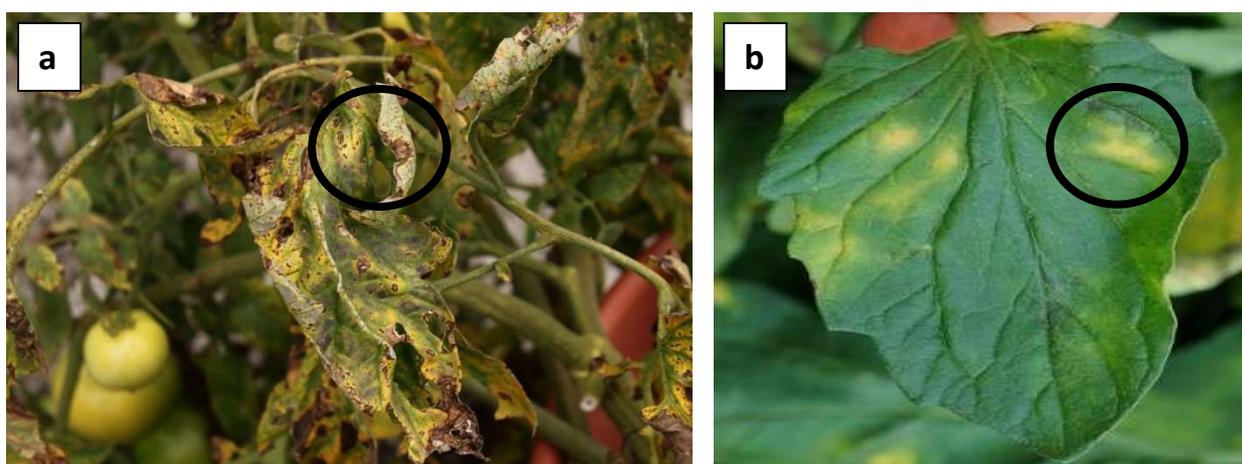


Figure 1. 4 Brulure (a) et jaunissement (b) des feuilles de tomate atteintes par le *Verticillium dahliae* (38)

#### **1.5.4. Biologie du *Verticillium dahliae***

##### **- Cycle biologique**

Le cycle biologique du *V.dahliae* se déroule en deux phases **(24)**, une phase saprophytique comprenant une période d'activité ,et une phase parasitaire qui se déroule dans la plante hôte.

Pendant la phase saprophytique, le champignon pérennise sous sa forme de micro sclérote plus de 14ans dans le sol aux dépens des débris végétaux et matériaux organiques **(39),(40)**.C'est ainsi qu'il se dissémine par le mouvement des sols infectés, des débris végétaux infectés ,de l'eau d'irrigation, l'équipement agricole, le vent, les insectes telluriques ,prédateurs, pollinisateurs **(26)**.Il résiste bien au froid qu' à la chaleur et supporte des écarts thermiques allant de 30°C à 55°C **(41)**.Le saprophyte s'active et redevient agressif au rétablissement de bonnes conditions de température et d'humidité du sol. La phase parasitaire du champignon se débute par la germination de microsclérotés en réponse aux exsudats racinaires de la plante hôte. Il en résulte une émission des hyphes qui colonisent le cortex des racines s'y introduit par l'extrémité ou par les cellules épidermiques **(42)** et puis gagne via la sève les vaisseaux du xylème ; infection primaire **(37)**; **(43)** (figure 1.4). Le parasite se reproduit asexuellement dans les vaisseaux à l'intérieur desquels il progresse, grâce au transport de conidies par le flux de la sève ascendante aux pièces aériennes de la plante **(43)** où elles constituent des foyers secondaires d'infection. La poursuite ainsi de l'infection du systèmes vasculaire et les toxines émises par le parasite font que la plante produise des dépôts gommeuses qui obstruent les vaisseaux conducteurs y entravant ainsi le transport d'eau **(26)** et donc des symptômes de flétrissement se déclenchent sur les parties aériennes atteintes **(44)**, **(45)** (Figure 1.5)

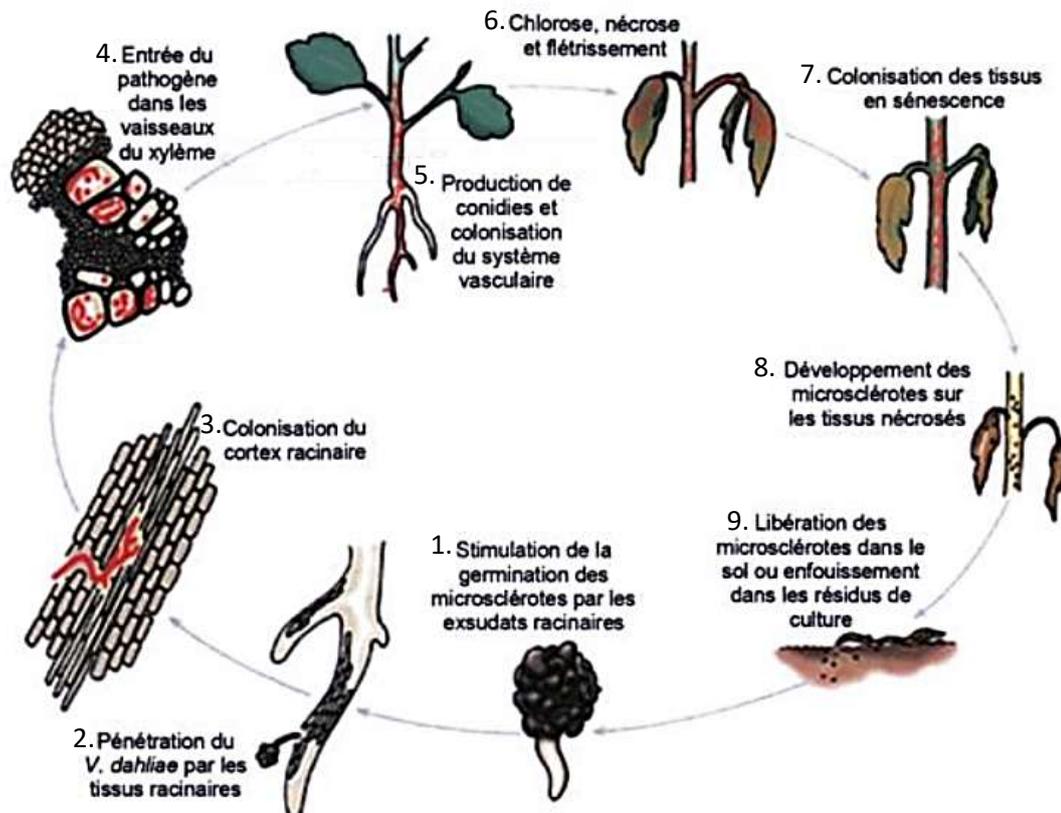


Figure 1. 5 Cycle de développement de *Verticillium dahliae* Kleb (46).

- Facteurs influençant la biologie du *Verticillium dahliae*

La croissance et la fructification du *Verticillium* sur les racines sont étroitement liées aux conditions de température et d'humidité (47). Sa croissance in vitro dépend du pH qui doit être acide et de la composition du milieu de culture (48). Lorsque le microsclérote entre en contact avec les racines d'une plante hôte et lorsque les conditions sont favorables (température avoisinant 20°C et sol humide), il germe et produit le mycélium qui se propage dans la plante. *Verticillium dahliae* produit ensuite de nouveaux microsclérotés dans les parties contaminées de la plante. Lorsque celle-ci meurt et se décompose, ces nouveaux microsclérotés sont relâchés dans le sol.

### - **Autres facteurs possibles de contamination**

les excréments d'animaux ayant consommé des plantes malades, la diffusion des semences de plantes malades, la présence de « mauvaises herbes » hôtes (chénopodes, plantains, amarantes, séneçons), les nématodes et pucerons (vecteurs). Le *Verticillium* se développe sur un sol hydromorphe, irrigation, humidité régulière, température douce 20-30 °C (49).

### **I.5.5. Moyens de lutte**

#### - **Lutte chimique**

En pratique la lutte chimique constitue et de loin le type de méthode le plus utilisé pour la gestion de la verticilliose (50),(51). Elle se fait par stérilisation du sol à l'aide de fumigants chimiques (le bromure méthylique) (11), (35) ou l'utilisation des fongicides systémiques (méthyl thiophanate, thiabendazole, bénomyl et carbendazime) (52), (53); (54). Ce recours aux produits chimiques, toujours valables dans certaines situations, engendrent cependant des coûts élevés et des impacts sur l'environnement (55). Actuellement aucun traitement curatif n'a prouvé son efficacité (56). *In vivo*, le compost utilisé comme amendement du sol réduit le rabougrissement et l'altération foliaire des plants de tomate inoculés par *V. dahliae*. La correction du sol avec le compost a permis l'inhibition de la pénétration et de la colonisation des tissus vasculaires des plants de tomate par *V. dahliae* (56).

#### - **Lutte biologique**

La lutte biologique peut offrir de nombreuses méthodes de lutte alternative aux traitements chimiques (57). Ce moyen de lutte met en œuvre différents organismes vivants appelés auxiliaires ou leur produits pour prévenir ou réduire les dégâts. Il s'agit d'utiliser surtout les microorganismes tels que *Pseudomonas sp* et *Bacillus sp* (58), *Streptomyces plicatus*, *Frankia sp.* (Bonjar et Aghighi, 2005), *Serratia plymuthica* (58). Ce moyen de lutte a malheureusement dévoilé un succès limité contre la verticilliose (59).

#### - Variétés résistantes

Pour les tomates, en dernier recours la solution de renoncer aux variétés anciennes et d'utiliser des variétés tolérantes. Pour les aubergines, l'utilisation de plants greffés sur tomates permet à la fois d'augmenter vigueur et productivité tout en résistant beaucoup mieux à la verticilliose (60).

#### **I.5.6. Importance économique de la Verticilliose dans le monde et en Algérie**

De toutes les espèces du genre *Verticillium*, *V. dahliae* est la plus néfaste à cause de son large spectre d'hôtes et de la persistance de ces microsclerotia. Dans le monde, la verticilliose est la maladie la plus destructrice en ce qui concerne les cultures de tomate et la deuxième en ce qui concerne la pomme de terre. Les cultures les plus touchées en termes de pertes annuelles sont de loin la tomate et la pomme de terre avec une perte annuelle mondiale estimée à plus de 700 millions d'euros (Tableau 1.1) (61).

**Tableau 1. 1 : Pertes économiques causées par la Verticilliose (61).**

Plante hôte	Production annuelle globale (moyenne 2005*2010)		Perte estimée		Perte maximale
	Million de Tonnes	Million de dollars	Million de Tonnes	Million de dollars	%
Tomate	140.95	71.07	1.41	<b>710.72</b>	70
Pommes de terre	326.02	70.7	3.26	<b>707.03</b>	50
Coton	23.52	35.47	0.24	<b>354,72</b>	30
Colza	54.98	20.65	0.55	<b>206.53</b>	50
Pastèque	95.62	21.16	0.96	<b>211.61</b>	
Olivier	17.7	21.05	0.18	<b>210.46</b>	75
Piments et poivrons	27.65	17.88	0.28	<b>178.77</b>	20
Concombre	55.53	17.26	0.56	<b>172.6</b>	ND
Choux	64.66	16.89	0.65	<b>168.93</b>	ND
Laitue	23.56	13.95	0.24	<b>139.47</b>	100
Tabac	6.69	12.48	0,07	<b>124.78</b>	30
Aubergine	38.32	12.22	0.38	<b>122.15</b>	70
Tournesol	31.7	10.33	0.32	<b>103.3</b>	55
Fraise	4.14	8.75	0.04	<b>87.48</b>	ND
Épinards	17.16	6.41	0.17	<b>64.1</b>	ND
Chou-fleur (et brocoli)	18.56	6.39	0.19	<b>63.93</b>	ND
Pistachier	0.73	3.26	0.01	<b>32.62</b>	ND
Avocat	3.73	3.01	0.04	<b>30.08</b>	ND
Lentilles	3.07	1.96	0.04	<b>19,61</b>	ND
Artichaut	1.44	1.15	0.01	<b>11.45</b>	ND
Houblon	0.13	586	0	<b>5.86</b>	100
Alfalfa	ND	ND	ND	<b>ND</b>	50

En Algérie, la *verticilliose* fut signalée pour la première fois par Boullinger (1970) (62) et par Subramoniam (1974) (63) sur les cultures de tomates. Ce n'est qu'en 1990 que la *verticilliose* de l'olivier n'a été signalée en Algérie par Benchaabane (1990) (64) et plus par Matallah et *al.* (1996) (65), puis Bellahcene et *al.* (1997, 1998, 2000). (66), (67), (68).

En Algérie, *la verticilliose* est considérée comme un sérieux problème pour les cultures maraichères et surtout pour la tomate, pomme de terre car les dégâts occasionnés sont énormes **(68)**, **(4)**.

## **I.6. Effets de l'azote, du potassium, et du magnésium sur le développement de différentes maladies des cultures**

### **- Azote**

L'azote a été intensivement étudié dans la relation "nutrition de l'hôte-sévérité de la maladie" depuis plusieurs années **(5)**. L'azote présente différents effets selon la culture et l'agent pathogène étudié

En outre, d'autres études effectuées sur l'azote ont montré qu'une concentration élevée d'azote (450 ppm) n'a pas significativement augmenté la maladie de chancre (*Clavibacter michiganense*) chez la tomate comparativement à une concentration de 240 ppm d'azote (Berry *et al*, 1988). Duffy et Défago (1999) **(69)** ont montré que la maladie du pourridié fusarien (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*) chez la tomate Augmente suite à l'augmentation de la concentration d'ammonium [NH<sub>4</sub>Cl ; (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> ; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>04</sub>]. Elle a par ailleurs été réduite par une application du nitrate de calcium et de petites concentrations de nitrate d'ammonium (39 à 79 mg d'azote/l). Cependant, des concentrations supérieures à 100 mg d'azote/l ont augmenté la sévérité de cette maladie. Hoffland *et al.* (2000) **(70)** ont montré que l'augmentation de la concentration d'azote appliqué diminue la sévérité de la moisissure grise causée par *Botrytis cinerea* chez la tomate. Par contre, l'azote n'a pas eu d'effet sur le flétrissement fusarien causé par *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici* chez la tomate alors que l'augmentation de la concentration d'azote a favorisé l'augmentation de la moucheture (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) et du blanc (*Oïdium lycopersicum*) chez la tomate **(70)**. Nam *et al.* (2006) **(71)** ont montré que des concentrations élevées d'azote dans la solution nutritive ont augmenté la sévérité de l'anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) chez une culture de fraisier en système hydroponique fermé.

## - Potassium

Sanogo et Yang (2001) (72) ont montré que la nutrition potassique a un effet sur le syndrome de la mort subite du soya [ *F. solani* f. sp. *glycines* Fsgy.] L'application du chlorure de potassium a favorisé une réduction moyenne de 36 % de la sévérité de la maladie comparativement au traitement témoin. Par contre, la sévérité de la maladie a connu une augmentation moyenne de 32 % avec l'application du phosphate de potassium, de 43 % avec le sulfate de potassium et de 45 % avec le nitrate de potassium. La germination in vitro des conidies du *Fsg* n'a pas été affectée de façon significative par les éléments nutritifs potassiques; par contre la croissance mycélienne a été favorisée sur milieu de culture amendé de nitrate de potassium (72).

## - Magnésium

Selon Wisniewski *et al.* (1995) (73), le chlorure de magnésium (25-175 mM) n'a pas eu d'effet sur la germination et la croissance du tube germinatif in vitro de *B. cinerea* et de *P. expansum*. La fertilisation avec du chlorure de magnésium a augmenté le flétrissement fusarien causé par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* chez la tomate (9) et par *F. oxysporum* f. sp. *apii* chez le céleri (73). Selon Duffy et Défago (1999), le sulfate de magnésium n'a pas eu d'effet sur le pourridié fusarien (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*) chez la tomate. Taylor (1954) (74) a montré que la susceptibilité du maïs à la brûlure des feuilles (*Helminthosporium maydis*) diminue lorsque le niveau de magnésium augmente dans les tissus foliaires.

## **I.7. Influence des facteurs abiotiques sur la croissance, la sporulation et la pathogénicité des agents pathogènes telluriques**

### - Influence du pH

Le pH est un paramètre de grande importance pour le développement et la croissance du champignon *V. dahliae*. Il intervient surtout au niveau de la croissance mycélienne (83).

Des résultats similaires ont été obtenus chez l'espèce *V. dahliae* par Ligoixigakis *et al.* (2002) (83) et Yildiz *et al.*, (2009) (84) qui ont montré que la croissance optimale chez le *V. dahliae* se situe à pH 4. Par contre Goud *et al.* (2003) (85) ont rapporté que les deux espèces de *Verticillium* (*V. Dahliae* et *V. tricorpus*) peuvent se

développer à un PH allant de 5 à 7, dont l'optimum est obtenu à PH 5 pour *V. dahliae* et à PH 6 pour *V.tricorpus*.

#### - Influence de la température

Roberts et Davidson (1986) (86) ont rapporté que des isolats appartenant au genre *Verticillium* n'ont montré aucune croissance lorsqu'ils ont été incubés à 30°C. Selon Nonnecke (1989) (87), La température maximale de croissance chez les espèces de *Verticillium dahliae* se situe au tour de 27°C. Bhat et al. (2003) (88) ont comparé une gamme de température sur la croissance des isolats de *V. dahliae* obtenus à partir du poivron, piment et tomate. Ces auteurs ont constaté que la température a une grande influence sur la croissance et le développement du pathogène et que l'optimum est obtenu à des températures variant entre 20 à 25° C.

Dans une étude menée en Iran par Sanei et al. (2008) (59), ces derniers ont rapportés que les taux de croissance de *V. dahliae* dépendent de la température, dont l'optimale situe entre 25 et 27°C.

D'autres études menées par Bejarano-Alcazar et al. (1996) (26) mentionnent que *V. dahliae* présente une croissance optimale entre 24 et 27°C et peut croître et infecter son hôte à 30°C.

Shittu et (2010) a montré que *V. albo-atrum* se développe généralement entre 20 et 25°C, alors que *V. dahliae* nécessite des températures beaucoup plus élevées (entre 25 à 28°C) (89).

#### - Influence de la lumière

Dans la nature, il est souvent difficile de cerner l'effet propre de la lumière et de l'obscurité sur le développement des espèces fongique. Par contre sur milieu gélose, la lumière et surtout l'obscurité sont deux facteurs extrêmement importants pour la sporulation et la croissance mycélienne du champignon (90).

#### - Influence du NaCl

Plusieurs travaux ont rapporté que l'augmentation de la salinité du milieu favorise la croissance et la conservation de *Verticillium dahliae* et de *Fusarium oxysporum* fsp *lycopersici*, principaux agents des trachéomycoses au Maroc (91), (92).

Ces deux agents vasculaires tolèrent des potentiels osmotiques extrêmement bas, alors que la salinité excessive peut être toxique pour d'autres champignons du sol. De même, la réduction du potentiel osmotique à des valeurs comprises entre  $-2$  et  $-20$  bars stimule la croissance mycélienne et la sporulation de *Verticillium dahliae*, mais la production des organes de résistance est moins sensible à la baisse du potentiel osmotique (93).

Ducan & Himelik (1986) (94) ont montré que lorsqu'on cultive artificiellement *Verticillium dahliae* sous un potentiel de pression négative de  $-0.039$  MPa, la production de conidies augmente de 800% par rapport au témoin non traité. L'influence de la salinité sur la germination des conidies de quelques isolats de *Verticillium lecanii* a été étudiée par Chandler et al. (1994) (95). Selon ces auteurs, le pouvoir germinatif diminue avec la baisse du potentiel osmotique. Un seul isolat de *V. lecanii* a été sélectionné pour sa rapide germination après 12 heures à  $-2.8$  MPa. L'effet de la salinité a été étudié sur d'autres champignons pathogènes. C'est le cas des *Phytophthora* Spp. L'augmentation de la salinité du milieu favorise la croissance mycélienne in vitro de *Phytophthora citrophthora* et *P. parasitica*, agents de la pourriture racinaire des agrumes, avec un optimum situé entre  $-1.44$  et  $-3.11$  bars. Benyahya, (1998) (96)

Au-delà de cet intervalle, les activités biologiques régressent et la production de sporanges est complètement inhibée. D'autres espèces du même genre tolèrent des valeurs du potentiel osmotique beaucoup plus basses, comme *Phytophthora cinnamomi* qui montre une croissance optimale à  $-15$  bars, alors que pour *P. megasperma*, la croissance diminue avec la baisse du potentiel osmotique (97). Les travaux de Swiecki & Mac Donald (1991) rapportent que la formation des sporanges de *Phytophthora parasitica* est plus importante en présence de concentrations modérées de NaCl et de CaCl<sub>2</sub> par rapport aux témoins sans sel (98).

### **1.8. Influence des facteurs abiotiques sur l'activité biologique des agents pathogènes telluriques**

Lorsque le *verticillium dahliae* entre dans la plante hôte, la première ligne de défense qu'il rencontre est la paroi cellulaire, celle-ci est composée de trois

polysaccharides : Cellulose, Hémicellulose, matières pectiques et d'autres composés (Schäfer, W.1994) **(75)**.

Les champignons phytopathogènes sont connus pour produire une large gamme d'enzymes extracellulaires essentielles à l'infection qui dégradent la paroi cellulaire en facilitant la pénétration et en libérant des composés solubles utilisés comme nutriments pour soutenir la croissance fongique **(76)**.

La cellulase est une enzyme qui dégrade la paroi cellulaire, complexe, composée de trois types d'enzymes avec une activité variable dans l'hydrolyse de la chaîne de la cellulose :

- exo- $\beta$ -1,4- glucanases divisent les liaisons  $\beta$ -1,4- glycosidiques à la fin non réductrice de la molécule de cellulose pour donner une cellobiose
- endo- $\beta$ -1,4-glucanases attaquent les liaisons glycosidiques internes
- $\beta$ -1,4- glucosidases coupent les cello-oligosaccharides en glucose

Tous les trois des classes d'enzymes sont nécessaires pour la dépolymérisation complète de la cellulose **(77)**. Ils peuvent être sécrétés dans le milieu situé au niveau intercellulaire ou lié à la paroi cellulaire avec une action synergique se déroulant entre les trois. La cellulose hydrolysée est généralement un processus lent en raison de la nature cristalline des polymères.

Les enzymes produits par des champignons phytopathogènes, dégradant la paroi cellulaire sont considérés comme facteurs de pathogénicité importants.

Le rôle des enzymes cellulolytiques dans la détermination de l'agressivité des isolats de *Verticillium* a fait l'objet de plusieurs études **(78), (79), (80), (81), (18)**

Mussel (1973), **(78)** a montré qu'il y a une corrélation positive entre l'activité enzymatique des isolats de *Verticillium* et leur agressivité vis-à-vis du coton. Dans le même sens, Witney *et al.*, (1972) **(82)** ont déduit que la carboxyméthylcellulase est d'autant produite par *Verticillium albo-atrum* que l'infection de la luzerne est forte.

Les facteurs abiotiques ont une grande influence sur le pouvoir pathogène des champignons telluriques ; ainsi *Sclerotium rolfsii* et *Rhizoctonia solani*, deux champignons du sol pathogènes sur la betterave, voient leur aptitude à dégrader les parois cellulaires de leur hôte perturbée par le sel *in vitro*. Chez *S. rolfsii*, l'activité

enzymatique augmente avec l'augmentation de la salinité du milieu, alors que celle de *R. solani* diminue **(82)**.

L'activité enzymatique de *Verticillium* peut être également perturbée à la suite d'un stress autre que la salinité. Ainsi, l'activité caséine kinase de *Verticillium dahliae*, parasite du coton, peut disparaître sous l'effet d'un choc thermique **(82)**.

### **I.9. Exsudation racinaire**

L'exsudation est définie comme la libération de composés solubles de faible poids moléculaire **(99)**. Au niveau de la rhizosphère, les racines libèrent beaucoup de matières organiques sous forme de mucilage, plus de 40% des produits de photosynthèse passent dans le système racinaire **(100)**.

Les exsudats représentent la partie la plus importante des substances libérées par les racines, surtout dans la région apicale. C'est également celle la plus métabolisée par les microorganismes. Ils sont généralement composés de sucres, d'acides aminés, de facteurs de croissance, de vitamines, d'enzymes et d'acides organiques. Ils représentent une source nutritionnelle pour la microflore rhizosphérique, et qui agissent soit en stimulant ou en inhibant certaines espèces (effet rhizosphérique) **(101)**. Cet « effet rhizosphère » est donc un processus dynamique résultant d'interactions entre la plante hôte, le sol, les microorganismes telluriques et certaines conditions abiotiques du milieu (climat, pratiques culturales, ...) **(101)**

Le sol rhizosphérique est notamment caractérisé par une flore fongique et bactérienne très spécifique **(102)**. À l'origine de cela, les abondants exsudats racinaires émis par les plantes, dont on différencie les rhizodépôts -formés de composés organiques issus du métabolisme primaire et exsudés en quantité appréciable (sucres, acides aminés...) des autres nombreuses molécules issues du métabolisme secondaires, exsudées en quantité souvent infinitésimale. Ces molécules exsudées constituent un vecteur de dialogue moléculaire entre la plante et les organismes de la rhizosphère

### **I.10. Rôle des exsudats racinaires dans les étapes précoces des interactions racinaires–microorganismes telluriques**

Dans le sol, la plupart des champignons phytopathogènes ne persistent généralement pas sous forme mycélienne active, mais à l'état passif sous forme d'organes adaptés à la conservation tels que des sclérotés, des chlamydospores ou des oospores. Ce phénomène, dénommé fongistase, est lié à la présence dans le sol de substances inhibitrices de la germination des organes fongiques ou au manque de substrats nutritifs indispensables au développement des champignons**(103)**.

Cette levée de fongistase se produit en particulier au voisinage des parties souterraines des plantes. Dans cette zone, les champignons phytopathogènes entrent en activité et, s'ils se trouvent en présence de plantes avec lesquelles ils ne peuvent pas établir de relations durables, ils sont détruits ou entrent à nouveau sous forme de conservation. Par contre, s'ils sont susceptibles de vivre aux dépens de ces plantes, ils poursuivent leur développement saprophytique puis parasitaire. C'est dans la rhizosphère que s'établit le premier contact entre le champignon pathogène et sa plante hôte ou plus exactement entre le champignon et la partie du milieu souterrain modifiée par la plante. C'est dans cette zone écologique particulière que se déclenchent les premiers processus qui peuvent aboutir à une maladie infectieuse **(103)**.

Toutes les racines des plantes exsudent des substances nutritives (sucres, acides aminés..) favorables à l'activité des champignons. La quantité et la nature de ces substances varient avec de nombreux facteurs : la température, le pH, l'aération et l'humidité du sol, les blessures racinaires, l'éclairage ou les traitements foliaires appliqués à la plante. **(104)**

La germination des organes de conservation du champignon ne se réalise pas seulement au contact direct de la racine, mais aussi à une courte distance dans la zone de sol modifiée par cette racine. Les champignons pathogènes dans le sol peuvent également attaquer les semences en cours de germination ou le collet des plantes **(104)** De nombreux travaux ont porté sur le rôle biologique des métabolites primaires et secondaires émis par les plantes **(102)**.

Les exsudats de racines d'arachide cultivar sensible favorisaient de manière significative la germination des spores, la sporulation et la croissance mycélienne des agents pathogènes du sol, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani*. **(15)**

Les exsudats de racines de l'arachide contiennent des sucres, des acides aminés et des acides phénoliques, leurs compositions et concentrations sont très différentes entre les cultivars sensibles et résistants. Les types et la teneur en exsudats racines pourraient être utilisés comme critères biochimiques importants pour prédire la résistance des cultivars d'arachides aux maladies fongiques transmises par le sol **(15)**. Il a été proposé que les exsudats de racines d'arachide soient probablement l'une des principales raisons de l'incidence plus élevée observée de maladies des arachides dans le système monoculture **(15)**.

# CHAPITRE II

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### PARTIE 1

#### ISOLEMENT ET CARACTÉRISATION CULTURALE ET PATHOGÉNIQUE DE *Verticillium dahliae*

##### 1. Échantillonnage du matériel végétal

Les prospections sur terrain ont été réalisées pendant la période allant d'Avril 2016 à Juillet 2018.

Le tableau 2.1 indique les stations retenues qui représentent de manière globale les principales régions à vocation horticole.

Les prélèvements ont été effectués sur un matériel végétal constitué de plants flétris. Un total de cinq cent soixante-deux (562) échantillons a été collecté. Chaque échantillon est mis dans un sac en papier étiqueter, portant toutes les informations le concernant, puis conservé dans le réfrigérateur à 4°C, en attendant les analyses au laboratoire. Lors des sorties sur terrain 103 isolats causants le flétrissement vasculaire ont été obtenus, seulement 37 ont été identifiés comme *Verticillium dahliae* on se basant sur les travaux de Cirulli et al. (2010) (185). Ainsi sur la base des *Vegetative Compatibility Groups* (VCG)

**Tableau 2. 1. Origine des isolats de *Verticillium dahliae***

<b>Isolat</b>	<b>Wilaya</b>	<b>Localité</b>	<b>Culture</b>	<b>Précédent Cultural</b>
V18	Alger	ITCMI	Poivron	Poivron
V19	Alger	ITCMI	Aubergine	Aubergine
V33	Alger	ITCMI	Aubergine	Aubergine
V34	Alger	ITCMI	Aubergine	Aubergine
V37	Alger	ITCMI	Tomate	Tomate
V9	Annaba		Aubergine	Artichaut
V17	Annaba		Poivron	Laitue
V21	Annaba		Tomate	Tomate
V24	Annaba		Poivron	Poivron
V1	Blida	Kolea	Aubergine	Aubergine
V7	Blida	Bouinen	Aubergine	Aubergine
V12	Blida	Soumaa	Tomate	Tomate
V13	Blida	Kolea	Tomate	Tomate
V30	Blida	Soumaa	Poivron	Poivron
V3	Guelma	Oued cheham	Aubergine	Poivron
V5	Guelma	Oued znati	Aubergine	Aubergine
V10	Guelma	Oued cheham	Poivron	Tomate
V25	Guelma	Oued znati	Poivron	Poivron
V26	Guelma	Oued cheham	Tomate	Tomate
V29	Guelma	Oued znati	Tomate	Laitue
V36	Guelma		Tomate	Poivron
V14	Souk Ahras	Madaourouch	Aubergine	Pomme de terre
V20	Souk Ahras	Madaourouch	Tomate	Poivron
V28	Souk Ahras	Madaourouch	Tomate	<i>ND*</i>
V31	Souk Ahras	Madaourouch	Poivron	Pomme de terre
V6	Taref	Zitouna	Tomate	Tomate
V32	Taref	Sidi Kaci	Poivron	Artichaut
V35	Taref	Matrouha	Poivron	Artichaut
V11	Tebessa	Hammamet	Tomate	Tomate
V23	Tebessa	Hammamet	Poivron	Artichaut
V4	Tlemcen		Aubergine	<i>ND*</i>
V8	Tlemcen		Tomate	<i>ND*</i>
V15	Tlemcen		Aubergine	Aubergine
V16	Tlemcen		Aubergine	Laitue
V27	Tlemcen		Tomate	Tomate
V2	Tiaret		Tomate	Poivron
V22	Tiaret		Poivron	Tomate

*\*ND : Non déterminé*

## 2. Isolement à partir du matériel végétal

L'isolement de *Verticillium dahliae* est effectué au niveau du collet des tiges malades présentant un brunissement vasculaire, symptôme typique de la Verticilliose (106) La technique utilisée est celle décrite par **Rappily** (1968) (90). Elle consiste à éliminer les couches externes du matériel végétal, le laver soigneusement à l'eau courante et le découper horizontalement en fragments au niveau du xylème. Les fragments ainsi obtenus sont trempés dans l'hypochlorite de sodium à 5%, pendant deux à trois minutes, puis rincés trois fois successives à l'eau distillée stérile. Après leur séchage sur du papier filtre stérile, les fragments sont déposés à raison de 05 par boîte de Petri sur le milieu PDAS (Annexe 1), la face interne contre ce dernier. Les boîtes sont ensuite incubées à 25 °C à l'obscurité, pendant 05 à 06 jours.

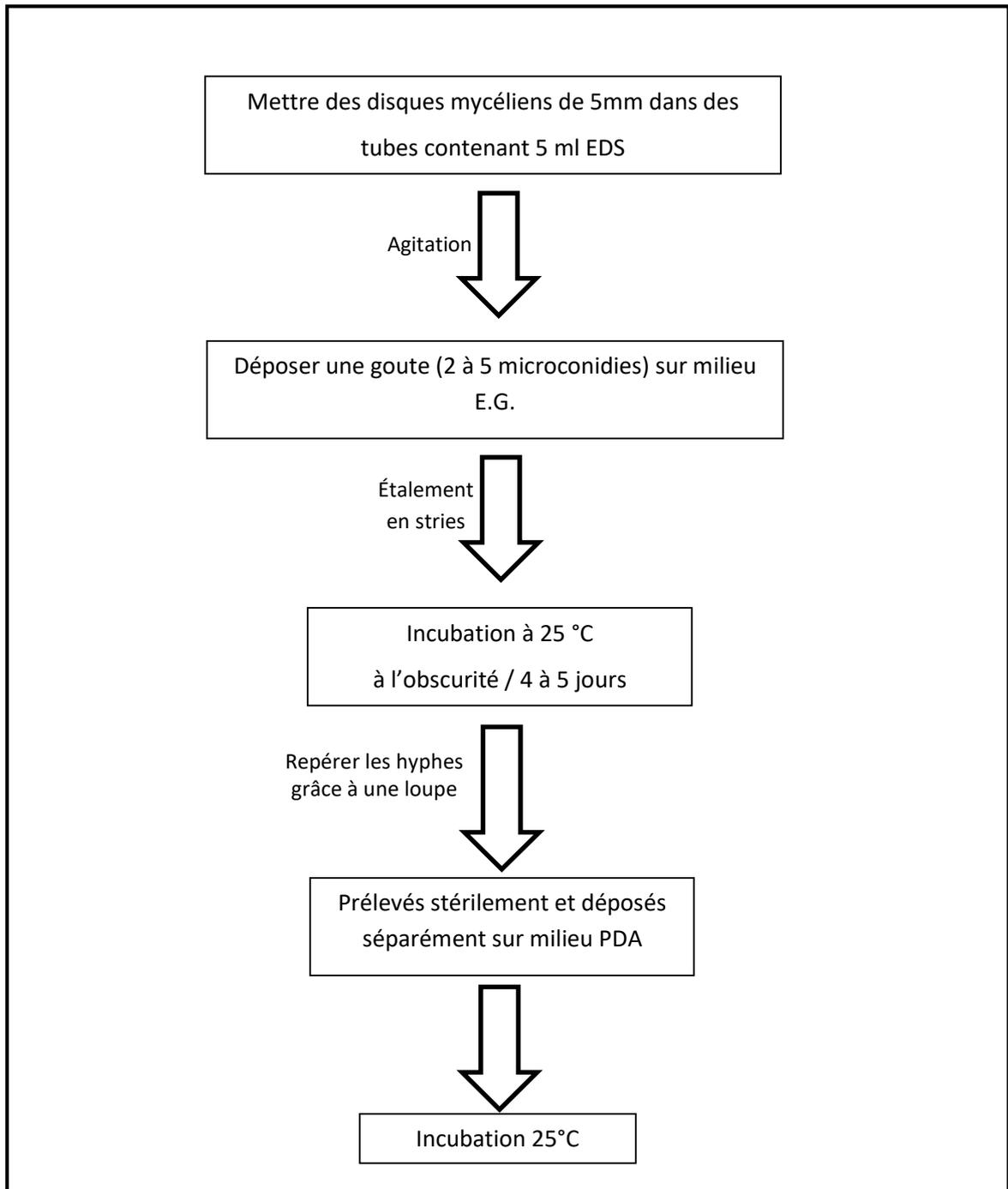
## 3. Obtention des isolats fongiques

À partir des isollements primaires, des explants fongiques ont été prélevés de la zone périphérique des colonies fongiques et repiqués aseptiquement sur un milieu PDAS en boîtes de Petri. Les cultures sont de nouveau incubées à 25 °C comme précédemment. Des repiquages successifs se poursuivent jusqu'à l'obtention d'une culture pure (107). On procède à l'obtention de souches issues de culture monospore (Figure 2.1)

La technique de culture monospore utilisée est celle décrite par **Booth** (1971) (108). Elle consiste à mettre des disques mycéliens de 5mm dans des tubes contenant 5 ml d'eau distillée stérile pour obtenir une suspension sporale. Après agitation, une goutte de cette suspension contenant généralement de 2 à 5 microconidies ajustée à l'aide de la cellule de Malassez est déposée, à l'aide d'une pipette Pasteur, sur la surface d'une couche fine d'eau gélosée (Annexe 1) en boîte Petri, puis étalée en stries à l'aide d'une anse. Ce milieu ne contient pas de substances nutritives ce qui limite l'émergence des saprophytes qui pourraient se développer au détriment du pathogène recherché.

Après 4 à 5 jours d'incubation à 25 °C à l'obscurité, les hyphes issus de la germination d'une microconidie unique sont d'abord repérés à l'aide de la loupe binoculaire au fort grossissement puis prélevés stérilement et déposés séparément

sur milieu PDA (Annexe 1) en boîte de Pétri. Après incubation, 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 l'isolat de départ **(109)**



**Figure 2. 1. Obtention des souches de *Verticillium dahliae* par culture de spores**

#### 4. Identification des isolats

Les souches mono-sporales obtenues ont été identifiées grâce la clé de détermination de Rieuf, (1985) **(110)**, Watanabe (1937) **(111)** et sous la supervision du Professeur ARMENGOL FORTI Josep du laboratoire nationale d'identification des champignons pathogènes de L'Université Polytechnique de Valence (Espagne). L'identification porte sur les caractères macrascopiques (aspect du thalle, couleur..) et microscopique (phialides verticillées, présence de microsclérotés, mycélium hyalin, présence de microconidies)

#### 5. Détermination des Compatibilités Végétatives (VCGs)

##### a. Principe

Deux isolats d'un champignon pathogène sont végétativement compatibles lorsque leurs filaments sont capables de fusionner. La réunion de deux noyaux différents dans une même cellule (hétérocaryose) permet la complémentation réciproque de déficiences nutritionnelles portées par chacun des noyaux et éventuellement l'échange de matériel génétique par parasexualité. Chez un Champignon Imparfait comme *Verticillium dahliae*, la compatibilité végétative entre deux isolats d'origines différentes traduit une relative proximité génétique. L'incompatibilité est en revanche témoin d'un certain isolement génétique.

L'étude a porté sur les 37 souches de provenance différente mentionnées dans le tableau 2.1. Les isolats sont préalablement clonés par isolement monospore: La possibilité pour deux clones de s'anastomoser a été testée par la technique mise au point par **Puhalla (1983) (112)** modifiée par **Correll et al. (1987) (113)**. Elle consiste à croiser, sur milieu Crapek Dox (Annexe 1) à base de nitrate **(113)**, des mutants auxotrophes spontanés complémentaires incapables d'assimiler l'azote minéral sous forme de nitrate. Ces mutants sont de trois sortes **(113)** :

- Nit 1 : Mutant pour le gène de structure de la nitrate réductase
- Nit 3 : Mutant pour un gène de régulation de la nitrate et de la nitrite réductase

- Nit M : mutant pour un des gènes codant pour la synthèse d'un cofacteur à molybdène agissant dans le fonctionnement de la nitrate réductase et de la xanthine-déshydrogénase.

Les croisements sont réalisés entre un mutant Nit 1 et un mutant Nit M de la même souche (vérification de l'autocompatibilité) ou de deux souches différentes.

Les croisements Nit 1 x Nit M ont été retenus parce que le taux de réussite est plus élevé que dans les croisements Nit 1 x Nit 3 ou Nit 3 x Nit M **(113)**.

L'anastomose et la complémentation se manifestent par la formation, 7 à 10 jours après l'ensemencement dans la zone de confrontation, d'un mycélium aérien dense et abondant (alors que le mycélium des souches mutantes est ras et très dispersé sur le milieu minimum). Les deux souches croisées sont alors considérées comme appartenant au même groupe de compatibilité.

#### **b. Recherche et identification des mutants pour l'assimilation de l'azote minéral**

Chaque souche cultivée initialement sur milieu PDA a été repiqué sur milieu Czapek-Dox (Annexe 1) **(112)**, additionné de 15 g/L de chlorate de potassium **(113)**, par étalement de spores dans cinq boîtes de Pétri, et par bouturage de cinq fragments mycéliens dans deux autres boîtes de Pétri. Après cinq jours d'incubation à 25°C, à 80% d'humidité et à l'obscurité, des secteurs mycéliens et des thalles commencent à se développer; ce sont des mutants résistants au chlorate (MCR).

#### **c. Identification des résistants au chlorate pour l'assimilation de l'azote minéral**

Pour chaque mutant, trois boutures prélevées côte à côte sont déposées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu minimum avec, comme source d'azote, soit le nitrate, soit le nitrite, soit l'hypoxanthine **(113)**. Après cinq jours d'incubation dans les conditions citées ci-dessus, les mutants ont été caractérisés selon qu'ils croient ou non sur les différents milieux et dénommés Nit 1, Nit 3, et Nit M, comme indiqué au Tableau 2.2.

Les mutants Nit M, ont été utilisés systématiquement dans les croisements car ils complémentent régulièrement avec les mutants Nit 3, et surtout Nit 1 **(113)**. Les

différents mutants de chaque clone sont conservés sur le milieu minimum contenant 0,6 g/l d'asparagine (114).

**Tableau 2. 2. Caractérisation des différents types de mutants résistant au chlorate par leur déficience pour l'assimilation de l'azote sous forme de nitrate, de nitrite ou d'hypoxanthine.**

Mutant \ Source d'azote	Nitrate	Nitrite	Hypoxanthine
Nit 1	+	++	++
Nit 3	+	+	++
Nit M	+	++	+
MCR	++	++	++

++ : Mycélium aérien épais et dense

+ : Mycélium rasant très lâche

MCR : Mutant chlorate résistant capable d'utiliser les nitrates

Nit 1 : Mutant pour le gène de structure de la nitrate réductase

Nit 3 : Mutant pour un gène de régulation de la nitrate et de la nitrite réductase

Nit M : mutant pour un des gènes codant pour la synthèse d'un cofacteur à molybdène agissant dans le fonctionnement de la nitrate réductase et de la xanthine-déshydrogénase.

La technique des groupes végétatifs compatibles (VCG) a été également utilisée pour l'identification des 37 isolats en les confrontant à une souche de référence de *Verticillium dahliae* (VD124) fournie par le Laboratoire d'identification des Champignons pathogènes de l'Université Polytechnique de Valence (Espagne).

L'abondance relative est calculée pour chaque région selon la formule :

$$Abondance \% = \frac{n}{N} \times 100$$

n: effectif du groupe VCG (2B ou 4A) dans une région

N : Effectif totale des groupes VCG (2B et 4A) dans une région

## 6. Recherche du pouvoir pathogène de *Verticillium dahliae*

### 6.1. Préparation de l'inoculum fongique

L'inoculum fongique a été préparé selon la méthode de **Rouhani** (1979) **(115)** à partir des cultures monospore âgées de 15 jours, en boîte de pétri sur milieu PDA.

La surface de la colonie est inondée par 10 ml d'eau distillée stérile puis détachée du milieu de culture par un léger grattage à l'aide d'une pipette pasteur. La suspension mycélienne est ensuite filtrée à travers 4 couches de mousseline pour éliminer les débris du mycélium et du milieu et obtenir une suspension sporale.

Après agitation de la suspension sporale à l'aide d'un vortex, la concentration en conidies est estimée à l'aide de la cellule Malassez et ajustée à  $10^6$  conidies/ml.

Cette concentration de l'inoculum est suffisante pour reproduire les symptômes observés au champ **(116), (117), (118), (119), (120)**.

Selon Boisson et Lahlou (1983), ce mode d'obtention de l'inoculum permet d'éviter d'éventuelles variations morphologiques, phénomène bien connu chez *Verticillium dahliae*

La recherche du pouvoir pathogène des 37 isolats de *Verticillium dahliae* a été faite sur trois plantes sensibles à la Verticilliose (Tomate, Aubergine et Poivron)

### 6.2. Obtention des plants

Les graines des trois plantes tests (aubergine (*Solanum melongena* L.), du poivron (*Capsicum annuum*) et de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) sont désinfectées pendant trois minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% afin d'éliminer toute source de contamination superficielle puis rincées à l'eau distillée stérile et séchées avec du papier filtre stérile. Un mélange de tourbe et de sol (50/50 : v/v) a été stérilisé trois fois à l'autoclave pendant 20 min à 120 °C, à 24 heures d'intervalle, puis laissé à température ambiante pendant une journée **(121), (122), (120) (Figure 2.2)**. Les plantules de tomates aubergines et poivrons sont transplantées dans des pots en plastiques (7\*4,7\*8,3 cm) contenant chacun 150 cm<sup>3</sup> de mélange de sol et de tourbe stérile. Il est signalé, que seuls les plants ayant des tailles identiques sont choisis pour la suite de l'expérimentation. (Figure 2.3)



**Figure 2. 2. Mise en culture des graines (A) et croissance des plantules de Tomate (B) d'aubergine et du poivron (C)**



**Figure 2. 3. Transplantation des plantes tests**

### **6.3. Inoculation de *Verticillium dahliae***

Les plantules de tomate, aubergine et poivron au stade deux feuilles, sont inoculées par la méthode décrite par Ramualde (1992) (123), Boukenadel (2001) (124) et Harir (2010) (120).

Les plantules sont délicatement retirés de leurs pots puis leurs systèmes racinaires est lavés par l'eau du robinet et trempé pendant 30 min dans l'inoculum fongique fraîchement préparé ( $10^6$  UFC / ml). Les racines des plantules témoins sont trempées uniquement dans de l'eau distillée stérile.

Les plantules sont maintenues dans une serre à une température qui ne dépasse pas 27 C° avec 45% d'humidité tout au long de la période de suivi. Ils sont arrosés deux fois par jour avec de l'eau du robinet jusqu'à dépérissement totale.

## 7. Évaluation de la virulence des isolats de *Verticillium dahliae*

### 7.1. Indice de rabougrissement

Cet indice (I.R) représente la réduction de la croissance des plants inoculés par rapport aux plants témoins. Il est déterminé par la mesure de la différence entre l'allongement des plants inoculés et celui des plants témoins. Cet indice est calculé chaque trois jour après l'inoculation des plants selon la formule rapporté par Boukenadel (2001) (124) :

$$I.R = \frac{(T - X)}{T} \times 100$$

I.R : indice de rabougrissement d'un plant inoculé ; T : taille moyenne des plants témoins ; X: taille moyenne des plants inoculés.

### 7.2. Évolution temporelle du flétrissement :

#### 7.2.1. Pourcentage des feuilles flétris (PWL)

Le pourcentage de plants flétris (**Percentage of Wilted Leafs**) à la date  $t_k$  nous permet d'évaluer l'incidence de la maladie à cette même date et son évolution au cours du temps représenté par la courbe *PWL* :  $f(t_k)$  (125)

$$PWL (\%) = \frac{\text{Nombre de feuilles flétris à la date } t}{\text{Nombre de feuilles total}} \times 100$$

#### 7.2.2. Area Under Disease Progression Curve (AUDPC)

Afin d'avoir une représentation quantitative de l'évolution temporelle du flétrissement, l'AUDPC a été calculé (**Area Under Disease Progression Curve**). Il représente l'air en dessous de la courbe d'évolution du flétrissement *i.e.* l'incidence de la maladie en fonction du temps.

Cette valeur permet donc de regrouper les valeurs observées au cours de l'évolution d'une maladie en une seule donnée en se basant sur le pourcentage des feuilles flétris (PWL) **(124)**, **(125)**

$$\text{AUDPC} (t_k) = \sum_{i=1}^{k-1} (\text{PWL}_{L_i} + \text{PWL}_{L_{i+1}}) \times \frac{(t_{i+1} - t_i)}{2}$$

## **8. Caractérisation culturelle de *Verticillium dahliae***

Pour évaluer l'effet du pH, du NaCl et des éléments minéraux sur la croissance et le développement du *Verticillium dahliae*, deux isolats ont été choisis pour effectuer la caractérisation. Ces isolats sont V36 et V11. Le choix de ces deux isolats c'est porté sur les résultats des tests de pathogénicité et des groupes végétatifs compatibles (VCG) où on note que ces derniers représentent les deux groupes de *Verticillium dahliae* agressif et moins agressif.

L'étude des effets du pH, NaCl et des éléments minéraux c'est traduite par le calculs de la croissance diamétrale, la croissance pondérale, la sporulation, la germination des spores, l'activité enzymatique endo- $\beta$ -1,4-glucanase,  $\beta$ -1,4-glucosidase et enfin la teneur en protéines produites par les deux isolats V11 et V36 et les deux souches de références. Il est a noté que l'étude de l'activité enzymatique et de la croissance de *Verticillium dahliae* en présences des éléments minéraux s'est effectué sur milieux Czapek-Dox (Annexe 1)

### **8.1. Effet du potentiel d'hydrogène du milieu de culture**

Les deux isolats de *Verticillium dahliae* (V36 et V11) sont repiqués dans des boîtes de Pétri sur le milieu PDAS ajusté à différents pH (4 - 6,8 - 9). Chaque pH est ajusté avec HCl (1N) ou NaOH (1N) à l'aide d'un pH mètre, avant autoclavage. Les cultures sont ensuite incubées à 25°C pendant 14 jours.

### **8.2. Effet des ions du chlorure de sodium**

Les isolats V36 et V11 sont repiqué dans des boîtes de Pétri sur le milieu PDA additionné de différentes dose en NaCl (0 – 4 – 8 – 10 g/l). Les isolats sont ensuite incubés à 25°C dans l'obscurité.

### 8.3. Effet des éléments minéraux sur le développement et la croissance de *Verticillium dahliae*

Les isolats V36 et V11 et les souches de références VCG 2B et 4A ont été cultivés au préalable en boîte de Petri sur le milieu développé par Singh (1968) (126). Ensuite les isolats sont repiqués sur le milieu Czapek-Dox modifié pour l'expérimentation. Les concentrations et les sources de minéraux testées sont respectivement présentées dans les Tableaux 2.3 et 2.4.

Les différentes géloses ont été inoculées avec une pastille (0,7cm de diamètre) de PDA portant le mycélium de *Verticillium dahliae* (V11 / V36) en croissance active et incubées à l'obscurité à 25°C pour une période de huit semaines. Cette période est retenue car elle correspond à celle où les isolats colonisent les boîtes témoins à 100%

**Tableau 2. 3 : Concentrations des différentes sources d'azote, de potassium et de magnésium retenu (127)**

Élément minéral	Concentration (ppm)		
	C0	C1	C2
Azote	0	0,33	3,5
Potassium	0	0,71	7,11
Magnésium	0	0,05	1

**Tableau 2. 4: Sources d'éléments minéraux testées**

<b>Éléments minéraux</b>	<b>Sources</b>
<b>Azote</b>	NH <sub>4</sub> Cl (Laboratoire Mat)
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (Laboratoire Mat)
<b>Potassium</b>	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Sigma Chemical Co.)
<b>Magnésium</b>	MgCl <sub>2</sub> -2H <sub>2</sub> O (Sigma Chemical Co.)

#### **8.4. Détermination de la croissance diamétrale mycélienne**

La croissance mycélienne (CM) a été évaluée après 14j d'incubation en mesurant la surface de gélose couverte par le mycélium. Elle a été fait grâce au logiciel Digimizer ® Version 4 pour Windows®, permettant des mesures calibrées à partir des diverses photos prise lors de l'expérimentation par un appareil photo Canon 1200D. La croissance mycélienne a été calculée selon la formule préconisée par (127) et exprimée en cm<sup>2</sup>. Cette formule est destinée à évaluer la surface du thalle mycélien a été retenue car elle tient compte de la forme elliptique du thalle.

$$CM = S_{mycélium} - S_{pastille}$$

$$S_{mycélium} = \text{Surface totale du mycélium (cm}^2\text{)} = \frac{1}{2}C \times \frac{1}{2}L \times \pi$$

$$S_{pastille} = \text{Surface de la pastille (cm}^2\text{)} = (r_{pastille}^2 \times \pi) = 0,38465$$

C: diamètre court du thalle mycélien (cm)

L: diamètre long du thalle mycélien (cm)

#### **8.5. Détermination de la croissance pondérale**

Pour évaluer le poids des isolats V11 et V36 de *Verticillium dahliae*, le champignon a été incubé dans un milieu liquide Czapek-dox (**Annexe 1**) (25ml, dans des erlenmeyer de 100ml) où le glucose a été remplacé par du carboxymethylcellulose (CMC) a 0,5% (poids /volume) dont la composition et la concentration en azote, phosphore, magnésium varient selon l'expérimentation (Tableau 2.3 et 2.4), puis mis dans une chambre de culture dans l'obscurité sous agitation de 190 rpm à 25 °C. (128). Sept répétitions ont été effectuées pour chaque

concentration y compris le témoin (champignon inoculé dans un milieu Czapek-dox de base) **(128)**

Les cultures ont été incubées pendant 2 semaines sous agitation et les échantillons ont été collectés à la fin de l'expérimentation. Le mycélium a été séparé du milieu par filtration sous vide avec en utilisant une membrane millipore de 22 µm de diamètre. Le mycélium obtenu à partir du milieu a été séché à 80°C et pesé. Les résultats obtenus sont reportés en milligramme de matière sèche (mg MS) **(128)**

#### **8.6. Détermination du nombre de conidies produites (sporulation)**

La sporulation, ou le dénombrement des conidies produites a été effectué après la période de culture 14j des isolats soumis à différents facteurs. Les conidies ont été récupérées avec 2ml d'eau distillée stérile par grattage du mycélium à l'aide d'une pipette pasteur stérile courbée sous forme de bâton de hockey. La suspension conidienne a été récupérée dans un tube stérile, ensuite 3ml d'eau distillée stérile ont été ajoutées dans le tube. Suite à une agitation de la suspension au vortex, les conidies ont été dénombrées à l'aide de la cellule de Malassez. La sporulation conidienne a été exprimée en nombre de conidies par unité de surface mycélienne (conidies/cm<sup>2</sup>) **(127)**.

#### **8.7. Détermination du nombre de conidies viables (germination)**

La suspension conidienne ainsi obtenue a été étalée sur un milieu de culture solide (PDA) pour dénombrer le nombre d'unités formatrices de colonies (UFC). Ainsi, après agitation au vortex, 100 µl, de la suspension ont été prélevés et étalés sur le milieu PDA. Le dénombrement des UFC a été effectué quatre Jours après l'étalement par comptage des colonies mycéliennes visibles à l'œil nu. Le nombre de conidies viables a été exprimé en UFC par millilitre (UFC/ml) **(127)**. Le pourcentage de viabilité des conidies nous permet d'avoir une idée précise sur le pouvoir infectieux de *Verticillium dahliae* il a été calculé comme suit :

$$\text{Viabilité conidienne \%} = \frac{NCV}{NCP} \times 100$$

NCV : nombre de conidies viables ; NCP : nombre de conidies produites

## 9. Évaluation de l'activité enzymatique de *Verticillium dahliae*

**9.1. L'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase** a été mesurée par une augmentation du nombre de groupes réducteurs résultants de la libération de glucose par le CMC en utilisant les réactifs à l'arsénomolybdate de cuivre de Nelson, modifiés par Somogy (129).

Le mélange réactionnel contient 1,0ml de CMC à 1,5% dans 0,5ml de tampon acétate (pH 4,8) et 0,5ml d'échantillon. L'absorbance a été déterminée par spectrophotométrie à 540nm. Une courbe étalon de Glucose de concentration allant de 0 à 5  $\mu$ M a été établie (Annexe 2). L'unité d'activité est définie comme la quantité d'enzyme libérant 1  $\mu$ mol /min de sucre réducteur exprimé en équivalent glucose (129).

**9.2. L'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase** a été déterminée en mesurant le taux de p-nitrophenyle libéré à partir de p-nitrophenil- $\beta$ -D-glucopyranoside. Le mélange réactionnel standard consistait en 1ml du milieu CzDM (Annexe 1), 1,8ml de tampon acétate 0,1M (pH 4,8) et 0,2ml d'échantillon (130).

Après une incubation de 30 minutes à 50°C, la réaction a été arrêtée avec un tampon à la tricine 0,4M (pH 10,8) et l'absorbance a été déterminée par spectrophotométrie à 420nm. Une courbe étalon de p-nitrophenyle de concentration allant de 0 à 250  $\mu$ M a été établie (Annexe 2). L'unité d'activité est définie comme la quantité d'enzyme qui libère 1 $\mu$ mol/min de p-nitrophényle (130).

### 9.3. Dosage de protéines libérées dans le milieu

- **Principe**

La concentration totale en protéines contenu dans les échantillons, est déterminée par la technique mise au point par Bradford (1976) (131). Cette technique utilise du bleu de Coomassie qui a la propriété de s'adsorber sur les protéines de manière non spécifique et indépendamment de leur séquence. Cette adsorption s'accompagne d'une modification du spectre d'absorption de la molécule qui décale vers le bleu. L'intensité de la coloration sera fonction du nombre de liaisons peptidiques par gramme de protéines et non de la masse molaire de protéines

- **Méthode**

Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote de l'échantillon (100µl). Cette fraction est additionnée à la solution de Bradford (4ml) représentée par sa composition en Annexe 1. Le mélange est agité, puis mis au repos pendant 5 minutes pour stabiliser le complexe coloré formé. Ce complexe est la conséquence de la réaction du bleu brillant de Coomassie (BBC) G250 avec les protéines.

La mesure effective des protéines est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre dans le visible à une longueur d'onde de 595 nm. À cette longueur d'onde le blanc (Eau distillée) et les échantillons de protéines sont lus alternativement pour s'assurer de l'absence d'interférences liées au solvant eau.

Une gamme étalon est réalisée à partir d'une solution de sérum albumine bovine (SAB) (Sigma-Aldrich) pour un domaine de concentration compris entre 0 et 0,8 g/l (Annexe 2). À partir de cette courbe d'étalonnage, on détermine systématiquement par extrapolation toutes les solutions inconnues en protéines exprimées en mg ou g/L.

## **10. Analyse statistique des données**

L'analyse statistique des résultats obtenus a été réalisée par le logiciel SPSS© version 20.0.0 pour Windows™.

Les expériences ont été répétées cinq fois et les résultats montrent les mêmes tendances.

- Le test MANOVA a été réalisée au seuil de 5% afin d'apprécier l'effet de la source des éléments minéraux et leurs concentration, le pH et le NaCl sur les différents paramètres étudiés (Croissance diamétrale, sporulation, germination conidienne, activité biologique) (Annexe 3)
- La corrélation de *Pearson* a été étudiée entre la concentration des éléments et la croissance fongique au seuil 1%. Et ainsi entre le nombre de conidie produite et viable selon la concentration (Annexe 3)

## PARTIE 2

### EXTENSION LINÉAIRE DE *Verticillium dahliae* DANS LE SOL EN FONCTION DES EXSUDATS RACINAIRES DE L'AUBERGINE, DU POIVRON ET DE LA TOMATE

#### 11. Objectif

Le but est d'étudier l'effet des exsudats racinaires de l'aubergine (*Solanum melongena* L.), du poivron (*Capsicum annuum*) et de la tomate (*Solanum lycopersicum* L) prélevés à deux stades phénologiques (Stade nouaison et Stade fleurs épanouies) sur la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* Kleb. en ayant recours à un substrat préalablement cultivé et artificiellement contaminé en conditions contrôlées.

#### 12. Matériel végétal

Les graines d'aubergine, du poivron et de la tomate ont été obtenues auprès de la Station Expérimentale Agricole de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITCMI) de Staoueli - Alger. La germination et la mise en culture des plants ont suivi la méthodologie décrite dans la section 6.2 du présent chapitre.

#### 13. Choix du stade de prélèvement des exsudats racinaires

Pour déterminer le stade de prélèvement optimal pour les exsudats racinaires nous avons eu recours aux travaux d'Etang, (2012) (**132**). Nous avons choisie deux stades: Stade A (fleurs épanouis) et Stade B (Nouaison) auquel correspond la fourniture la plus abondante des exsudats racinaires et une bonne croissance de la plante (**132**).

#### 14. Extraction des exsudats racinaires

Les plantes sont dépotées et nettoyées soigneusement avec de l'eau distillée afin de les débarrasser des résidus de substrat. La perméabilisation des racines consiste à les plonger dans un erlenmeyer stérile de 250ml contenant 200 ml d'eau distillée stérile (Figure 2.4). La perméabilisation dure 24h h à l'obscurité et à 25°C. Les

erlenmeyer sont mis dans une chambre de culture sans photopériode à température ambiante (25°C) sous agitation (120 rpm) (Minh et *al.*, 2004). Après 24h, on récupère la suspension de chaque flacon, cette dernière est ensuite stérilisée à froid. Les flacons sont mis à l'abri de la lumière au réfrigérateur en attente d'être utilisé **(133)**. Cette étape a été réalisée aux deux stades phénologiques choisis.



**Figure 2. 4: Perméabilisation des racines sous agitation**

### **15. Teneur en sucres solubles totaux des exsudats**

Les oses sont stables en milieu acide. Cependant, chauffés en milieu acide concentré, ils donnent des furfurals par cyclisation et déshydratation. Les furfurals et leurs dérivés ont la propriété de se condenser avec le phénol pour former des complexes marron. Le dosage des sucres totaux solubles a été réalisé par la méthode de Dubois et *al.*, (1956) **(134)** (Figure 2.5)

- Dans une série de tubes à essai, 25 µl d'exsudats racinaires sont additionnés à 500 µl de phénol (5%) et à 1,5 ml de solution d'acide sulfurique concentrée (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 96%
- Le mélange est chauffé au bain marie à 100 °C pendant 5 min.
- Après refroidissement dans la glace fondante, la densité optique est mesurée à 490 nm. un blanc dans lequel 25 µl d'éthanol à 80 % remplace l'extrait brut a été utilisé.

- Un étalon a été construit grâce à une gamme (0 à 20  $\mu\text{g/ml}$ ) de concentration d'une solution de glucose. Les résultats des densités optiques ont été rapportés sur une courbe étalon des sucres solubles (exprimée en glucose). (Annexe 2)

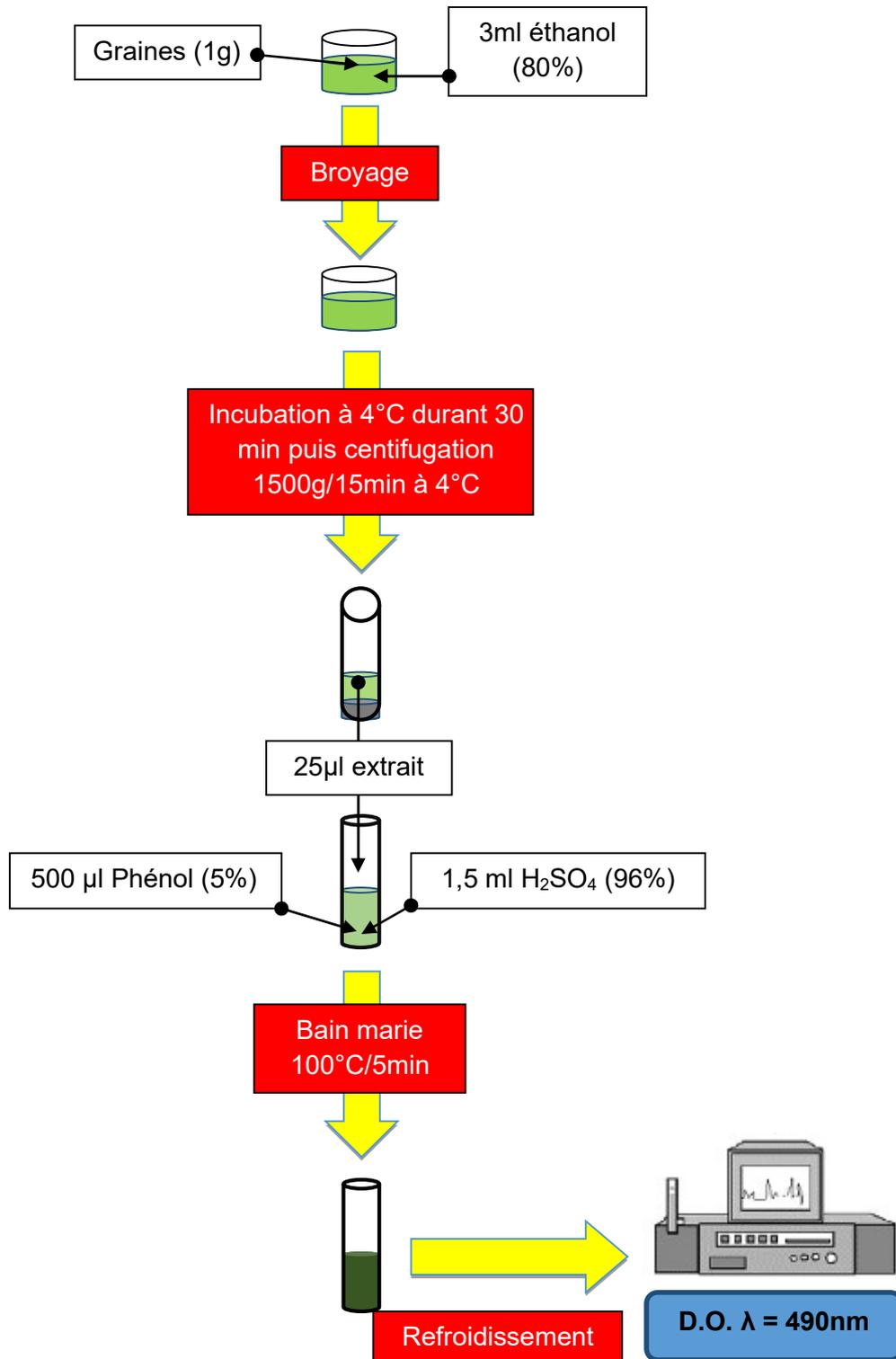


Figure 2. 5 : Dosage des sucres solubles totaux

- **Extraction**

Les échantillons ont été conservés en deçà de -15°C avant analyse. L'extraction a été réalisée selon la méthode décrite par Naidu (1998) **(135)** : 50mg d'échantillon ont été placés dans des tubes de centrifugation contenant 5ml d'un mélange (*méthanol : chloroforme : eau*) (60 : 25 : 15 ml). Les tubes scellés ont été chauffés au bain marie (60°C) durant 02 h et centrifugés à 5000 G pendant 10 mn. Le surnageant a servi ensuite aux dosages des acides aminés solubles et de la proline. (Figure 2.6)

- **Dosage**

Un (01) millilitre de solution tampon acide acétique /acétate de sodium (pH= 4,3) et 1ml de Ninhydrine (5% dans l'éthanol) ont été additionnés à 1ml de surnageant. Les échantillons ont été agités puis chauffés au bain marie (95°C) pendant 15mn. L'absorbance des essais a été déterminée à 570nm **(135)**.

Une courbe étalon a été réalisée à partir d'une solution mère de leucine à 5 mM préparée dans l'eau distillée pour des valeurs comprises entre 0 et 200 nmoles de leucine. Les résultats ont été exprimés en  $\mu$ moles d'équivalents leucine/g M.F. (Annexe 2)

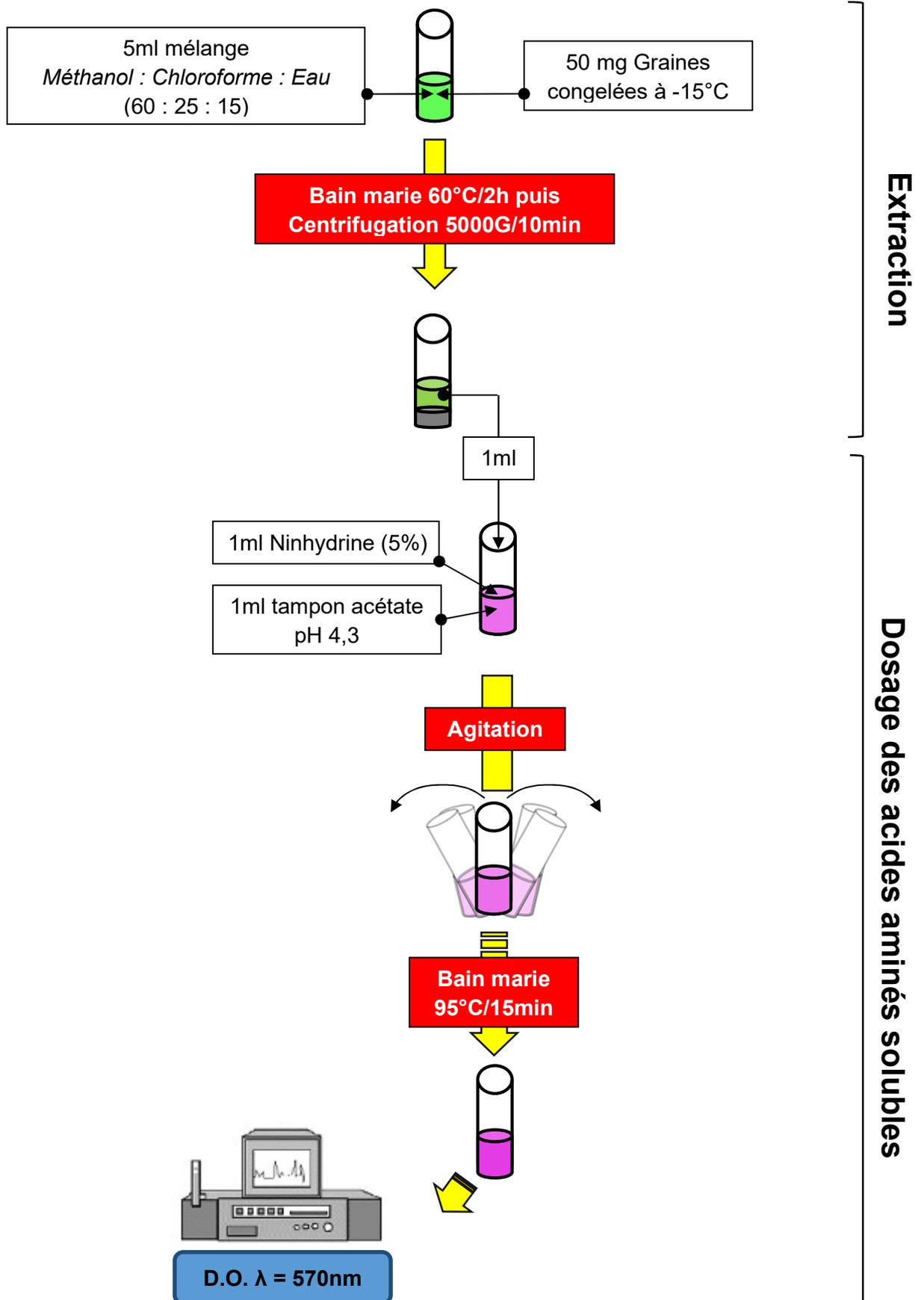


Figure 2. 6: Dosage des acides aminés solubles

## **16. Dosage des protéines par la méthode Bradford**

- **Principe**

La concentration totale en protéines contenu dans les échantillons d'exsudat, est déterminée par la technique mise au point par Bradford (1976) (131). (cf. 8.9)

## **17. Extension linéaire de *Verticillium dahliae***

### **17.1. Préparation de l'inoculum**

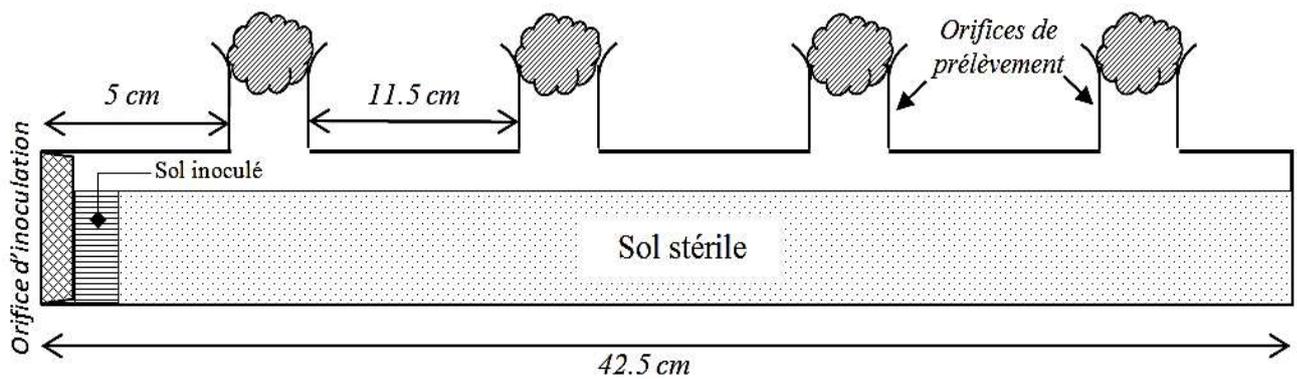
Deux isolats de *Verticillium dahliae* (V11 et V36) sont utilisés. Il est important de rappeler que les isolats sont différents par rapport à leur virulence et leurs origines

La suspension de spores est obtenue à partir d'une culture monosporale âgée de 15 jours sur milieu PDA. Sous une hotte à flux laminaire, la boîte de Petri est recouverte d'eau distillée stérile. Un râteau confectionné à partir d'une pipette Pasteur est utilisé pour racler doucement le mycélium afin de libérer les spores. La concentration en spores de la suspension est déterminée à l'aide d'une cellule de Malassez. Une dilution au 10<sup>ème</sup> est nécessaire pour un comptage correct. La suspension de spores est ajustée à 10<sup>6</sup> spores/ml avec de l'eau distillée stérile (136).

### **17.2. Description du dispositif (tube d'Evans)**

Le dispositif utilisé est le tube d'Evans qui est un tube en pyrex de 42,5 cm de long, portant 04 orifices de prélèvements et un orifice d'inoculation.

La distance entre le premier orifice de prélèvement et l'orifice d'inoculation est de 5 cm, et celle entre les orifices de prélèvement est de 11,5 cm. (Figure 2.7). Son usage pour l'étude de l'extension linéaire des champignons tellurique a été proposé par Rapilly 1968 (90)



**Figure 2. 7: Schéma représentatif du tube d'Evans**

### 17.3. Préparation du tube d'Evans

Les plantes sont dépotées, le sol est introduit dans le tube d'Evans. Les orifices du tube sont bouchés avec du coton et recouverts les avec du papier aluminium. La totalité du tube est également recouverte avec du papier aluminium. Le tout est autoclaver à 120°C / 20 min.

### 17.4. Inoculation des exsudats racinaires

En conditions axéniques, 5 ml de la solution d'exsudats racinaire stérile sont introduits par les orifices de prélèvement. Le tube est incubé 24h à l'étuve à 27°C avant inoculation de *Verticillium dahliae* (V11 et V36). Après incubation, 5 ml de la suspension fongique ( $10^6$  conidies/ ml) sont inoculés par l'orifice d'inoculation. Le tube est ainsi incubé à 27°C durant 7 jours (137).

### 17.5. Prélèvement des échantillons de sol

Après incubation et en conditions stériles, le 1<sup>er</sup> orifice de prélèvement est ouvert et 1 g du substrat est prélevé avec un emporte-pièce stérile. L'échantillon est mis dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile. On procède pareillement pour le 2eme, 3eme et le 4eme orifice de prélèvement (137).

### 17.6. Ré-isolement du champignon

Prélever 1 ml de la solution mère et la mettre dans une boîte de Petri contenant le milieu PDA. Les boîtes sont incubées à 27°C durant 7 jours. L'identification du *Verticillium dahliae* Kleb. isolé à partir du substrat inoculé.

### **17.7. Évaluation de la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae***

La vitesse de déplacement du des deux isolats de *Verticillium dahliae* Kleb. en fonctions de la qualité des exsudats racinaires est exprimée par la formule suivante :

$$La\ vitesse\ (cm/h) = \frac{Distance\ (cm)}{Temps\ (h)}$$

Cette étape vise à faire des prélèvements chaque 24h pour saisir la présence de champignon et de calculer le temps de son déplacement dans tous les orifices en fonction du stade de prélèvement des exsudats racinaires de l'aubergine du poivron et de la tomate.

### **18. Modélisation de l'extension linéaire de *Verticillium dahliae***

Nous avons opté pour une détermination in-silico de la formule de la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* en se basant sur les résultats obtenues et cela par une méthode de modélisation prévisionnelle (la régression linéaire simple) par le logiciel SPSS © Version 20.0.0 pour Windows <sup>TM</sup>

### **19. Analyse statistique des données**

L'analyse statistique des résultats obtenus a été réalisée par le logiciel SPSS© version 20.0.0 pour Windows<sup>TM</sup>. Les expériences ont été répétées cinq fois et les résultats montrent les mêmes tendances.

Une analyse de la variance (ANOVA) suivie d'un test de Tukey est réalisée pour voir l'existence de différences statistiquement significatives entre la vitesse du *Verticillium* dans le sol avec les Exsudats du stade A et du stade B des trois plantes tests.

Un test de Corrélation (la corrélation de Pearson): pour scorer l'association entre la vitesse, la teneur en Sucres Solubles Totaux et en Protéines.

Un test de Régression Linéaire simple a été réalisée dans le but est de Modéliser la vitesse de déplacement du champignon.

# CHAPITRE III

## RÉSULTATS

### PARTIE 1

#### Caractérisation culturale et pathogénique de *Verticillium dahliae*

##### 1. Isolement et identification

Après purification des isolats obtenus à partir des fragments de plantes présentant des symptômes de flétrissement, nous avons identifié, grâce la clé de détermination de Rieuf, P. (1985) l'ensemble des isolats présentant les symptômes typique de la verticilliose.

Un totale de 37 isolats a été identifié comme *Verticillium dahliae* en se basant sur les travaux Cirulli. et *al.*, (2010) (185). Ainsi sur la base des *Vegetative Compatibility Groups* (VCGs). Les isolats sont de couleur blanche sur milieu PDAS avec un début de mélanisation (Figure 3.1). D'un point de vue microscopique, les isolats présentent un mycélium verticillé hyalin produisant des microconidies et des microsclérotés (Figure 3.2)

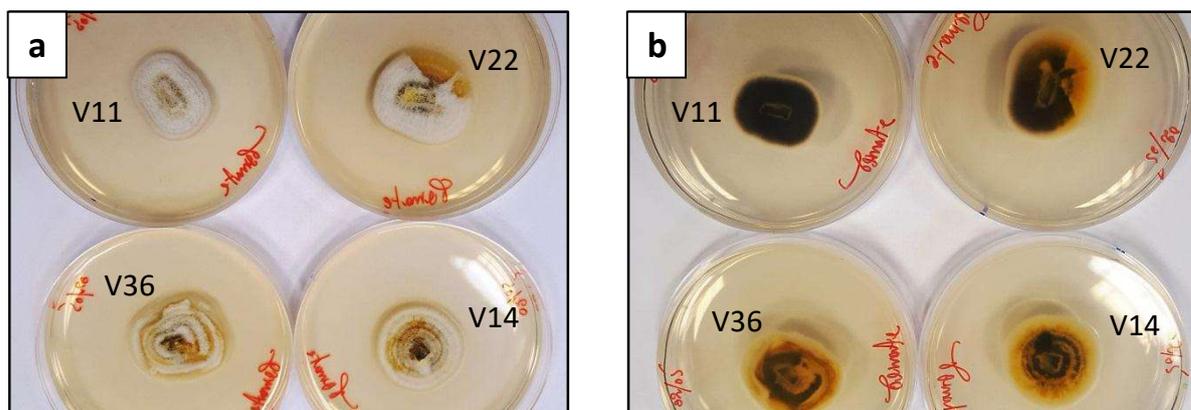
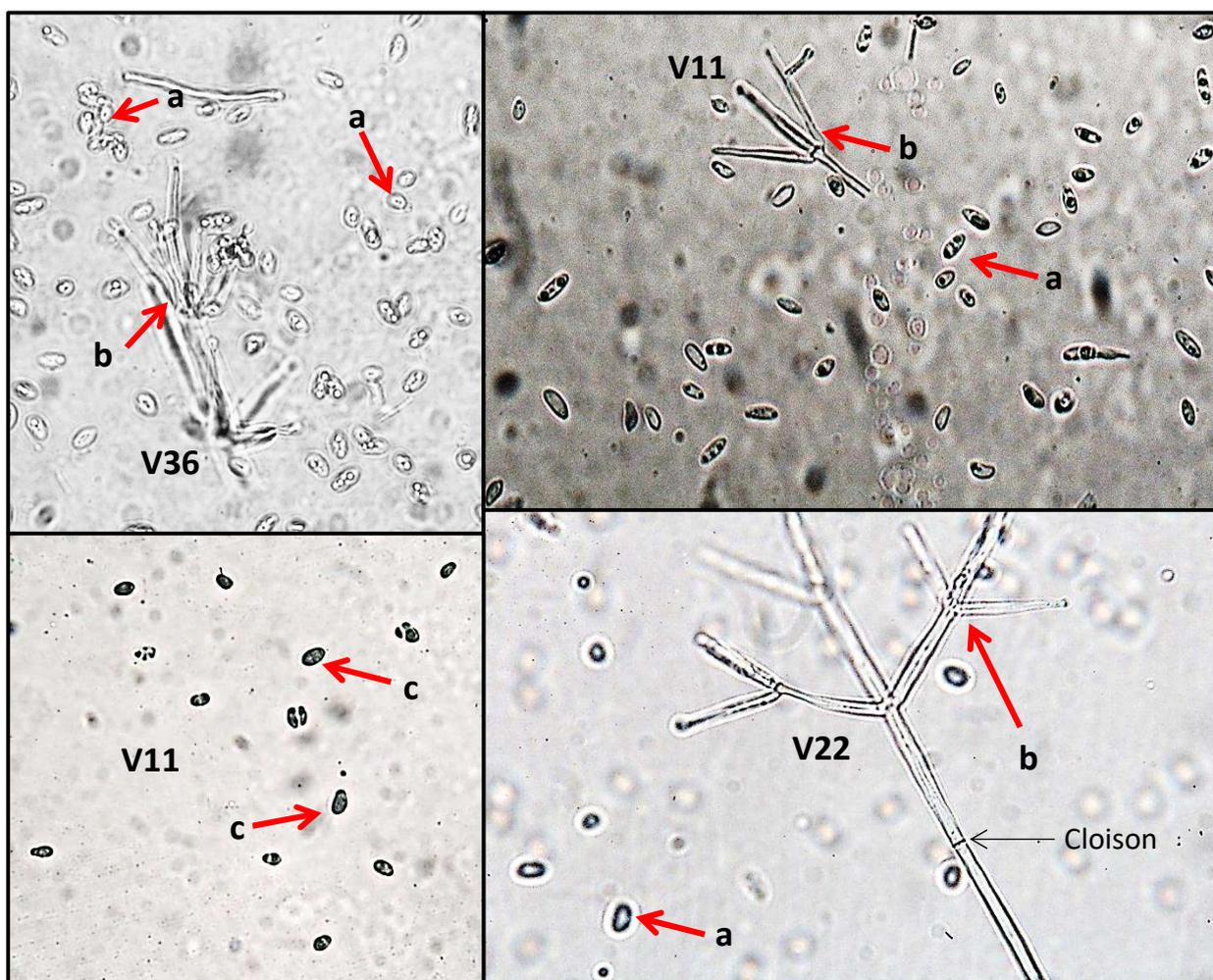


Figure 3. 1 : Aspect macroscopique de quelques isolats de *Verticillium dahliae* (V11, V22, V36 et V14) sur milieu PDAS (a : vue de face ; b : vue de dos)



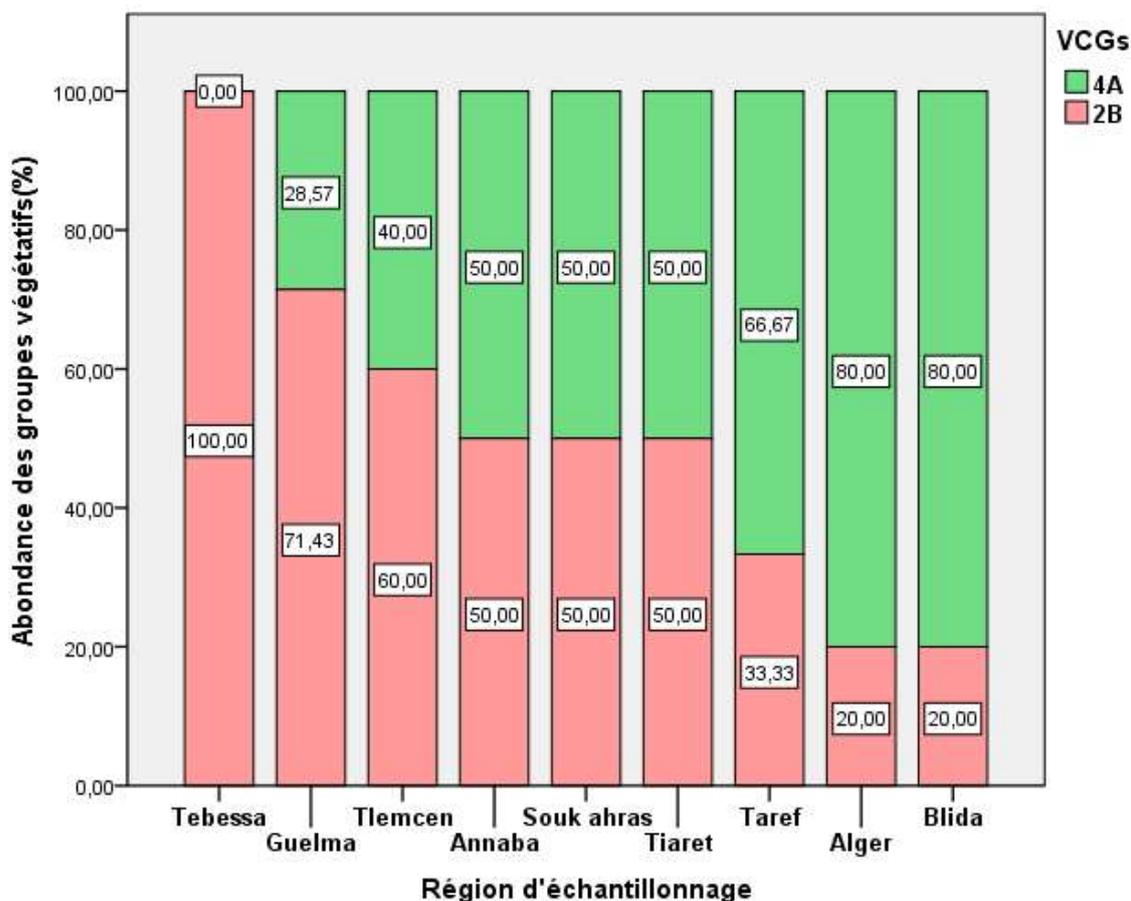
**Figure 3. 2 : Aspect microscopique (x500) de quelques isolats de *Verticillium dahliae* sur milieu PDAS (Microconidies (a) et conidiophore (b) des isolats V36, V11, V22 ; c : Microsclérotos de l'isolat V11).**

## **2. Détermination des compatibilités végétatives (VCG)**

Un total de 859 croisements a été effectué afin d'identifier et d'étudier la diversité de *Verticillium dahliae* isolé des différentes localités algériennes (Est, Ouest et Nord) (Annexe 4). L'analyse de la compatibilité végétative des isolats de *Verticillium dahliae* indique l'appartenance de ces derniers à deux groupes VCG 2B et VCG 4A.

Ces groupes sont déterminés grâce aux croisements des 37 isolats de *Verticillium dahliae* entre eux, d'une part, et avec quatre souches de référence appartenant aux groupes VCG 2A ; VCG 2B ; VCG 4A et VCG 4B, d'autre part.

En comparant les VCGs avec l'agressivité des isolats et en se référant aux résultats du test de pathogénicité (cf. III.3) on note que les isolats les plus agressifs sont ceux du groupe VCG 2B, tandis que le groupe VCG 4A représente les isolats les moins agressifs (Tableau 3.1).



**Figure 3. 3 : Abondance relative des groupes végétatifs de *Verticillium dahliae* en fonction des régions d'échantillonnage**

L'abondance relative des groupes végétatifs en fonction des régions d'échantillonnage est illustrée dans la figure 3.3. On note que le groupe 2B est présent à un taux de 100 % dans la région Tébéssa. Ce groupe végétatif (2B) est présent de manière majoritaire dans les régions de Guelma et Tlemcen (71,43 et 60 % respectivement). À Annaba et Souk ahras, les groupes 2B et 4A sont abondants avec des taux égaux (50%) ; tandis que le groupe 4A est majoritaire dans les régions d'el Taref, Alger et Blida (33,33 ; 20 et 20 % respectivement).

**Tableau 3. 1 : Compatibilité végétative des isolats de *Verticillium dahliae* et leurs diversités génétiques.**

<b>Isolats</b>	<b>Localité</b>	<b>Plante hôte</b>	<b>Agressivité</b>	<b>VCGs</b>
V1	Blida	Aubergine	+	<b>4A</b>
V2	Tiaret	Tomate	+	<b>4A</b>
V3	Guelma	Aubergine	++	<b>2B</b>
V4	Tlemcen	Aubergine	++	<b>2B</b>
V5	Guelma	Aubergine	++	<b>2B</b>
V6	Taref	Tomate	++	<b>2B</b>
V7	Blida	Aubergine	++	<b>2B</b>
V8	Tlemcen	Tomate	++	<b>2B</b>
V9	Annaba	Aubergine	+	<b>4A</b>
V10	Guelma	Poivron	+	<b>4A</b>
V11	Tebessa	Tomate	++	<b>2B</b>
V12	Blida	Tomate	+	<b>4A</b>
V13	Blida	Tomate	+	<b>4A</b>
V14	Souk Ahras	Aubergine	+	<b>4A</b>
V15	Tlemcen	Aubergine	+	<b>4A</b>
V16	Tlemcen	Aubergine	+	<b>4A</b>
V17	Annaba	Poivron	+	<b>4A</b>
V18	Alger	Poivron	+	<b>4A</b>
V19	Alger	Aubergine	+	<b>4A</b>
V20	Souk Ahras	Tomate	++	<b>2B</b>
V21	Annaba	Tomate	++	<b>2B</b>
V22	Tiaret	Poivron	++	<b>2B</b>
V23	Tebessa	Poivron	++	<b>2B</b>
V24	Annaba	Poivron	++	<b>2B</b>
V25	Guelma	Poivron	++	<b>2B</b>
V26	Guelma	Tomate	++	<b>2B</b>
V27	Tlemcen	Tomate	++	<b>2B</b>
V28	Souk Ahras	Tomate	++	<b>2B</b>
V29	Guelma	Tomate	++	<b>2B</b>
V30	Blida	Poivron	+	<b>4A</b>
V31	Souk Ahras	Poivron	+	<b>4A</b>
V32	Taref	Poivron	+	<b>4A</b>
V33	Alger	Aubergine	+	<b>4A</b>
V34	Alger	Aubergine	+	<b>4A</b>
V35	Taref	Poivron	+	<b>4A</b>
V36	Guelma	Tomate	+	<b>4A</b>
V37	Alger	Tomate	++	<b>2B</b>

+ : moins agressif

++ : Plus agressif

### 3. Évolution temporelle du flétrissement

L'AUDPC (*Area Under Disease Progression Curve*) représente l'aire en dessous de la courbe de flétrissement : incidence de la maladie en fonction du temps. Cette valeur permet donc de regrouper les valeurs observées au cours de l'évolution d'une maladie, le cas échéant le flétrissement fongique, en une seule donnée. (Figure 3.4)



Figure 3. 4: Évaluation quantitative de la pathogénicité des isolats de *Verticillium dahliae* envers le poivron, l'aubergine et la tomate.

L'inoculation par les 37 isolats de *Verticillium dahliae* du poivron, de l'aubergine et de la tomate produit des valeurs de l'AUDPC qui diffèrent d'une plante test à une autre.

En effet chez le poivron la valeur maximale de l'AUDPC enregistré est celle du lot inoculé par les isolats V6 ; V8 ; V3 et V11 allant de 471,3 à 491,1. Les isolats V32 et V34 provoquent des AUDPC de l'ordre de 85,7 et 94,2 respectivement, ce qui est considéré comme étant les valeurs minimales.

Les Isolats V4 ; V6 et V8 sont plus agressifs à la culture d'aubergine avec des AUDPC allant de 525,06 à 545,43 tandis que les isolats V33 ; V36 ; V31 et V34 sont les moins agressif (125,73 > AUDPC > 173,51).

La culture de tomate semble la plus sensible à la Verticilliose. En effet les isolats de *Verticillium dahliae* provoquent des AUDPC élevés par rapport au Poivron et à l'Aubergine. On note que l'isolat V11 est le plus agressif avec une valeur de 620,3 suivie par les isolats V4 et V8 (597 et 598,7). V36 est l'isolat le moins agressif à la culture (142,1).

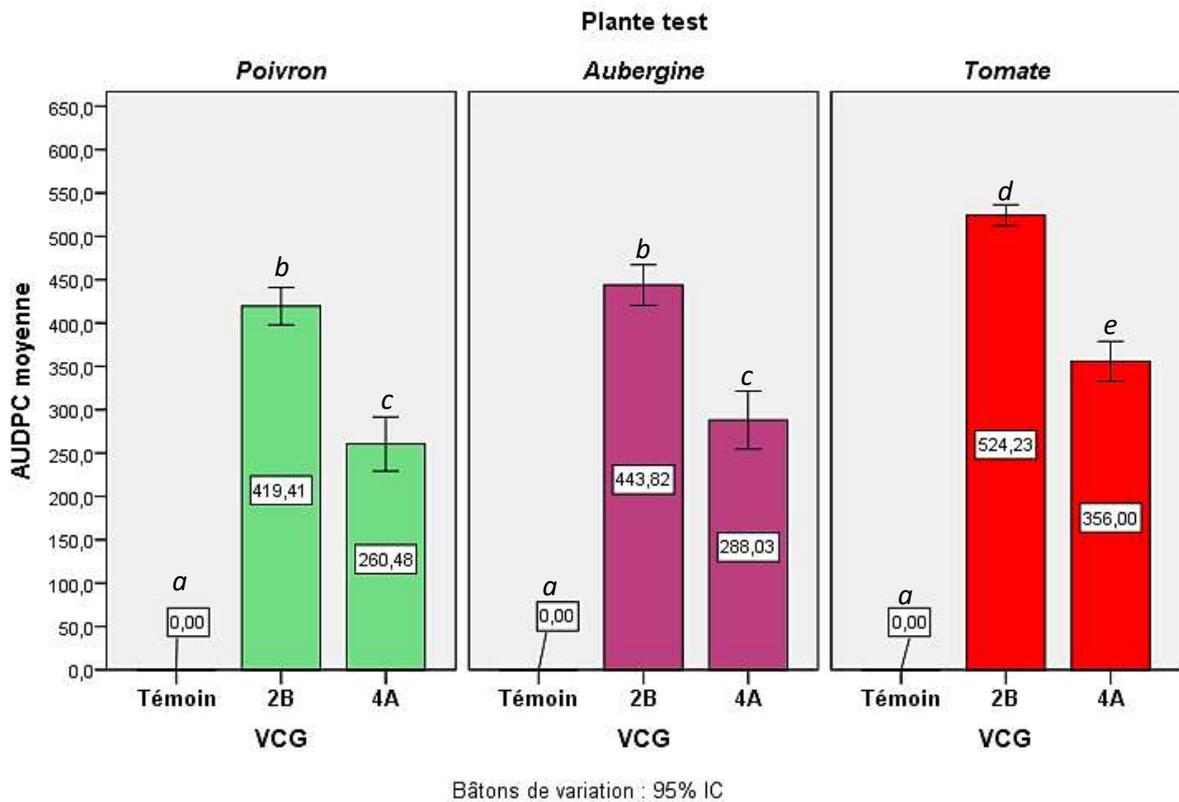
L'analyse de la variance (ANOVA) suivie par le test de Tukey indique l'existence d'une différence statistiquement significative entre les valeurs de l'AUDPC des différents pathosystème étudiés ( $p=0,00 < 5\%$ ). Il est donc noté la présence de plusieurs groupes homogènes pour les 03 cultures testés (Annexe 3).

Le test de Tukey révèle 07 groupes en ce qui concerne le pathosystème *Verticillium dahliae* - Poivron. V32 et V34 sont les isolats qui représentant le groupe le moins agressif tandis que V11 (groupe 7) est l'isolat le plus agressif suivi par V6 ; V8 et V3.

Chez l'aubergine on note 09 groupes où sont répartis les isolats de *Verticillium dahliae*. Il est utile de mentionner que le 1<sup>er</sup> groupe renferme les isolats les moins agressifs qui sont représentés par V33 et le groupe 9 qui renferme les isolats les plus agressifs (V4, V6 et V8)

Le pathosystème *Verticillium dahliae* - Tomate est répartie en 08 groupes homogènes en fonction des valeurs de l'AUDPC. En effet, V36, V35 et V34 sont le groupe le moins agressif (groupe 1) tandis que V11 est l'isolat représentatif du groupe 8 (groupe le plus agressif)

L'analyse de la diversité des isolats de *Verticillium dahliae* dont le résultat a été cité auparavant a permis de les concaténer en deux groupes végétatifs compatibles. La figure 3.5 indique de manière globale les valeurs moyennes de l'AUDPC des deux VCGs (2B et 4A).

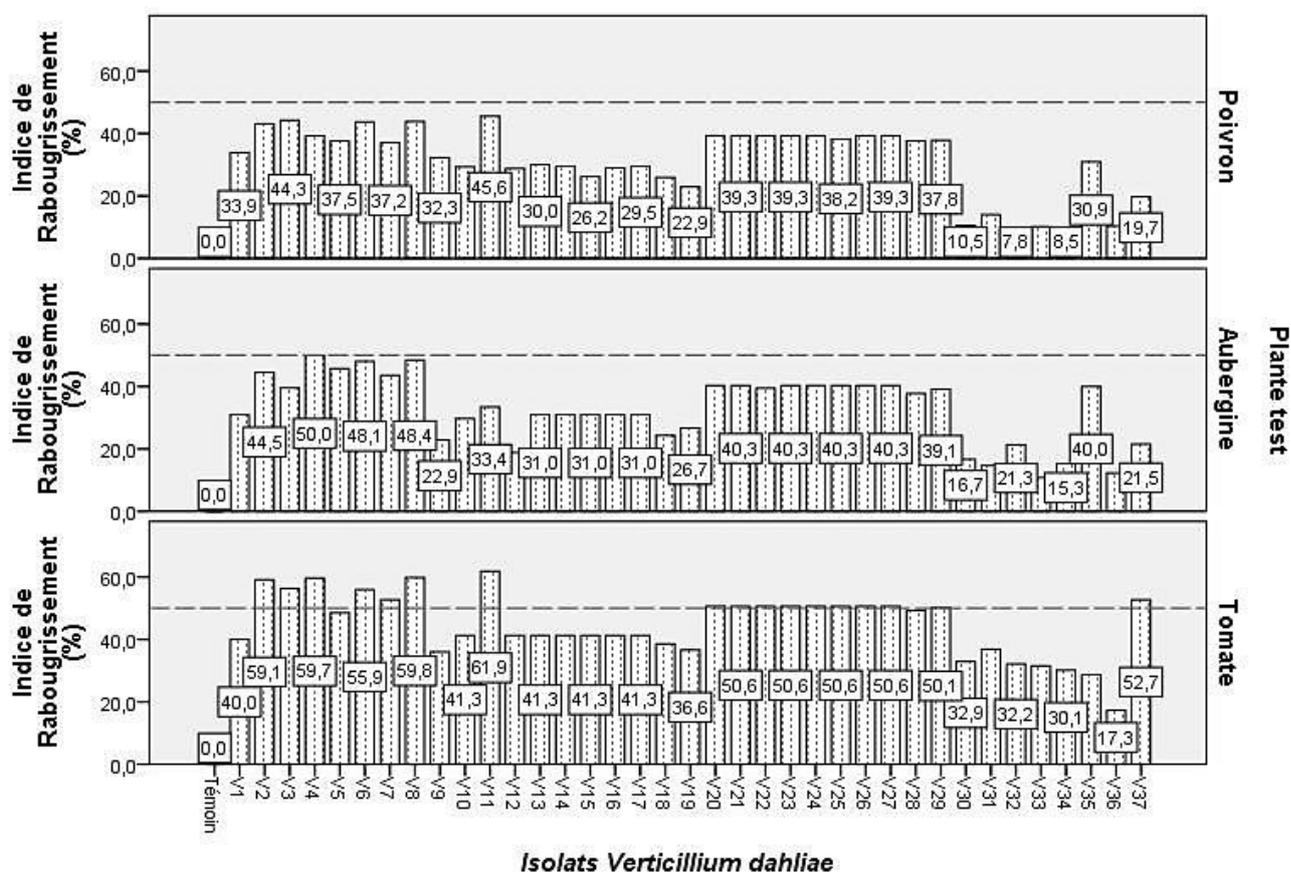


**Figure 3. 5 : Pathogénicité moyenne des groupes végétatifs compatibles de *Verticillium dahliae* envers le poivron, l'aubergine et la tomate.**

L'analyse de la variance indique que les groupes 2B et 4A engendrent des valeurs de l'AUDPC statistiquement différents ( $p=0,00$ ) et cela chez l'ensemble des plantes test (Annexe 3). L'aubergine et le poivron sont regroupés dans les mêmes groupes homogènes (Annexe 3), ce qui signifie que les isolats du groupe 2B et 4A (séparément) sont la même influence sur la fluctuation des valeurs de l'AUDPC. Les valeurs de l'AUDPC de la tomate sont remarquablement distinctes de celle de l'aubergine et du poivron d'où son appartenance à un groupe homogène isolé.

#### 4. Indice de rabougrissement

La figure 3.6 représente la réduction de la croissance des plants inoculés par rapport aux plants témoins. L'indice de rabougrissement appliqué pour les maladies fongiques d'origine telluriques indique l'absence de ce symptôme typique à la Verticilliose chez le lot témoin.



**Figure 3. 6 : Indice de rabougrissement des plants inoculés par les isolats de *Verticillium dahliae***

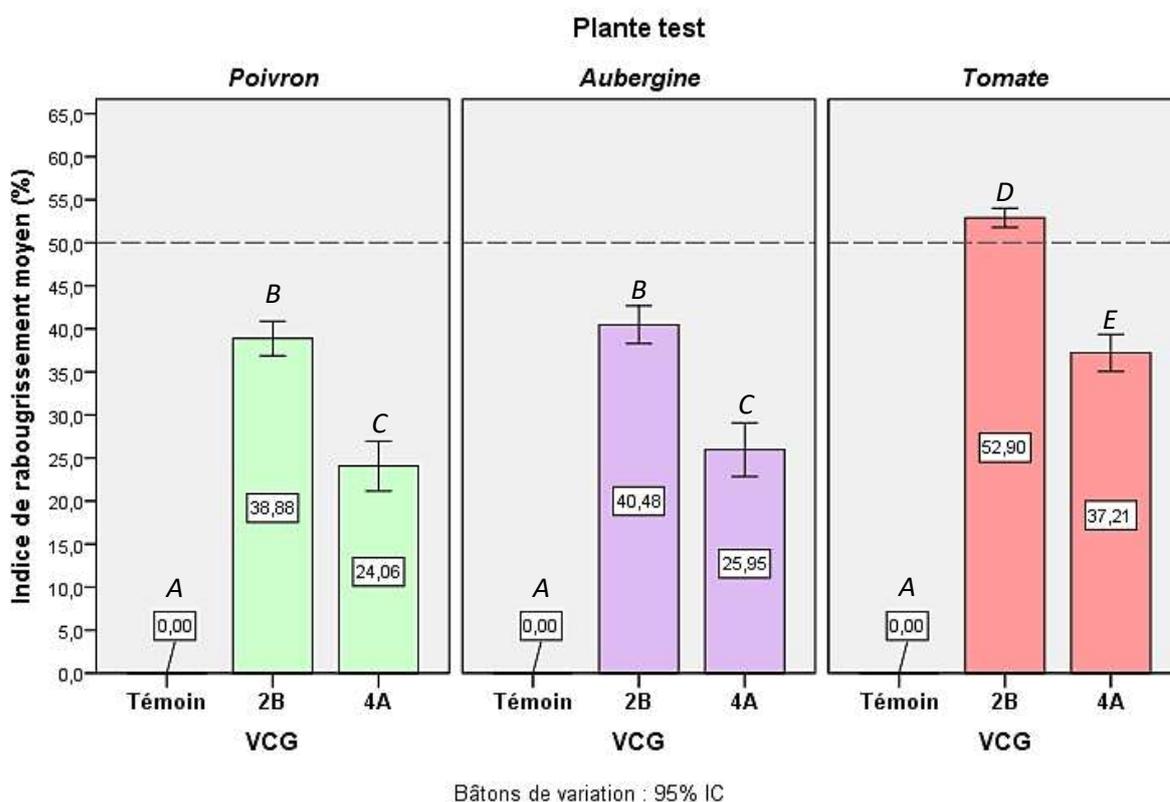
L'indice de rabougrissement (I.R.) le plus élevé est enregistré chez la tomate (61,9%). Cette valeur est induite par l'inoculation de l'isolat V11. Ce même isolat provoque un rabougrissement élevé chez le poivron (45,6%). Ceci confirme les résultats précédents qui suggèrent que la tomate est la culture la plus sensible à *Verticillium dahliae*. Les isolats V5 et V6 sont les plus aptes à engendrer une réduction de croissance des plants d'aubergine (45,5 – 50%). V36 est l'isolat qui provoque le moindre rabougrissement avec une valeur de 17,3 % chez la tomate. Par contres c'est l'isolat V32 chez le poivron (7,8)% et V34 chez l'aubergine (15,3%) qui ont cet effet.

L'analyse de la variance indique que les isolats V11 ; V5 et V6 appartiennent au même groupe homogène tandis que V34, V36, V32 sont regroupés dans un autre groupe homogène (Annexe 3)

La corrélation de Pearson au seuil 1% indique une relation proportionnelle (p=0,00) de très forte intensité ( $r = +0,987$ ) entre l'AUDPC et l'indice de rabougrissement pour l'ensemble des cultures (Annexe 3).

De manière globale, l'indice de rabougrissement moyen des plantes test selon les groupes végétatifs compatibles VCGs (2B et 4A) est représenté par la figure 3.7.

Comme pour l'AUDPC, l'analyse de la variance suivie par le test de Tukey indique que les groupes 2B et 4A engendrent des réductions de croissances statistiquement différentes (p=0,00) chez l'ensemble des plantes tests (Annexe 3).

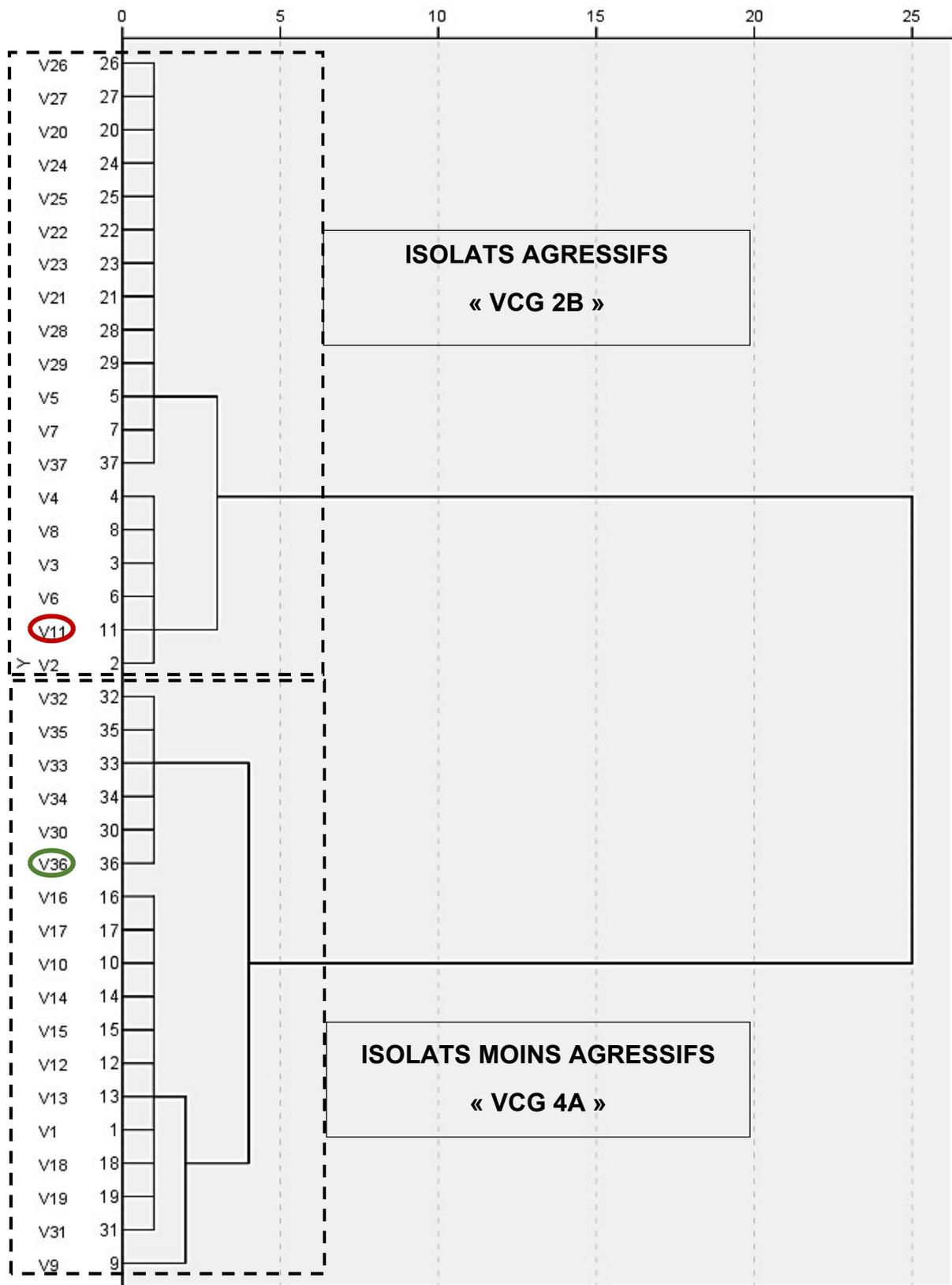


**Figure 3. 7 : Indice de rabougrissement moyen des plants inoculés par les groupes végétatifs compatibles de *Verticillium dahliae*.**

Les isolats du groupe 2B et 4A (séparément) ont la même influence sur les valeurs de l'I.R. moyen du poivron et de l'aubergine. Le rabougrissement moyen de la tomate est supérieur et statistiquement différent de celui du poivron et de

l'aubergine ( $p=0,00$ ) (Annexe 3). Ce qui signifie que la tomate est très sensible aux isolats de *Verticillium dahliae* obtenus.

La classification ascendante hiérarchique selon la pathogénicité des isolats et leurs agressivités est représentée par la figure 3.8. Cette classification est effectuée en se basant sur l'AUDPC et l'indice de rabougrissement des plantes test. Ceci vient appuyer nos résultats concernant la distinction des deux groupes végétatifs selon leurs agressivités.



**Figure 3. 8 : Classification ascendante hiérarchique des isolats de *Verticillium dahliae* selon leur pathogénicité.**

## 5. Effet des traitements sur la croissance de *Verticillium dahliae*

L'évaluation du développement des deux isolats représentatifs de *Verticillium dahliae* (V11 et V36) dans les différentes conditions de l'expérimentation a été faite par le calcul de la croissance diamétrale (cm<sup>2</sup>) et la croissance pondérale (mg MS)

### 5.1. Effet du potentiel hydrogène

- La figure 3.9 démontre que le comportement des isolats V11 et V36 vis-à-vis du pH du milieu de culture est différent. En effet l'isolat V36 enregistre des valeurs élevées de croissance diamétrale à pH acide (4), neutre (6,8) et basique (9) avec des valeurs allant de 52,54 à 59,07 cm<sup>2</sup>. L'isolat V11 par contre affiche des valeurs inférieures à celles de l'isolat V36 avec des chiffres allant de 7,43 (pH=9) à 30,95 cm<sup>2</sup> (pH= 4). Les deux isolats ont été comparés aux souches de références (VCG 2B et VCG 4A) et ils indiquent les mêmes tendances ceci est confirmé par l'analyse de la variance (Annexe 3).

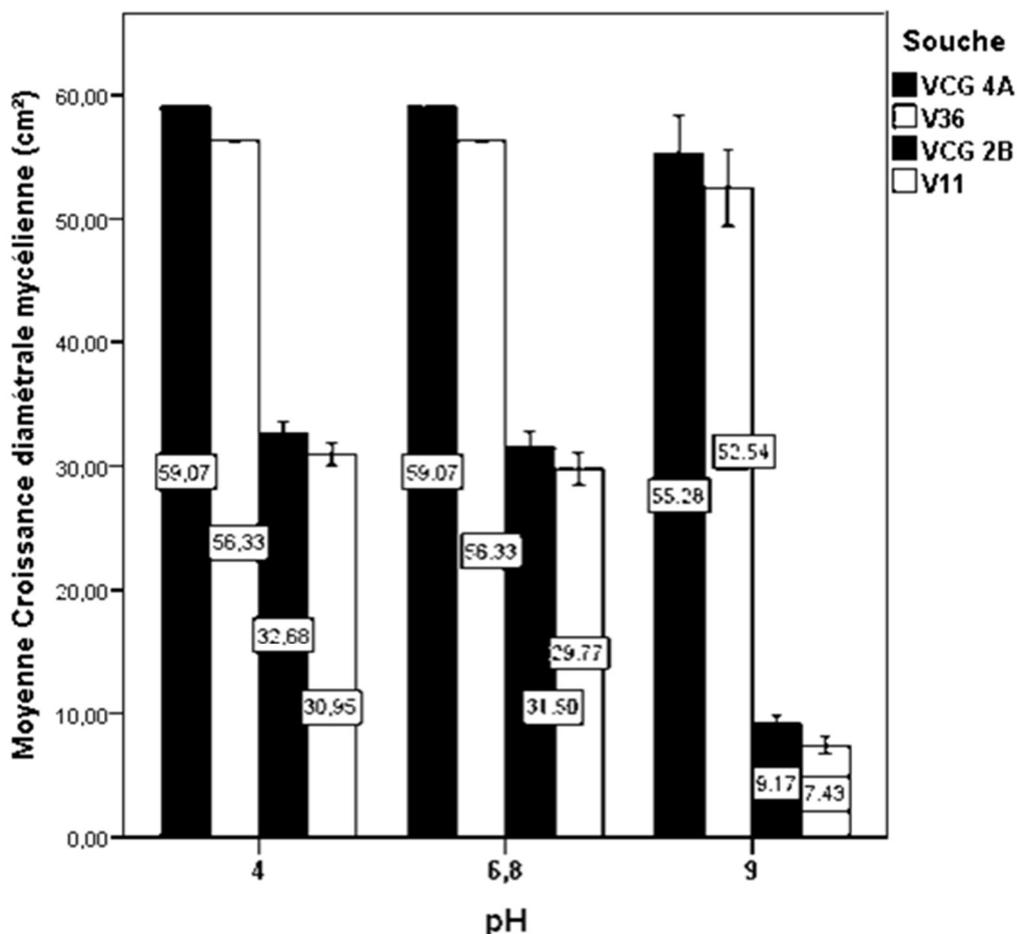


Figure 3. 9 : Effet du pH sur la croissance diamétrale (cm<sup>2</sup>) de *Verticillium dahliae*.

L'analyse de la variance ANOVA indique que le pH n'influence pas la croissance diamétrale de l'isolat V36 ( $p=0,422$ ). Tandis que pour l'isolat V11, l'analyse montre qu'il n'y a pas de différence entre la croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* au pH 4 et 6,8 uniquement. Ce qui signifie que la valeur faible à pH = 9 est statistiquement significative par rapport au pH acide et neutre (Annexe 3). Le traitement statistique par le même test indique également que les deux isolats se comportent de manière différentes par rapport aux pH du milieu de culture. (Annexe 3). Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3.10. Les traitements se regroupent dans 2 sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans un seul pour V36 et VCG 4A

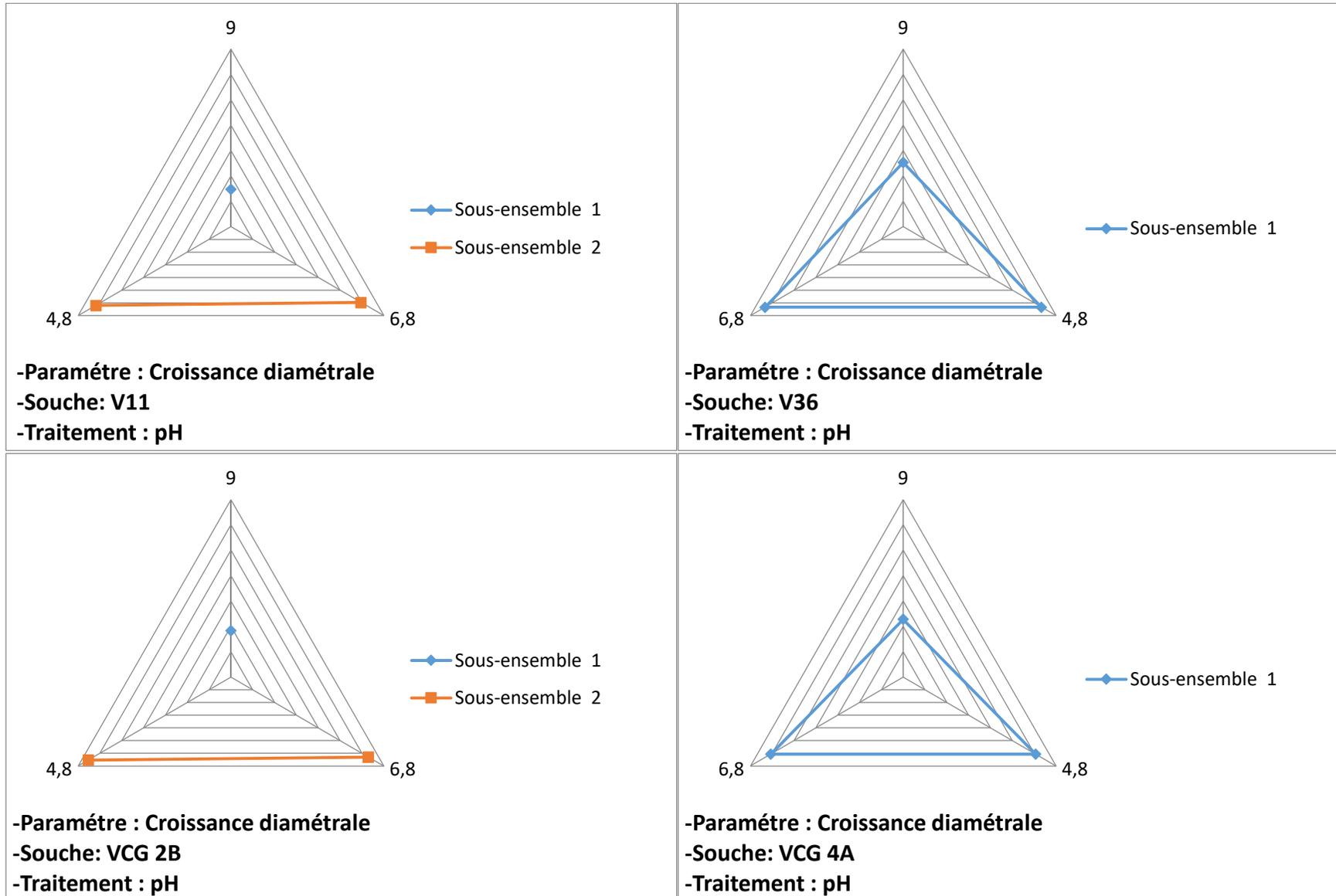
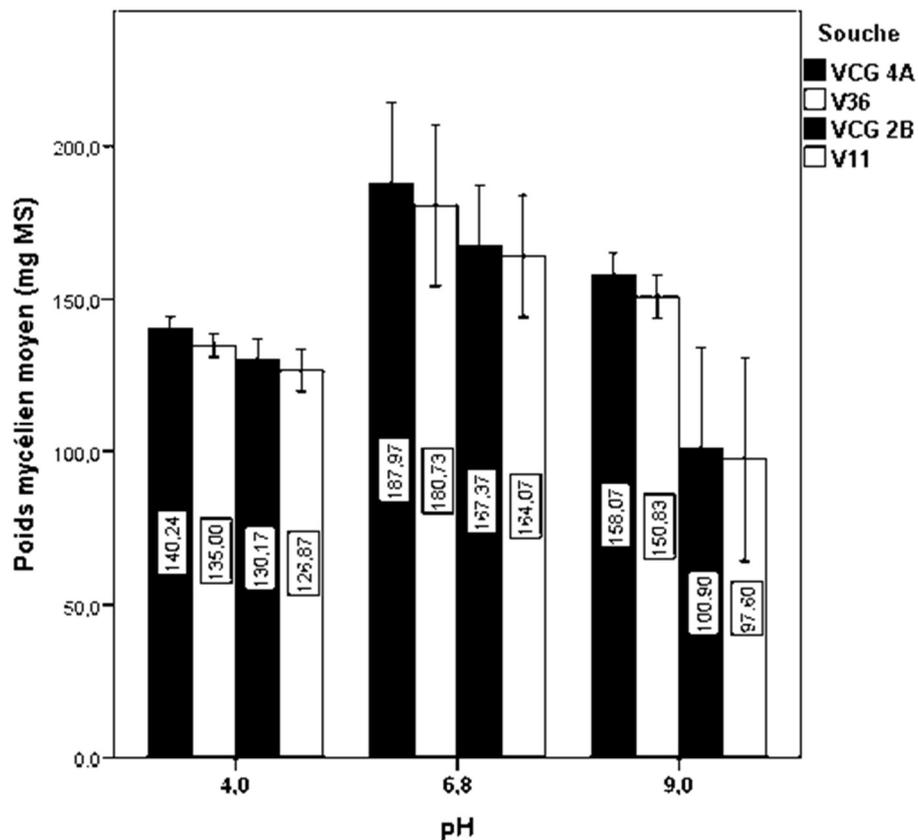


Figure 3. 10 : Répartition des groupes homogènes de la croissance diamétrale de *Verticillium dahliae* en fonction du pH

- La croissance pondérale de *Verticillium dahliae* est à son maximum dans le milieu témoin (pH = 6,8) où on note une valeur de 180,73 mg MS pour l'isolat V36 et 164,07 mg MS pour l'isolat V11 (Figure 3.11) . À un pH acide (pH = 4) les isolats ainsi que les souches témoins ont le même comportement avec des moyennes variées de 126,87 mg MS (V11) à 135 mg MS (V36). On note réduction du poids mycélien à un pH basique (pH= 9) pour l'isolat V11 (97,60 mg MS) et la souche de référence VCG 2B avec une moyenne de (100,90 mg MS). L'isolat V36 enregistre un poids de l'ordre de 150,83 mg MS, valeur plus élevée que celle notée à un pH acide.



**Figure 3. 11 : Effet du pH sur la croissance pondérale (mg MS) de *Verticillium dahliae*.**

L'analyse de la variance ANOVA indique que le comportement des isolats V11 et V36 est identique à celui des souches de références VCG 2B et 4A.

Le même test souligne qu'il n'existe pas de différences entre le poids mycélien des différents isolats et souches de *Verticillium dahliae* par rapport au pH. Ce qui signifie que les isolats V11 et V36 ont le même comportement vis-à-vis du pH du milieu de culture par rapport à leurs poids (Annexe 3). Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3.12. Les traitements se regroupent dans un seul sous-ensemble pour l'isolat les isolats étudiés.

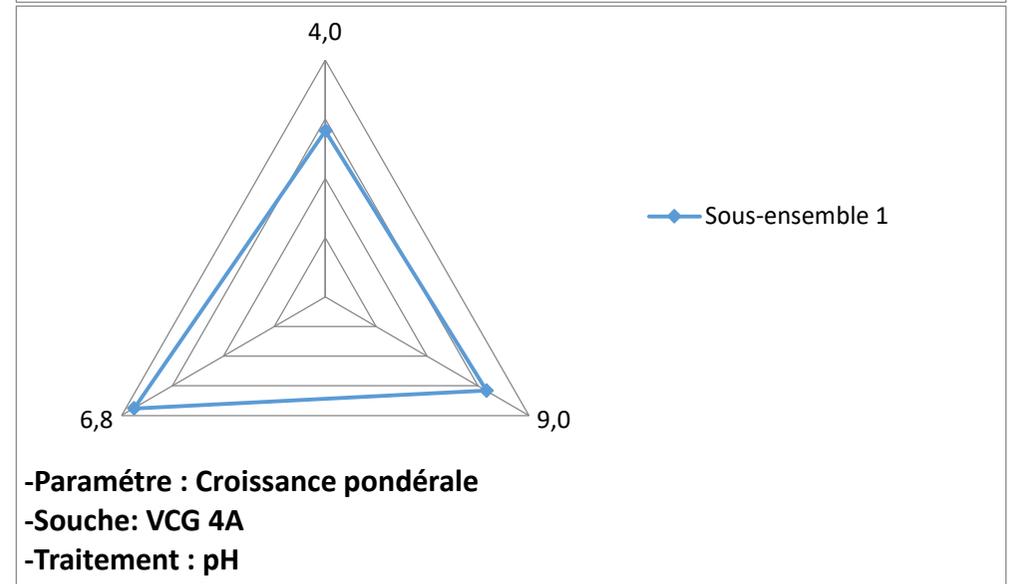
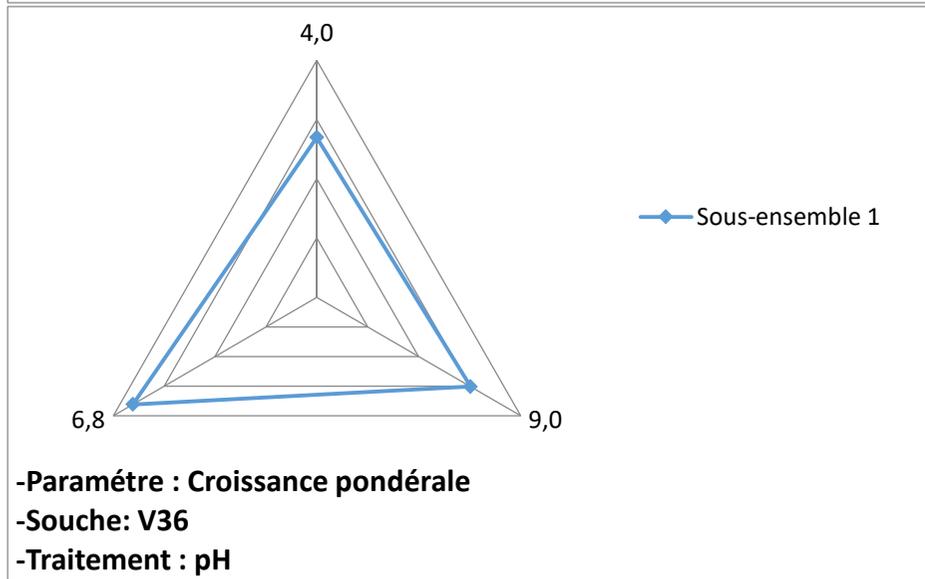
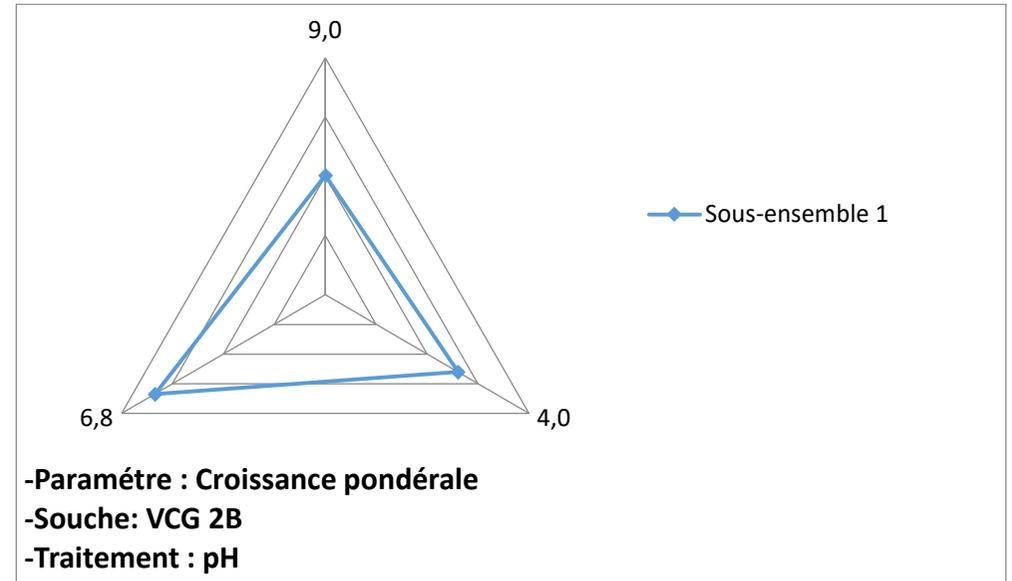
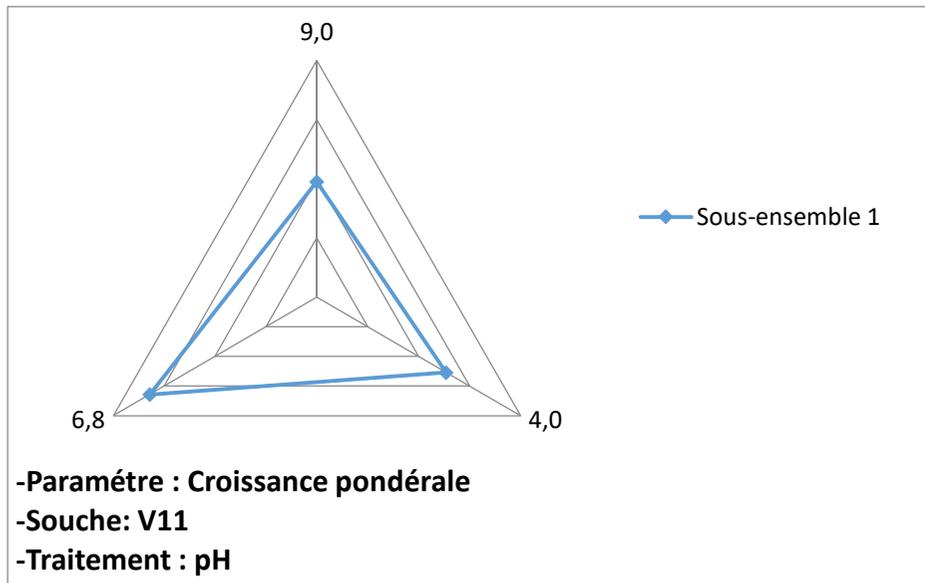
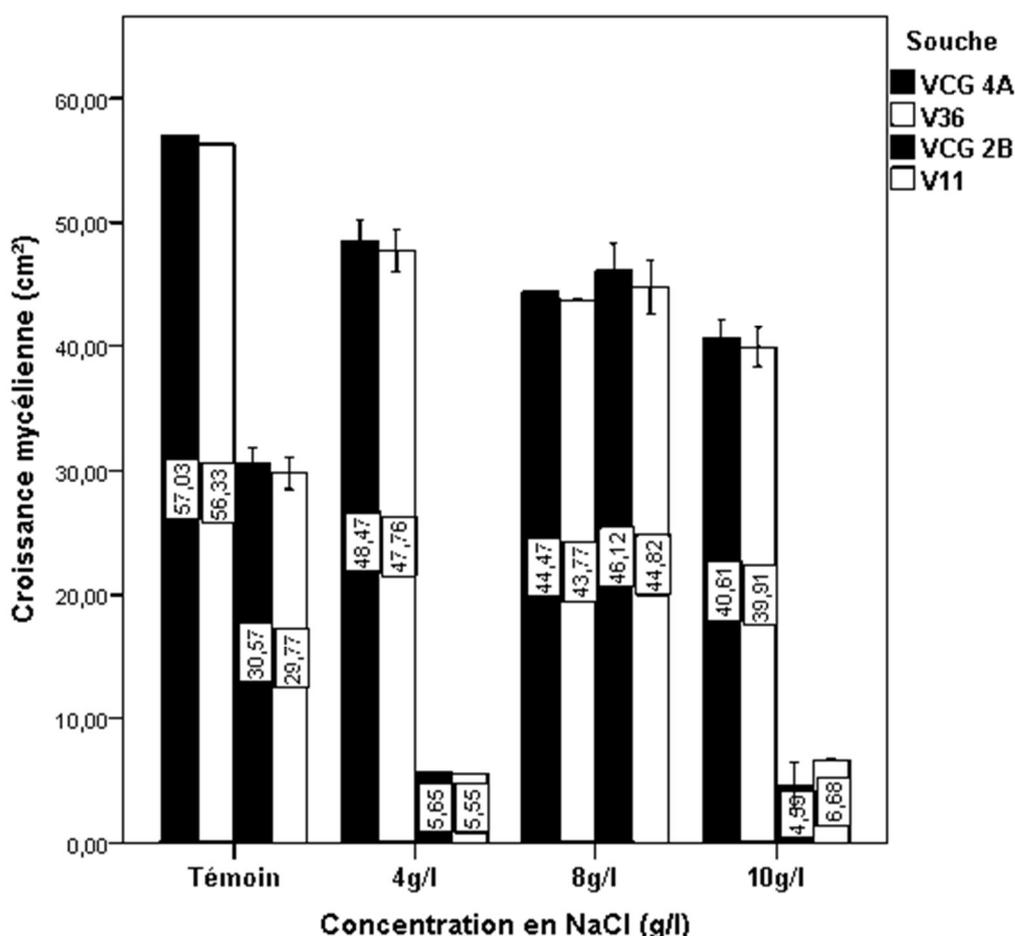


Figure 3. 12: Répartition des groupes homogènes de la croissance pondérale des conidies de *Verticillium dahliae* en fonction du pH

## 5.2. Effet du chlorure de sodium

- L'isolat V36 voit sa croissance diamétrale diminuer avec l'augmentation de la concentration du milieu de culture en chlorure de sodium (NaCl). (Figure 3.13)

Une valeur de 56,33 cm<sup>2</sup> est enregistrée par le témoin (0g/L). Ce chiffre diminue et est atteint 47,76 cm<sup>2</sup> à 4g/L. Cette décroissance de développement continue et est atteinte un minimum de 39,91 cm<sup>2</sup> à une concentration de 10g/L de NaCl.



**Figure 3. 13 : Effet du NaCl sur la croissance diamétrale (cm<sup>2</sup>) de *Verticillium dahliae*.**

La croissance diamétrale de l'isolat V11 est stimulée par l'apport de 8g/L de NaCl dans le milieu de culture où on note un maximum de 44,82 cm<sup>2</sup>. Cette valeur est plus élevée que celle du témoin (0g/L) où elle est de 29,77 cm<sup>2</sup>. Une dose de 4g/L de NaCl a une action inhibitrice sur le développement de *Verticillium dahliae* (Isolat V11 et la souche de référence VCG 2B). La concentration du milieu en 4 et 10 g/L de chlorure de sodium provoque une diminution notable de la croissance (5,55 et 6,86 cm<sup>2</sup> respectivement).

L'analyse de la variace indique que la croissance de l'isolat V36 à la concentration 4g/L est statistiquement différente que celle à la concentration 10g/L. Ainsi on note que les traitements ont un impact sur la croissance de *Verticillium dahliae* V36 par rapport au témoin (Annexe).

Concernant l'isolat V11 l'analyse de la variance ANOVA montre que les 3 concentrations en NaCl engendrent des surfaces de croissance différentes (Annexe 3)

Il est important de noter que d'un point de vu statistique le comportement des isolats V11 et V36 est identique à celui des souches de références VCG 2B et 4A, respectivement. (Annexe 3).

Le test de Tukey indique que les isolats V11 et V36 se comportent de manière différentes pour chaque concentration étudiée mis à part pour la concentration 8g/L où cette dernière engendre une croissance diamétrale mycélienne identique pour les isolats et les souches de référence (Annexe 3). Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.14. Les traitements se regroupent dans 3 sous-ensembles pour les isolats V11 ; VCG 2B ; V36 et VCG 4A

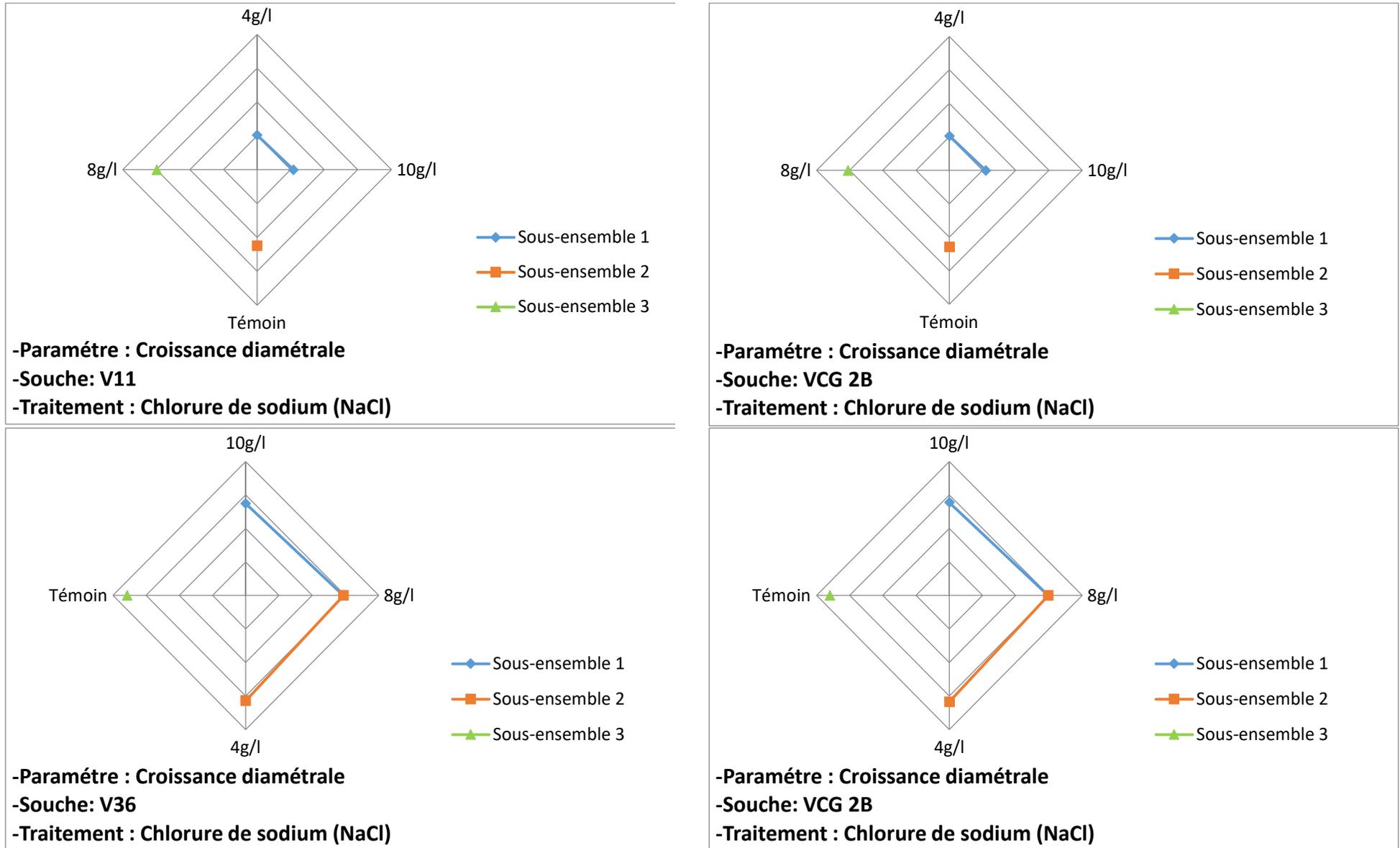
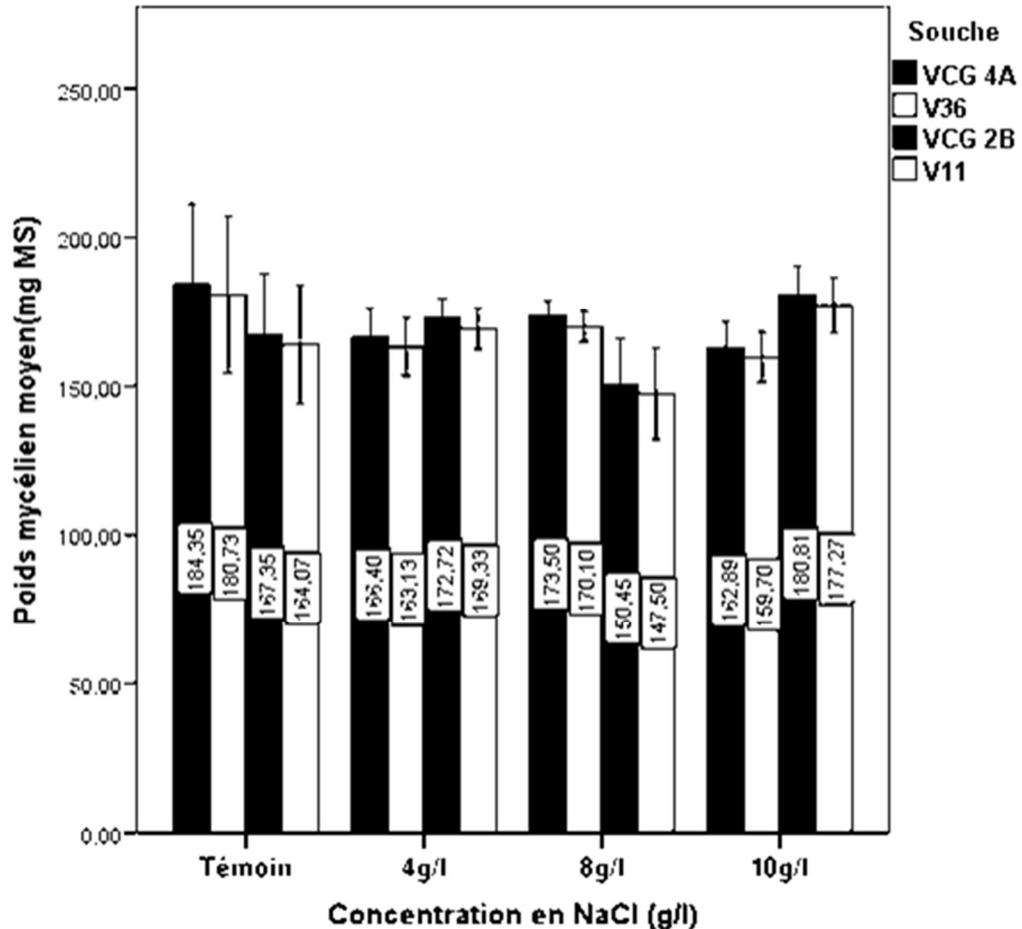


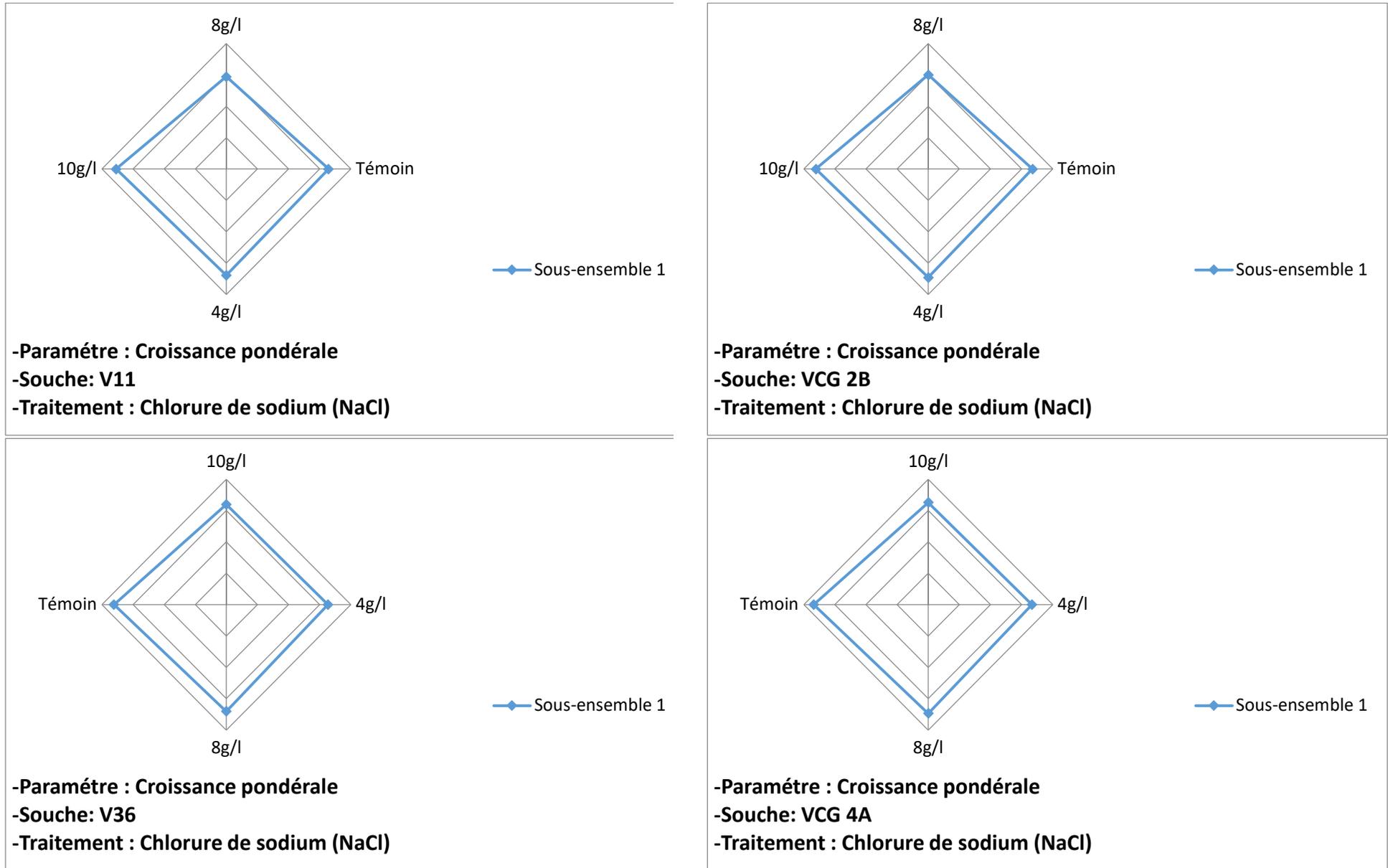
Figure 3. 14 : Répartition des groupes homogènes de la croissance diamétrale de *Vorticillium dahliae* en fonction de la concentration en NaCl

- La croissance pondérale varie de manière légère avec les concentrations en NaCl (Figure 3.15). Chez le témoin elle est de 180,73 mg MS pour l'isolat V36 et 164,35 mg MS pour l'isolat V11. On note une fluctuation du poids de *Verticillium dahliae* où on a un poids moyen de 147,50 mg MS a 8 g/l pour l'isolat V11 et un maximum de 177,27 mg MS pour le même isolat.



**Figure 3. 15 : Effet du NaCl sur la croissance pondérale (mg MS) de *Verticillium dahliae*.**

D'un point de vu statistique, le test de Tukey indique que le poids mycélien de l'isolat V36 et V11 ne sont pas affecté par les doses de NaCl, ainsi il n'existe pas de différences entre les deux isolats par rapport au poids mycélien dans les conditions de l'expérimentation (Annexe 3). Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.16. Les traitements se regroupent dans 1 sous-ensembles pour l'ensemble des isolats.



**Figure 3. 16 : Répartition des groupes homogènes de la croissance pondérale de Vorticillium dahliae en fonction de la concentration en NaCl**

### 5.3. Effet des éléments minéraux

L'expérimentation vise à étudier l'effet de l'azote ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), du sulfate de potassium ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) et du chlorure de magnésium ( $\text{MgCl}_2$ ) sur le développement diamétrale et pondérale de *Verticillium dahliae* (V11, V36, VCG 2B et 4A).

- La figure 3.17 indique que le chlorure d'ammonium à une faible dose (0,33 ppm) provoque la diminution du développement des isolats V11 et V36 avec leurs souches de références respectives. En effet, V11 enregistre une croissance mycélienne moyenne de 4,67 cm<sup>2</sup> plus faible que celle de V36 (5,19 cm<sup>2</sup>). Chez les témoins, la croissance mycélienne est de 54,73 cm<sup>2</sup> pour V11 et 60,82 cm<sup>2</sup> pour V36.

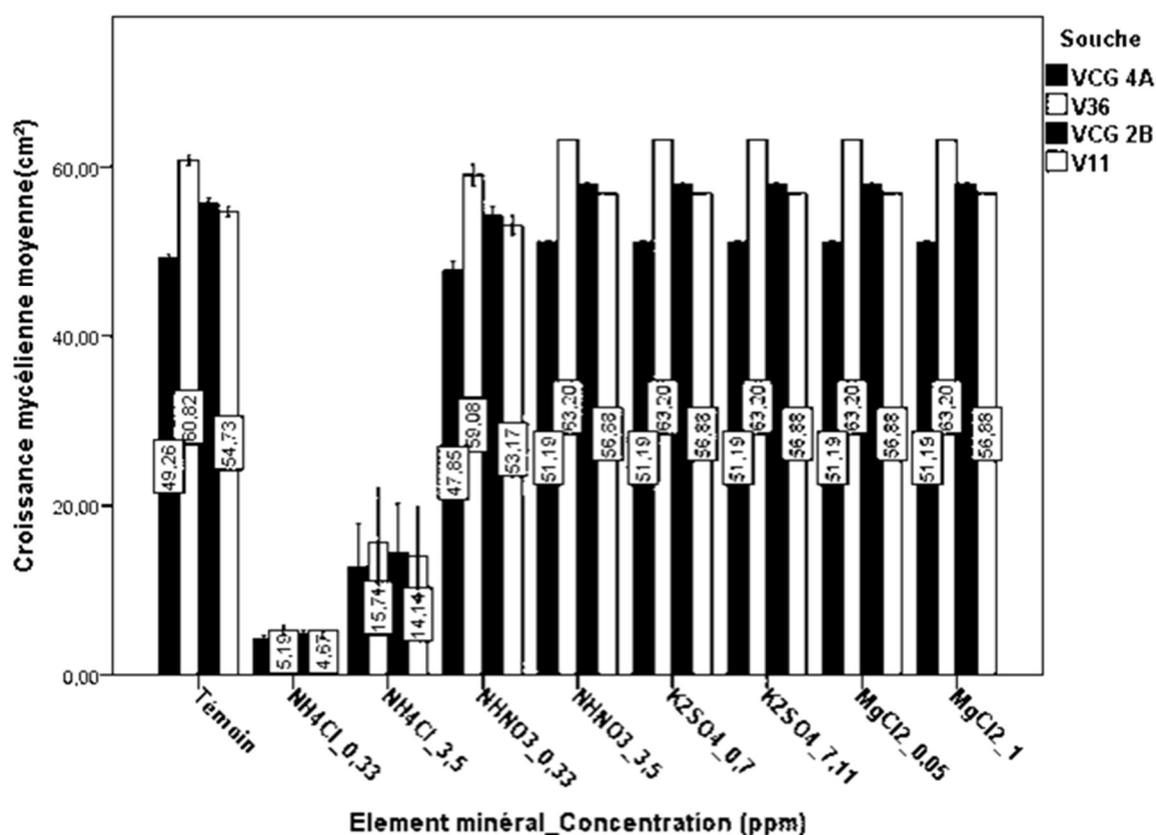


Figure 3. 17 : Effet des éléments minéraux sur la croissance diamétrale (cm<sup>2</sup>) de *Verticillium dahliae*.

Le chlorure d'ammonium à une dose de 3,5 ppm engendre une augmentation relative de la croissance des isolats V11 (14,14 cm<sup>2</sup>) et V36 (15,74 cm<sup>2</sup>). Cette augmentation reste néanmoins très faible par rapport au témoin.

La croissance des isolats de *Verticillium dahliae* augmente lors de l'ajout des nitrates d'ammonium aux milieux. Cette augmentation atteint les 56,88 cm<sup>2</sup> pour

l'isolat V11 et 63,20 cm<sup>2</sup> pour l'isolat V36. Ces valeurs sont très voisines de celles du témoin. La même tendance est notée chez les isolats mis en culture dans les milieux amendés de sulfate de potassium (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) et du chlorure de magnésium (MgCl<sub>2</sub>). L'analyse de la variance (Annexe 3) suivie par un test de Tukey fait ressortir deux groupes homogènes pour l'ensemble des souches (Figure 3.18)

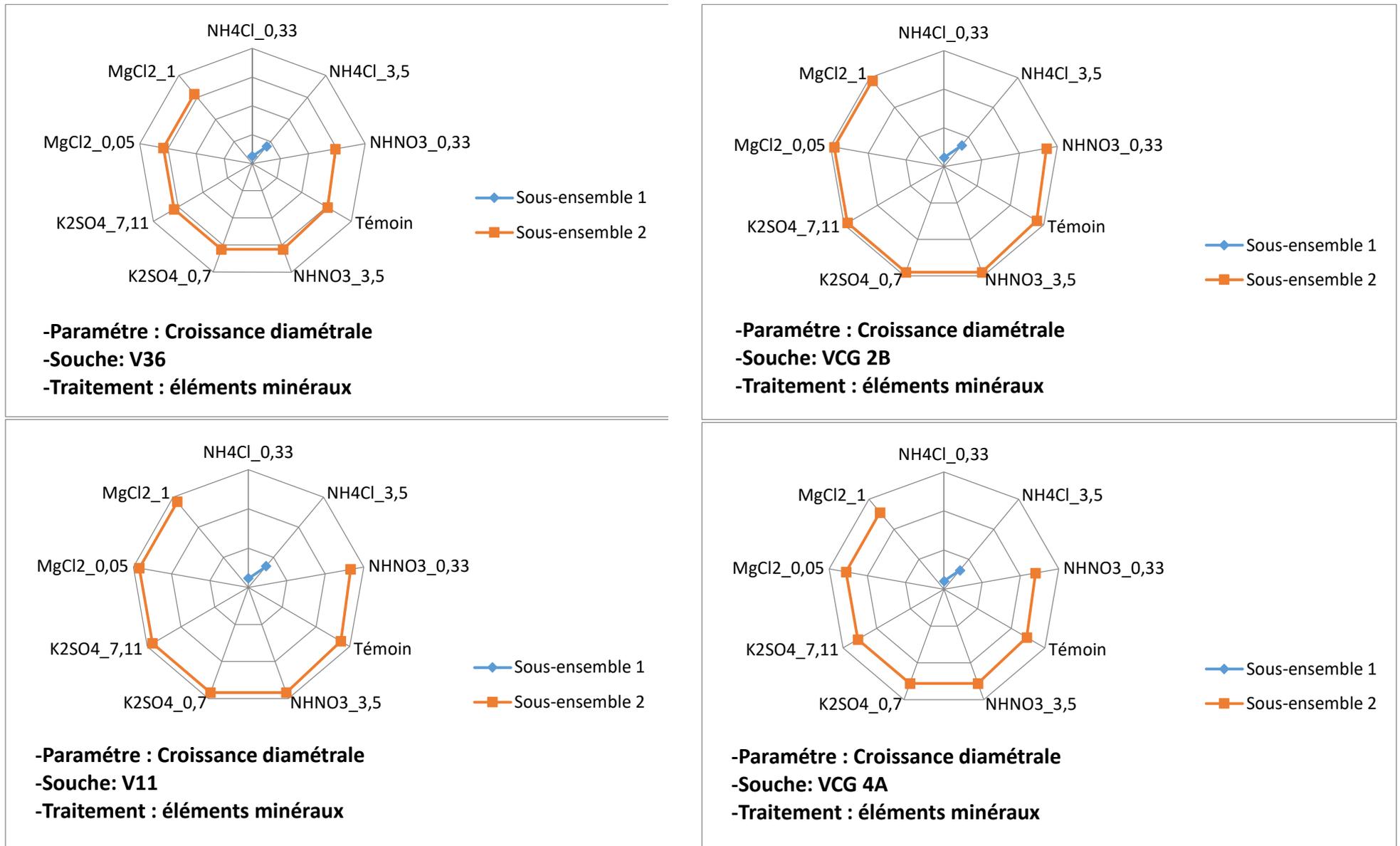
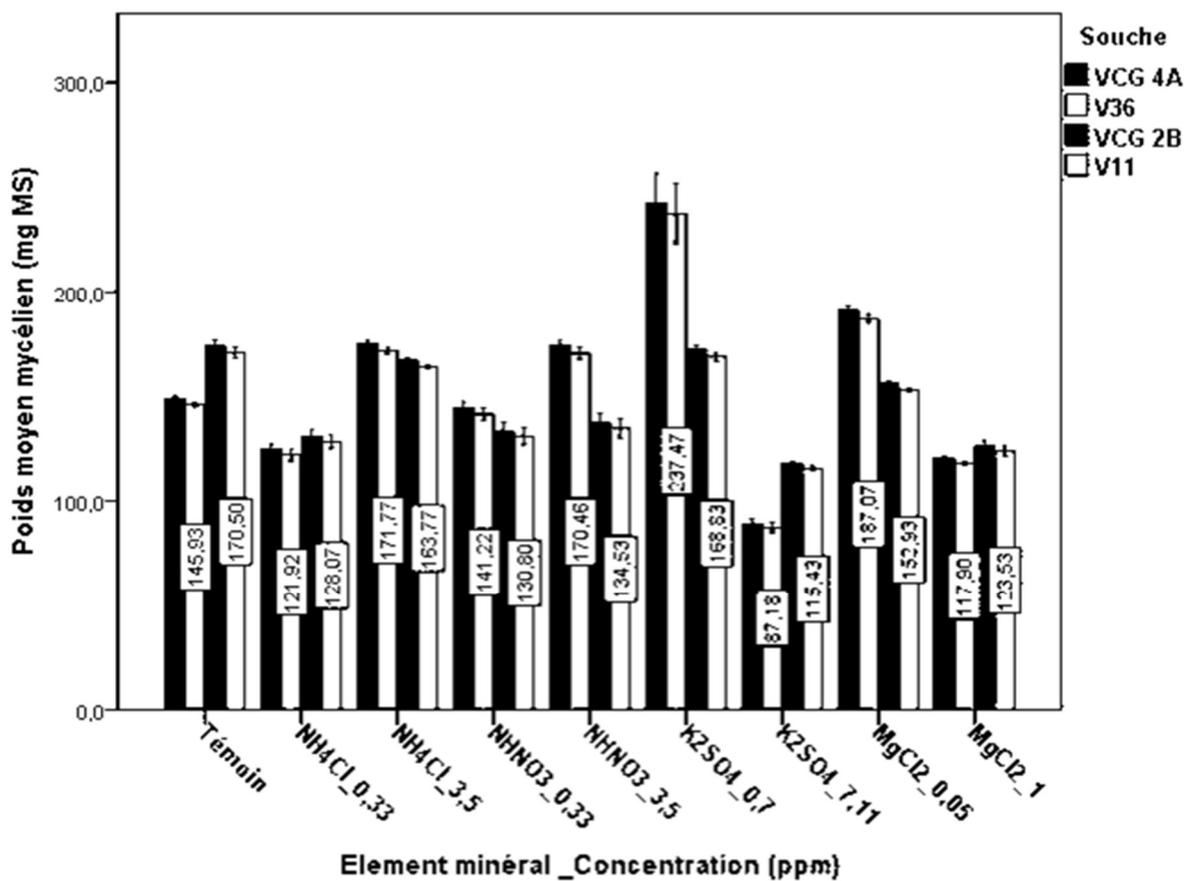


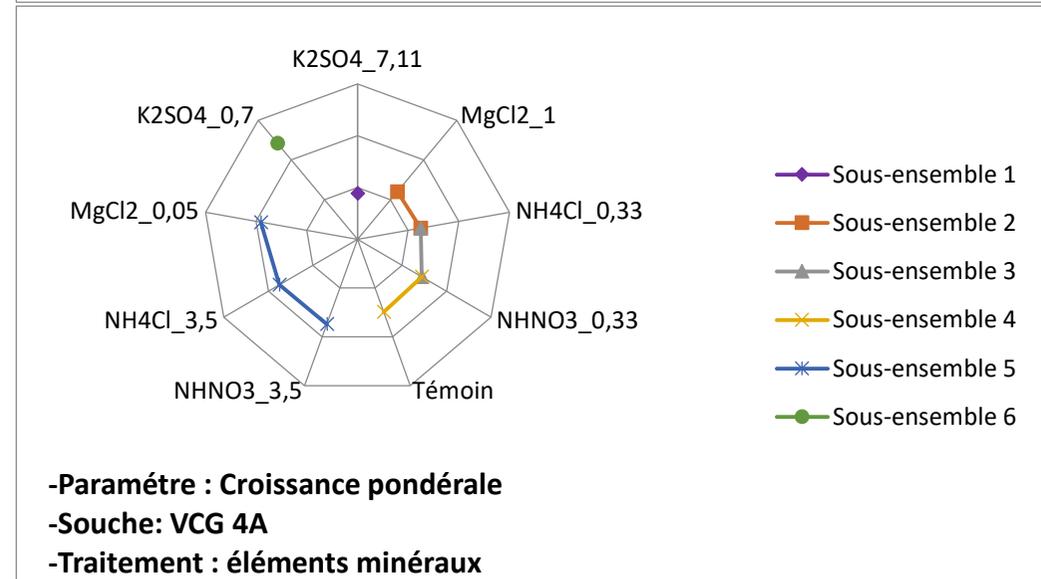
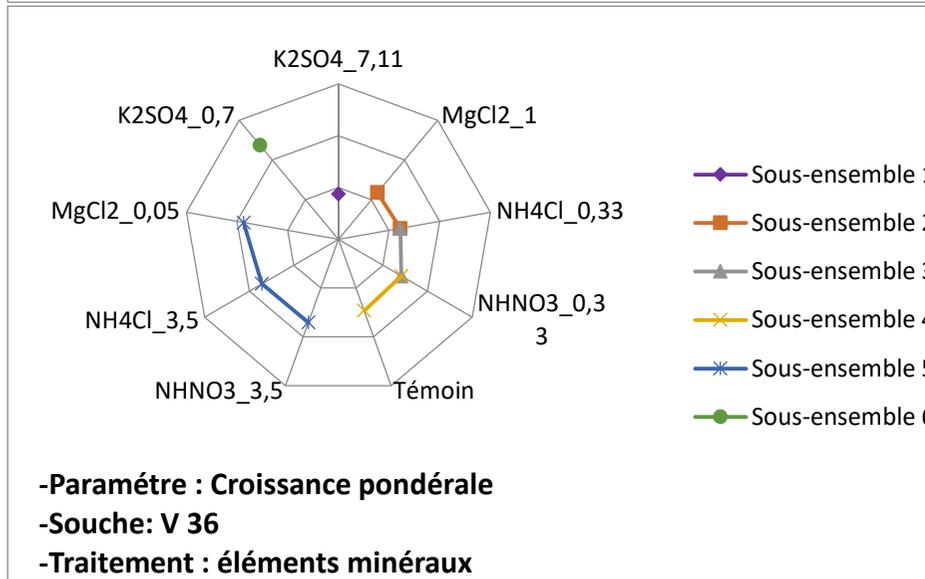
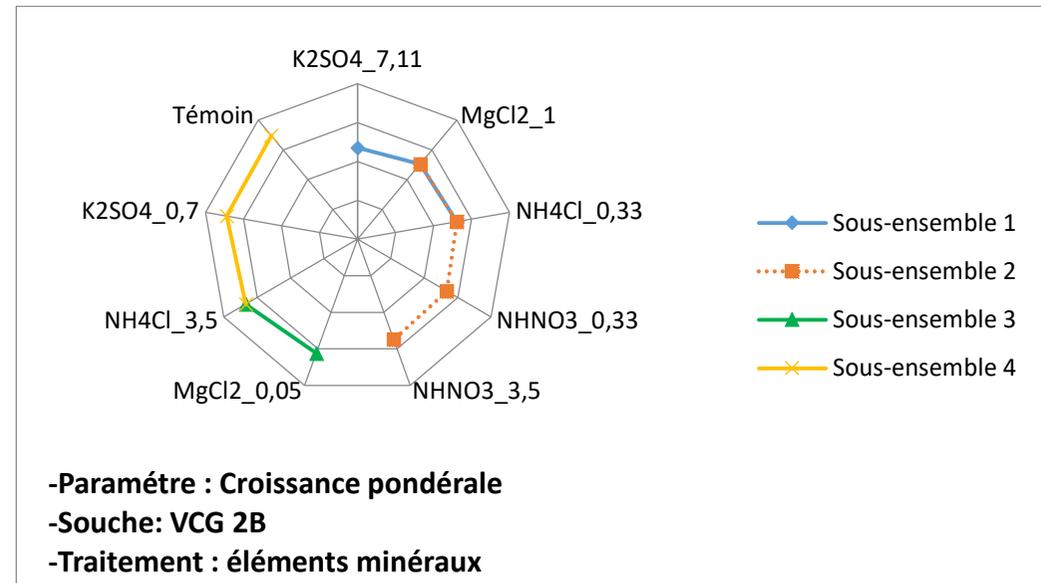
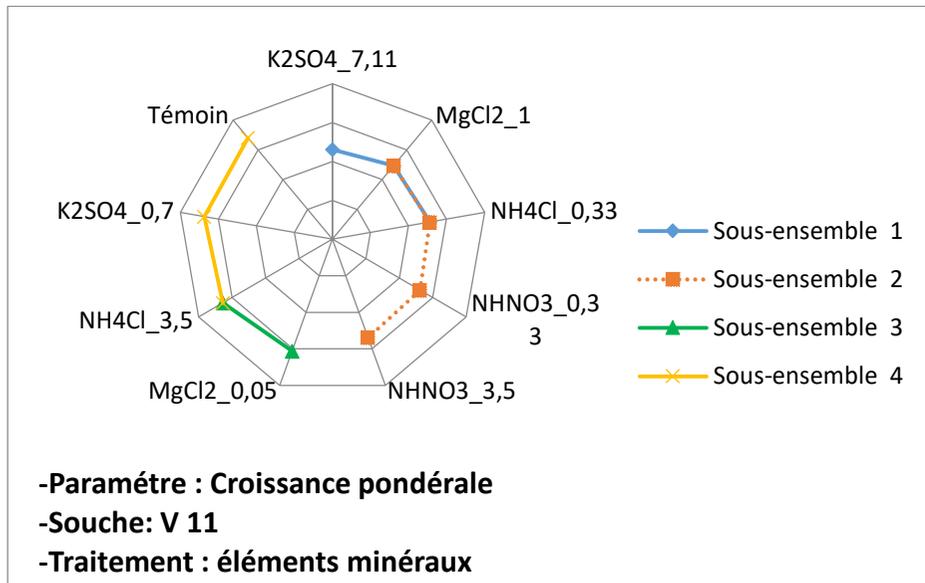
Figure 3. 18 : Répartition de la croissance diamétrale de *Verticillium dahliae* en fonction des traitements avec les éléments minéraux

- L'augmentation de la concentration du milieu en sulfate de potassium (7,11 ppm) diminue notablement la croissance pondérale de l'isolat V36 (87,18 mg MS) et V11 (115,43 mg MS) par rapport au milieu amendé de 0,711 ppm de  $K_2SO_4$  (237,47 et 168,83 mg MS respectivement pour V36 et V11) et du témoin (Figure 3.15). Ceci est vrais également pour le chlorure de magnésium. On remarque que de faibles doses engendrent une augmentation du poids mycélien de V11(152,93 mg MS) et de V36 (187,07 mg MS). L'azote avec ces deux sources ( $NH_4Cl$  ;  $NH_4NO_3$ ) à une dose de 0,33 ppm diminue la croissance pondérale de l'isolat V11 (128,07 – 130,80 mg MS) par rapport au témoin (170,50 mg MS). L'analyse de la variance (Annexe 3) suivie par un test de Tukey fait ressortir 04 groupes homogènes les isolats V11 et VCG 2B et 06 groupes pour V36 et VCG 4A (Figure 3.19)



**Figure 3. 19 : Effet des éléments minéraux sur la croissance pondérale (mg MS) de *Verticillium dahliae*.**

Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.20. Les traitements se regroupent dans quatre sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans six pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 20 : Répartition de la croissance pondérale de Verticillium dahliae en fonction des traitements avec les éléments minéraux**

## 6. Effet des traitements sur la sporulation et la germination des microconidies des isolats de *Verticillium dahliae*.

### 6.1. Effet du potentiel hydrogène

- Le pouvoire conidiogène des isolats de *Verticillium dahliae* (V11 ; V36) et des souches de références (VCG 2B ; VCG 4A) est à son optimum à un pH neutre (6,8) (Figure 3.21). Le nombre conidies produites atteint, en moyenne,  $1,81 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> (V36) et  $1,67 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> (V11). Cette valeur reste inchangée a la diminution de pH a 4 pour l'isoalt V11 et la souche de reference VCG 2B ( $1,63 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>), mais dinimue, néaumoins pour l'isolat V36 ( $13,70 \cdot 10^4$  UFC/ cm<sup>2</sup>) et VCG 4A ( $13,78 \cdot 10^4$  UFC/ cm<sup>2</sup>)

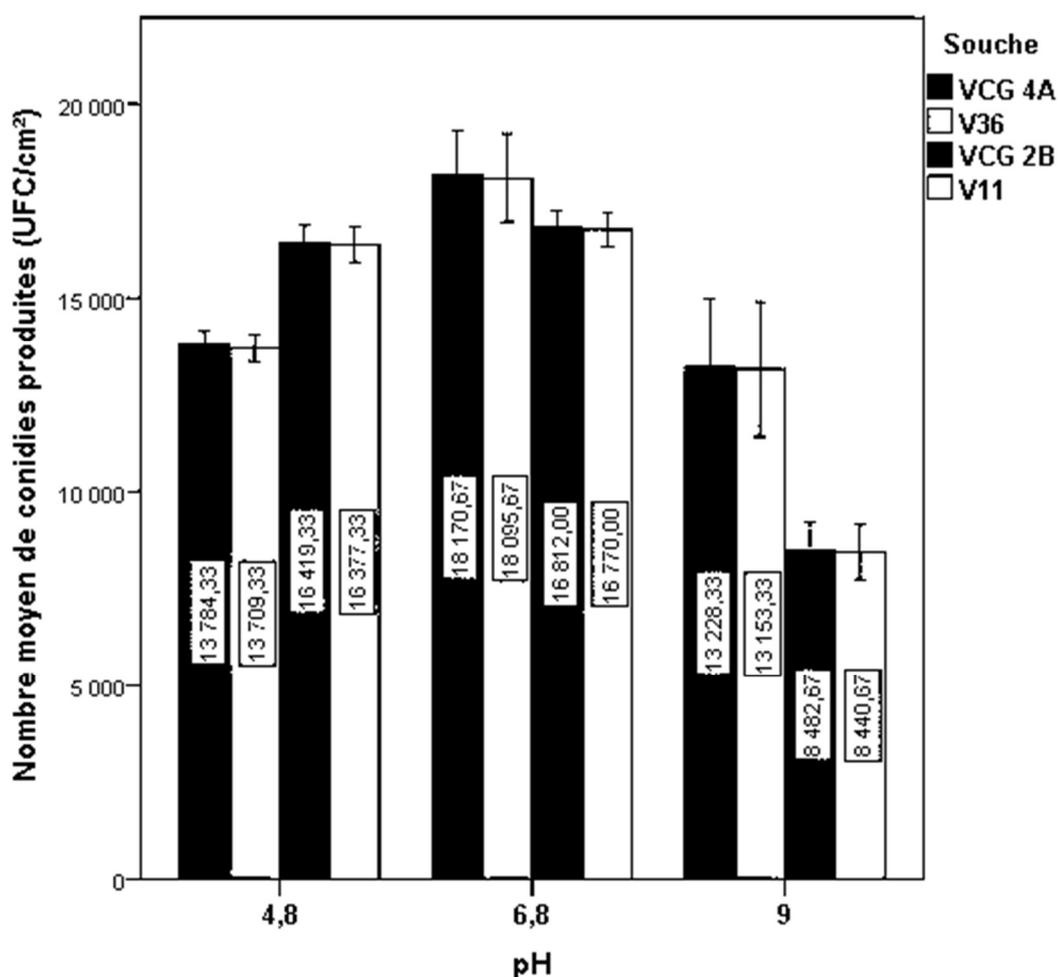


Figure 3. 21 : Effet du potentiel d'hydrogène sur la sporulation (UFC/cm<sup>2</sup>) des isolats de *Verticillium dahliae*.

À un pH basique (pH= 9) l'isolat V11 voit le nombre moyen de conidies produites diminuer à  $0,844 \cdot 10^4$  UFC/ cm<sup>2</sup> ; ceci est de même pour la souche de référence VCG 2B ( $0,848 \cdot 10^4$  UFC/ cm<sup>2</sup>). L'isolat V36 et la souche VCG 4B subissent la même tendance que celle de l'isolat V11 mais avec un taux de diminution moindre où on note un nombre moyen de conidies produites égalant  $1,31 \cdot 10^4$  à  $1,32 \cdot 10^4$  UFC/ cm<sup>2</sup>.

- Le pouvoir germinatif des isolats de *Verticillium dahliae* est représenté par le comptage des conidies viables sur milieu de culture solide illustré dans la figure 3.22.

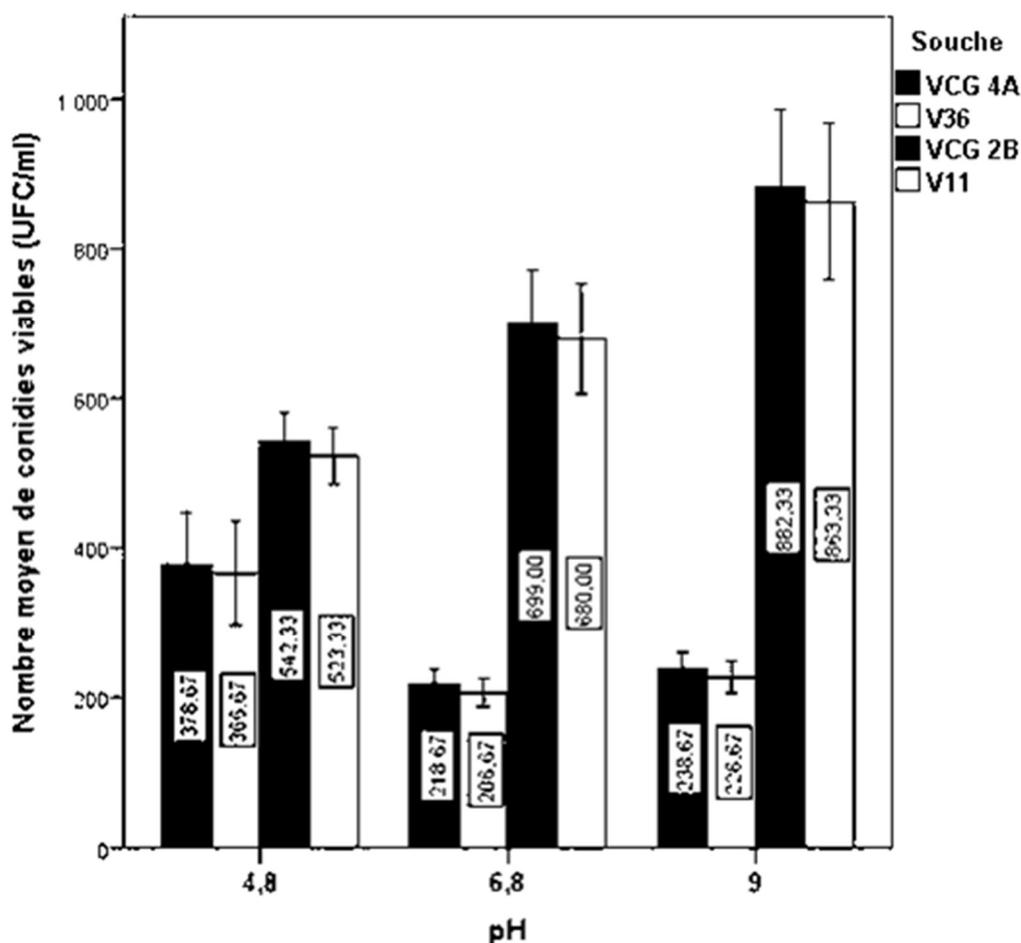
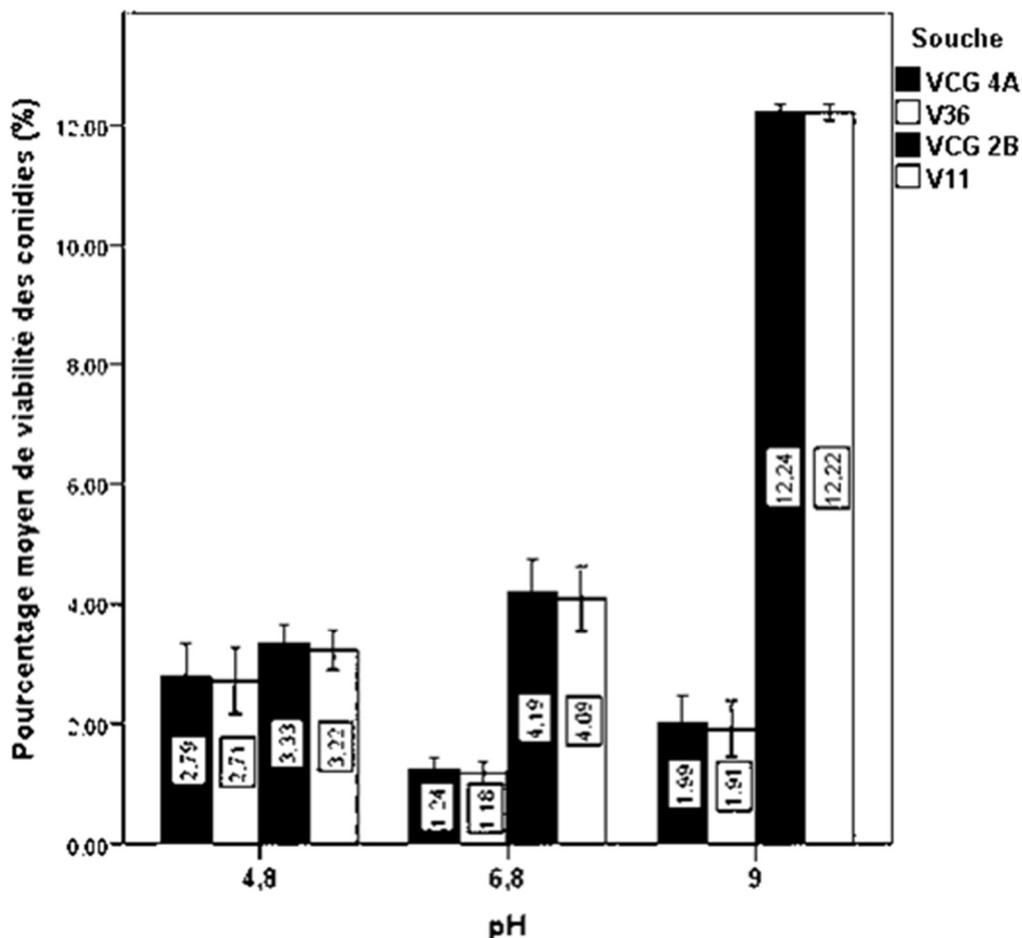


Figure 3. 22 : Effet du potentiel d'hydrogène sur la germination (UFC/ml) des isolats de *Verticillium dahliae*.

On note que le nombre moyen de conidies viables des isolats V11 et VCG 2B augmente avec l'augmentation du pH du milieu et atteint la valeur de 862,33 UFC/ml à pH = 9 contrairement à l'isolat V36 et la souche VCG 4A où l'augmentation du pH diminue la viabilité des conidies.

Le rapport de viabilité des conidies est illustré dans la figure 3.23. Pour l'isolat V36 considéré comme moins agressif, dans un milieu témoin (pH= 6,8) on note uniquement 1,18% des conidies produites sont viables. Par contre pour l'isolat le plus agressif (V11) le pourcentage de viabilité des conidies dans les mêmes conditions atteint 4,09 %. À pH acide le pourcentage de viabilité des deux isolats est approximativement voisin avec 2,71% pour l'isolat V36 et 3,22% pour l'isolat V11.

Le pH basique du milieu favorise la germination des conidies de l'isolat V11 et de la souche de référence VCG 2B. En effet un maximum de pourcentage de viabilité est noté avec 12,22%. Il est utile de mentionner qu'à un pH basique l'isolat V11 et la souche de référence VCG 2B enregistre l'activité conidiogène (sporulation) la plus faible.



**Figure 3. 23 : Effet du potentiel d'hydrogène sur le pourcentage de viabilité (%) des conidies des isolats de *Verticillium dahliae*.**

Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.24. Les traitements se regroupent dans deux sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans un seul pour V36 et VCG 4A.

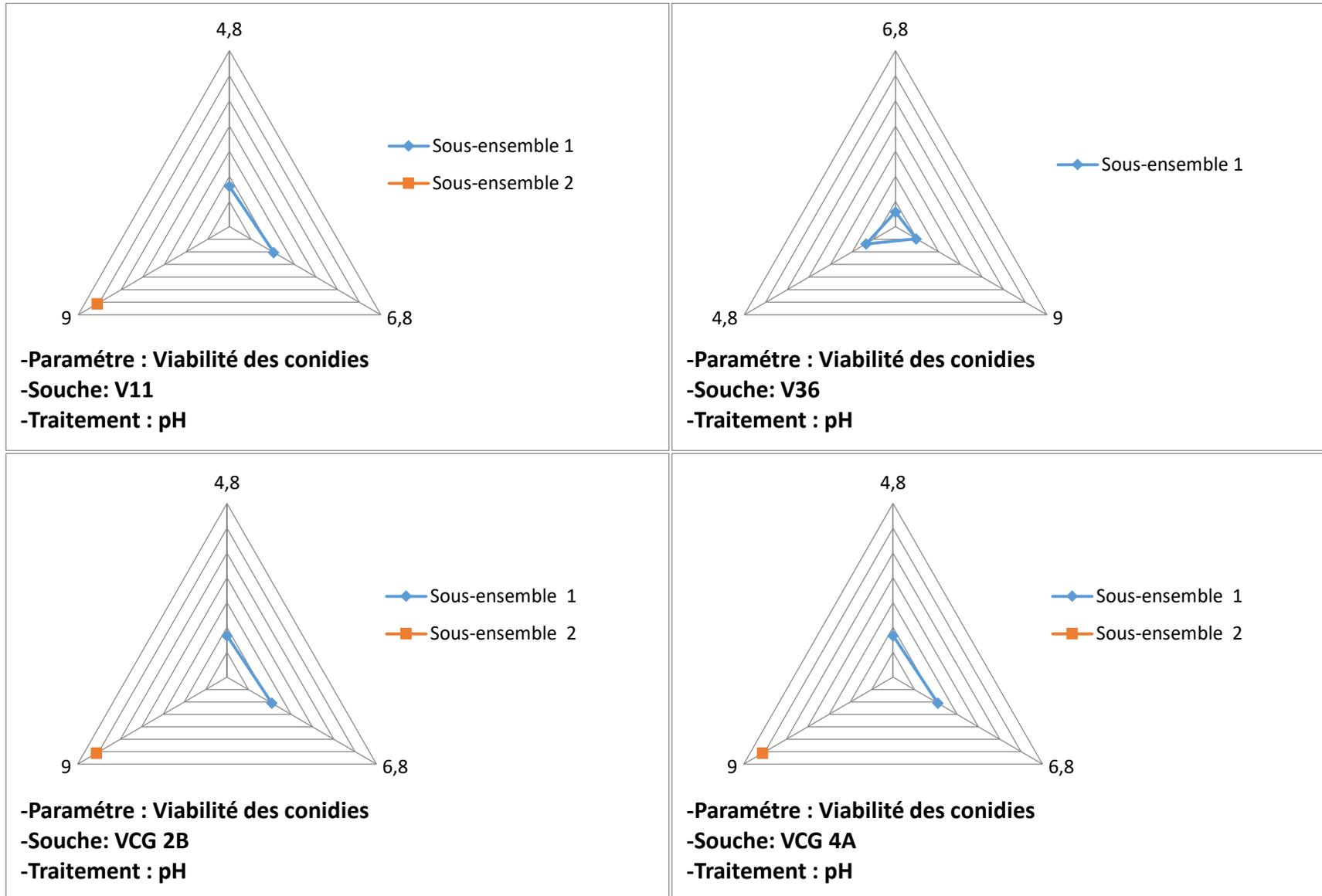
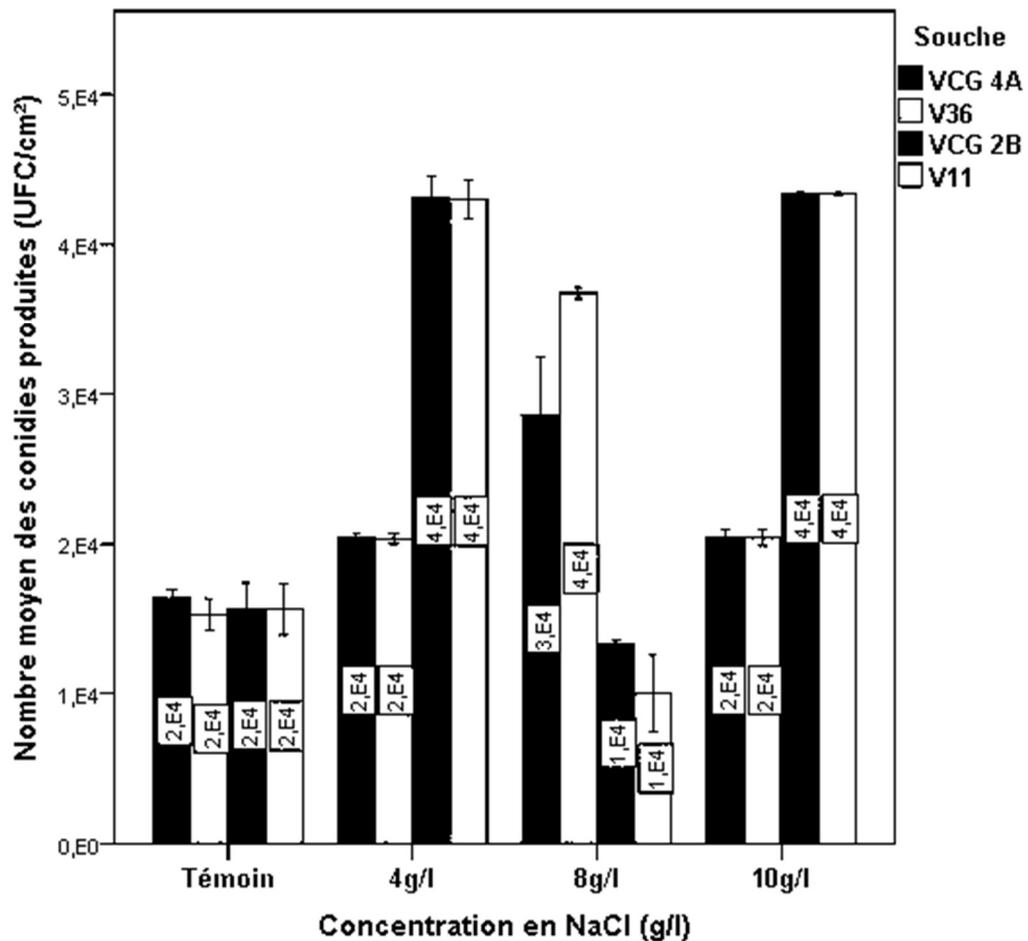


Figure 3. 24 : Répartition des groupes homogènes de la viabilité des conidies de *Verticillium dahliae* en fonction du pH

## 6.2. Effet du chlorure de sodium

Le nombre de conidies produites par *Verticillium dahliae* varie en fonction des concentrations du milieu en NaCl et de l'isolat fongique (Figure 3.25).



**Figure 3. 25 : Effet du chlorure de sodium sur la sporulation (UFC/cm<sup>2</sup>) des isolats de *Verticillium dahliae*.**

Dans le milieu témoin (0g/l) la sporulation des isolats est relativement faible par rapport aux traitements. En effet elle est avoisinante de  $2.10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> pour les deux isolats et les souches de références. Le nombre de conidies produites par l'isolat V11 augmente significativement lors de l'ajout de 4 et 10 g/l de NaCl ( $4.10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>). À une concentration de 8g/l la sporulation diminue est atteint  $1.10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>. Par contre à cette concentration, l'isolat V36 voit son pouvoir conidiogène augmenter ( $4.10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>) et varie de manière non significative aux doses 4 et 10 g/l.

Dans le milieu témoin, l'isolat V11 et la souche de référence VCG 2B enregistrent le nombre moyen le plus élevés de conidies viables (48,33 UFC/ml) par rapport à l'isolat V36 (34,33 UFC/ml) et la souche VCG 4A (36 UFC/ml) (Figure 3.26).

L'augmentation de la concentration en chlorure de sodium provoque la diminution de la germination des conidies des isolats. En effet à une concentration de 10 g/l l'isolat V11 enregistre un nombre moyen très faible de conidies viable (3,33 UFC/ml) par contre pour l'isolat V36 on note une augmentation de ce nombre (29,33 UFC/ml). A 10g/l, le NaCl a un effet drastique sur la germination des conidies de l'isolat V11 et un effet relativement stimulant pour l'isolat V36.

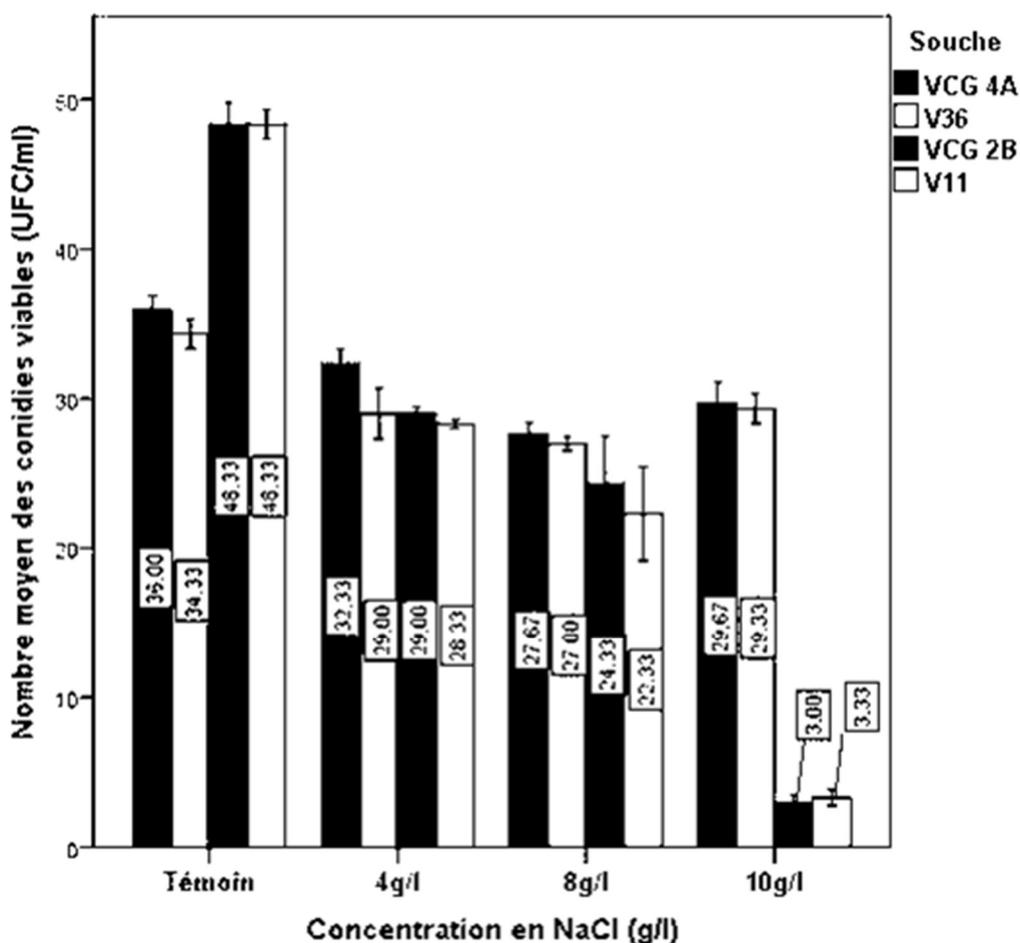
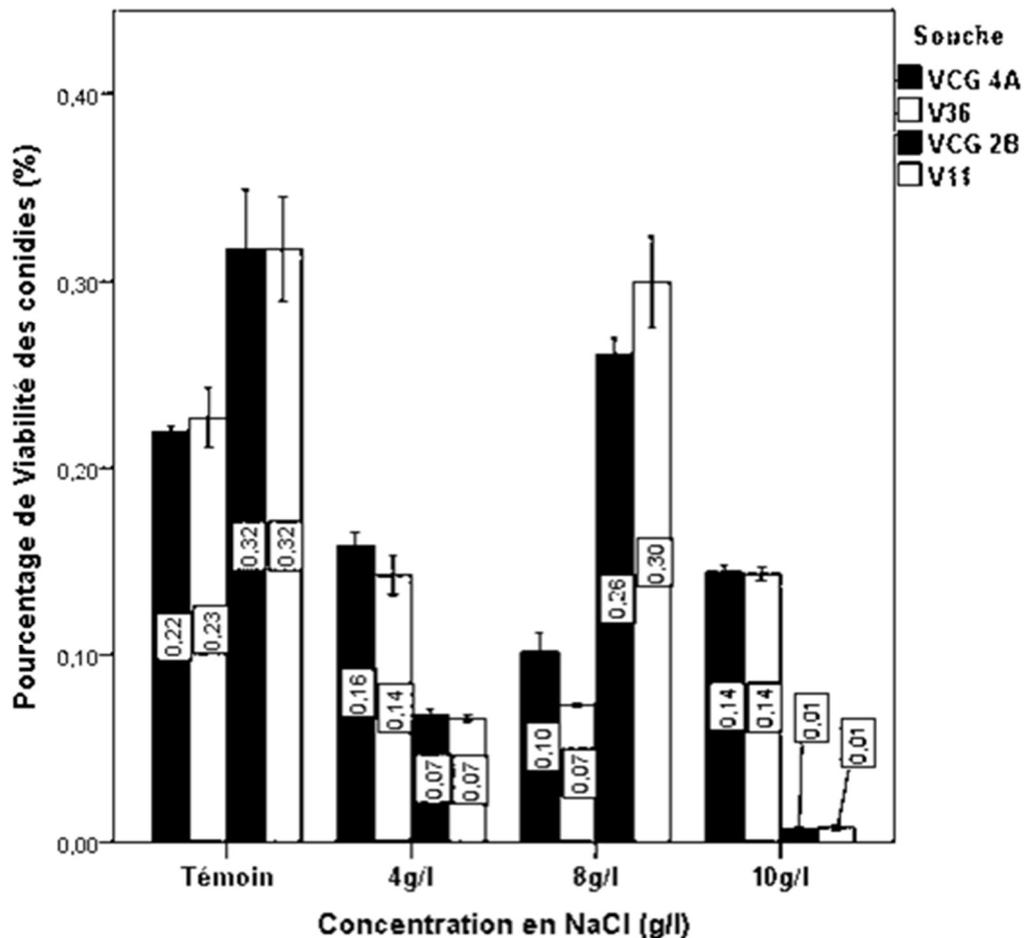


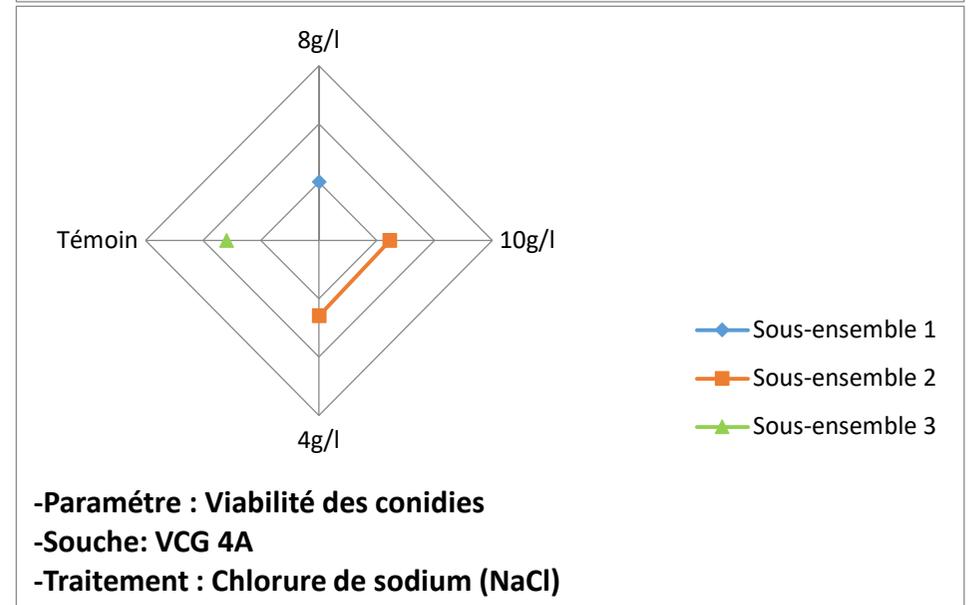
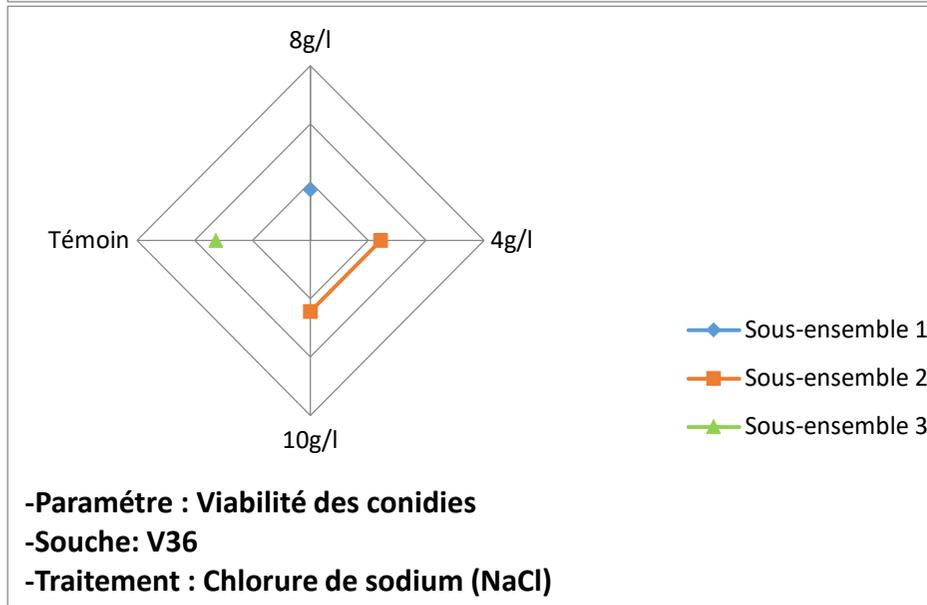
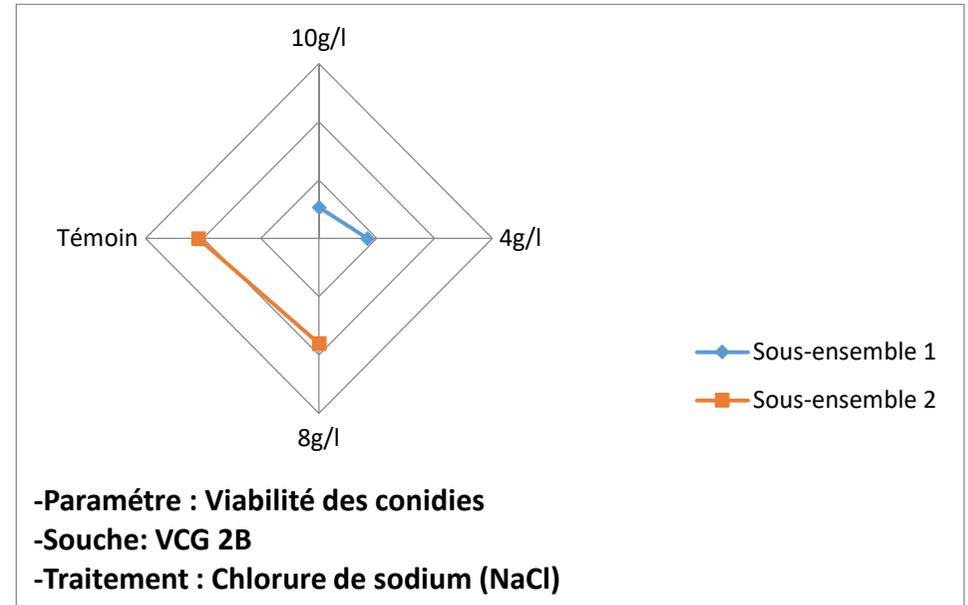
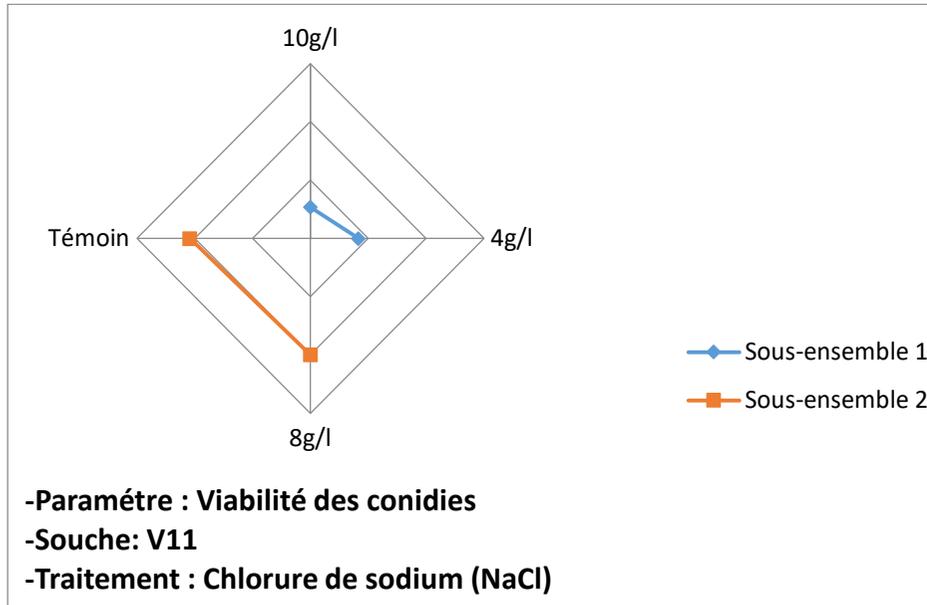
Figure 3. 26 : Effet du chlorure de sodium sur la germination (UFC/ml) des isolats de *Verticillium dahliae*.



**Figure 3. 27 : Effet du chlorure de sodium sur le pourcentage de viabilité (%) des conidies des isolats de *Verticillium dahliae*.**

En termes de rapport germination/sporulation, une concentration de 8g/l de NaCl dans le milieu à un effet neutre sur la conidiogénèse de l'isolat V11 (0,3%). Par contre, à 10g/l on note un pourcentage de viabilité des conidies de l'ordre de 0,01%. Cette concentration en NaCl (10g/l) a le même effet sur la viabilité des conidies de l'isolat V36 que la concentration 4g/l (0,14%), ainsi la dose de 8g/l de NaCl provoque une diminution relative du pourcentage de viabilité (0,07%) (Figure 3.27).

Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.28. Les traitements se regroupent dans deux sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans trois pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 28 : Répartition des groupes homogènes de la viabilité des conidies de *Verticillium dahliae* en fonction de la concentration en NaCl**

### 6.3. Effet des éléments minéraux

Le nombre de conidies produites par les deux isolats V11 et V36 et les souches de références VCG 2B et VCG 4A chez le témoin et dans le milieu additionné avec les différents éléments minéraux ne varie pas. Ce qui implique que les deux isolats V11 et V36 ont le même comportement vis-à-vis des traitements appliqués.

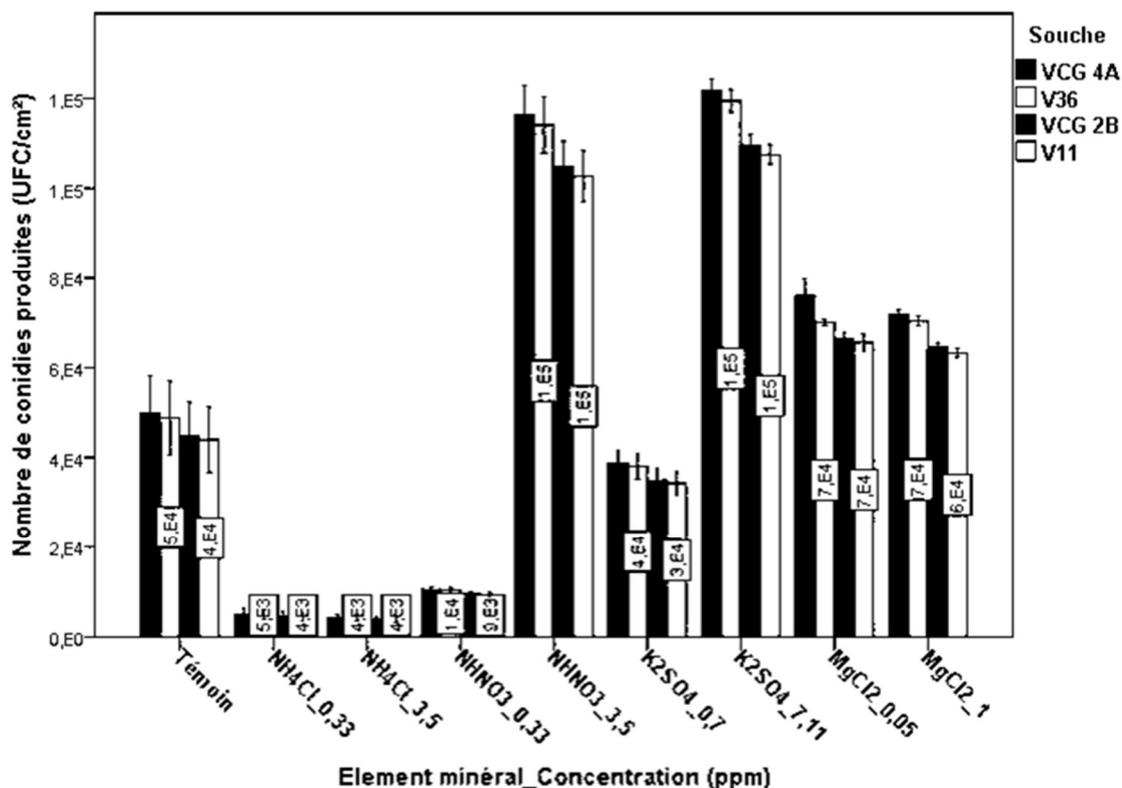


Figure 3. 29 : Effet des éléments minéraux sur la sporulation (UFC/cm<sup>2</sup>) des conidies des isolats de *Verticillium dahliae*.

Chez le lot témoin on note un nombre moyen de conidies produite de l'ordre de  $4 \cdot 10^4$  à  $5 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>. Le sulfate de potassium (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) avec une concentration de 0,7 ppm engendre un résultat sémi-laire ( $3 \cdot 10^4$  à  $4 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>). À une concentration de 7,11 ppm, le sulfate de potassium provoque une augmentation notable du nombre moyen de conidies produites ( $1,2 \cdot 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>). (Figure 3.29)

Cette même augmentation est remarquée lors de l'addition du NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> à 3,5 ppm pour les deux isolats. À une faible dose (0,33 ppm) le NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> engendre la diminution du paramètre étudié ( $9 \cdot 10^3$  à  $1 \cdot 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>).

La diminution est à son maximum chez les isolats cultivés en présence du NH<sub>4</sub>Cl à 0,33 ppm et 3,5 ppm ( $4 \cdot 10^3$ ). Le chlorure de magnésium provoque une

augmentation moyenne du nombre de conidies produites ( $6.10^4$  à  $7.10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>) avec une action similaire entre les deux doses étudiées (0,05 et 1 ppm).

Chez le témoin, la viabilité des conidies est de l'ordre de 318 à 345 UFC/ml. L'addition du NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> à 0,33 ppm provoque la diminution de la viabilité des conidies qui atteint 136,80 UFC/ml (V11) et 152 UFC/ml (V36). (Figure 3.30)

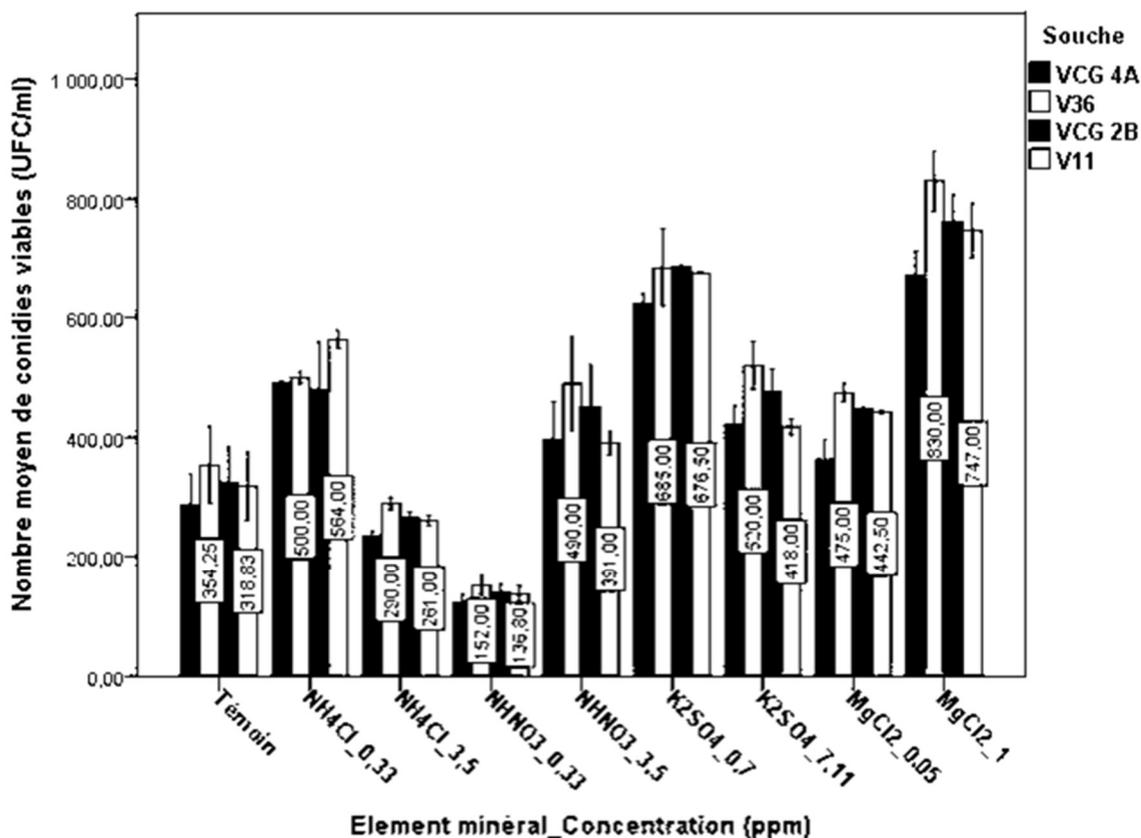


Figure 3. 30 : Effet des éléments minéraux sur la germination (UFC/ml) des conidies des isolats de *Verticillium dahliae*.

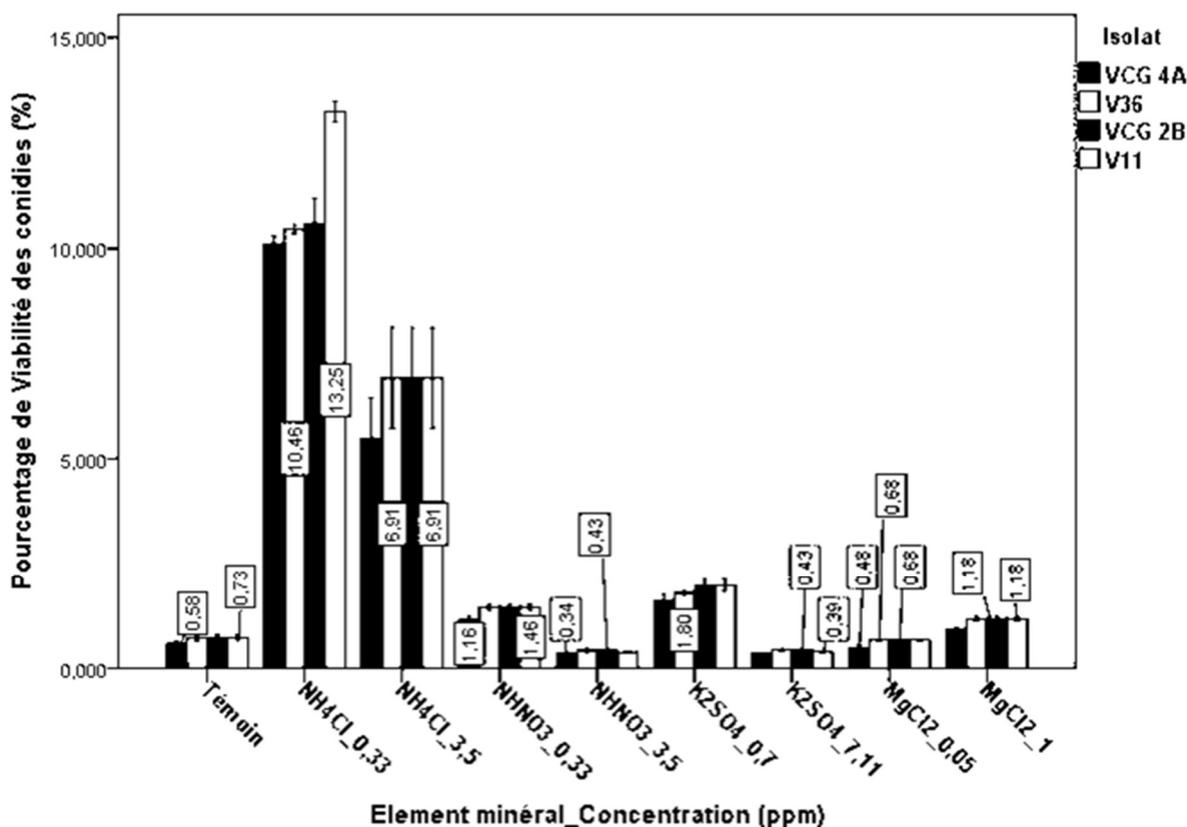
Le NH<sub>4</sub>Cl à 3,5 ppm provoque également la diminution de la viabilité des conidies où l'isolat V11 enregistre une valeur de 261 UFC/ml et V36, 290 UFC/ml

On note que les deux sources d'azote provoquent des comportements différenciés par rapport à l'augmentation des doses. En effet l'augmentation de la dose en NH<sub>4</sub>Cl induit la diminution du nombre des conidies viables tandis que l'augmentation de la dose en NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> augmente la viabilité des conidies par rapport au témoin.

L'addition du sulfate de potassium et du chlorure de magnésium augmente la viabilité des conidies des deux isolats. En effet la valeur la plus élevée est enregistré

chez l'isolat V36 avec une moyenne de 830 UFC/ml dans un milieu additionné de chlorure de magnésium à 1 ppm.

La figure 3.31 est le résultat de l'étude du pourcentage des conidies viables par rapport aux produites nous donne une idée précise sur l'effet des éléments étudiés.



**Figure 3. 31 : Effet des éléments minéraux sur le pourcentage de viabilité (%) des conidies des isolats de *Verticillium dahliae*.**

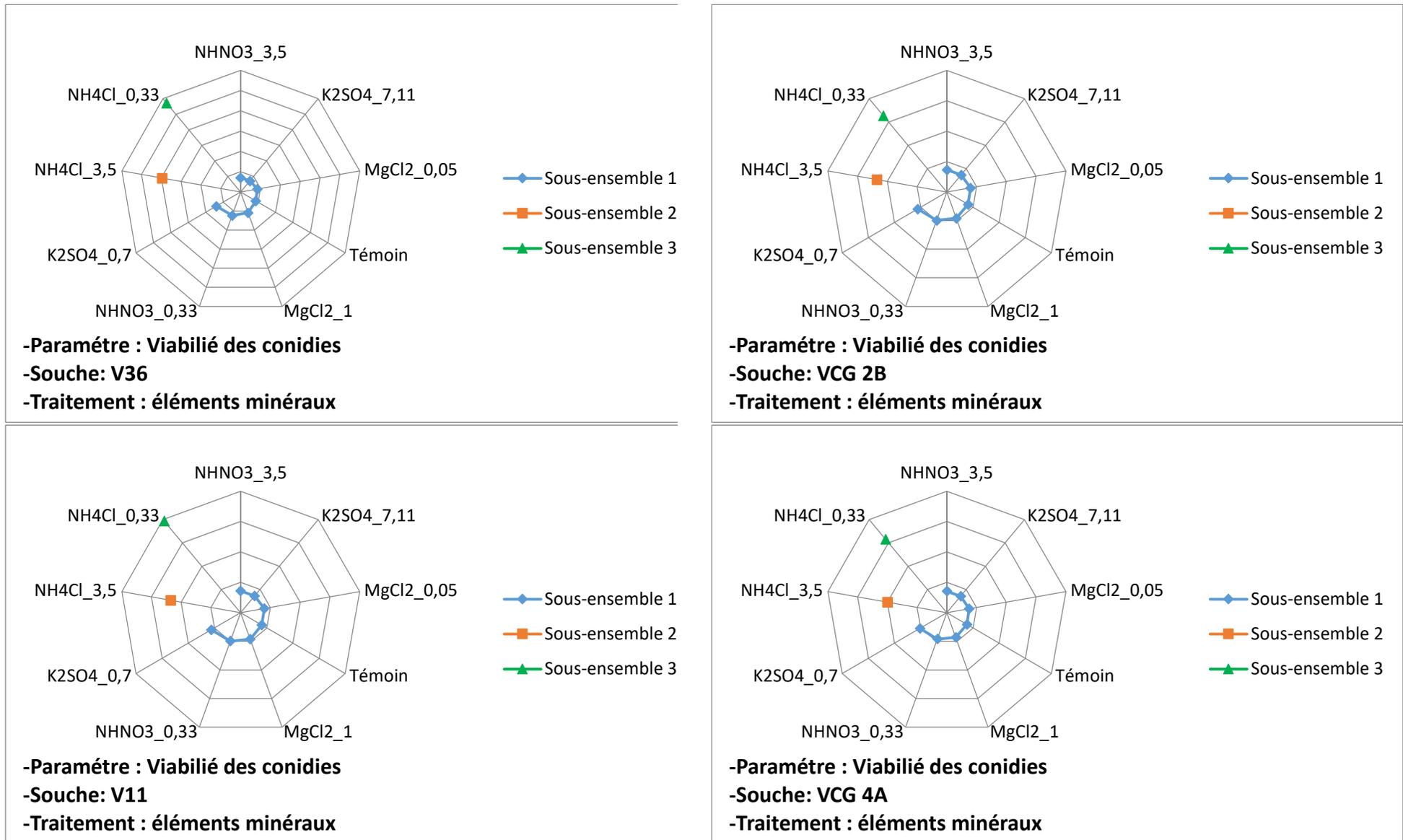
Chez le témoin la viabilité des conidies est de 0,73 % pour V11 et 0,58 % pour V36.

L'addition de 0,33 % de NH<sub>4</sub>Cl induit une augmentation notable de la viabilité qui atteint 13,24 % pour l'isolat V11 et 10,46% pour l'isolat V36.

Il est à noter que le chlorure de magnésium à 1 ppm provoque l'augmentation de la viabilité des conidies, cela dit le pourcentage des conidies viables par rapport au produit et faible est de l'ordre de 18 % les deux Isolats.

Le NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> à 3,5 ppm et le K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 7,11 ppm induisent la diminution du pourcentage par rapport au témoin (0,43 à 0,34 %).

Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3. 32. Les traitements se regroupent dans trois sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans trois également pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 32 : Répartition de la viabilité des conidies de *Verticillium dahliae* en fonction des traitements avec les éléments minéraux**

## 7. Effet des traitements sur les activités enzymatiques des isolats de *Verticillium dahliae*.

### 7.1. Effet du pH sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase et $\beta$ -1,4 glucosidase

Dans un milieu témoin où le pH est neutre (6,8) on note que l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase de l'isolat V11 (13,91  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ ) est nettement supérieure à celle de V36 (7,84  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ ) (Figure 3.33)

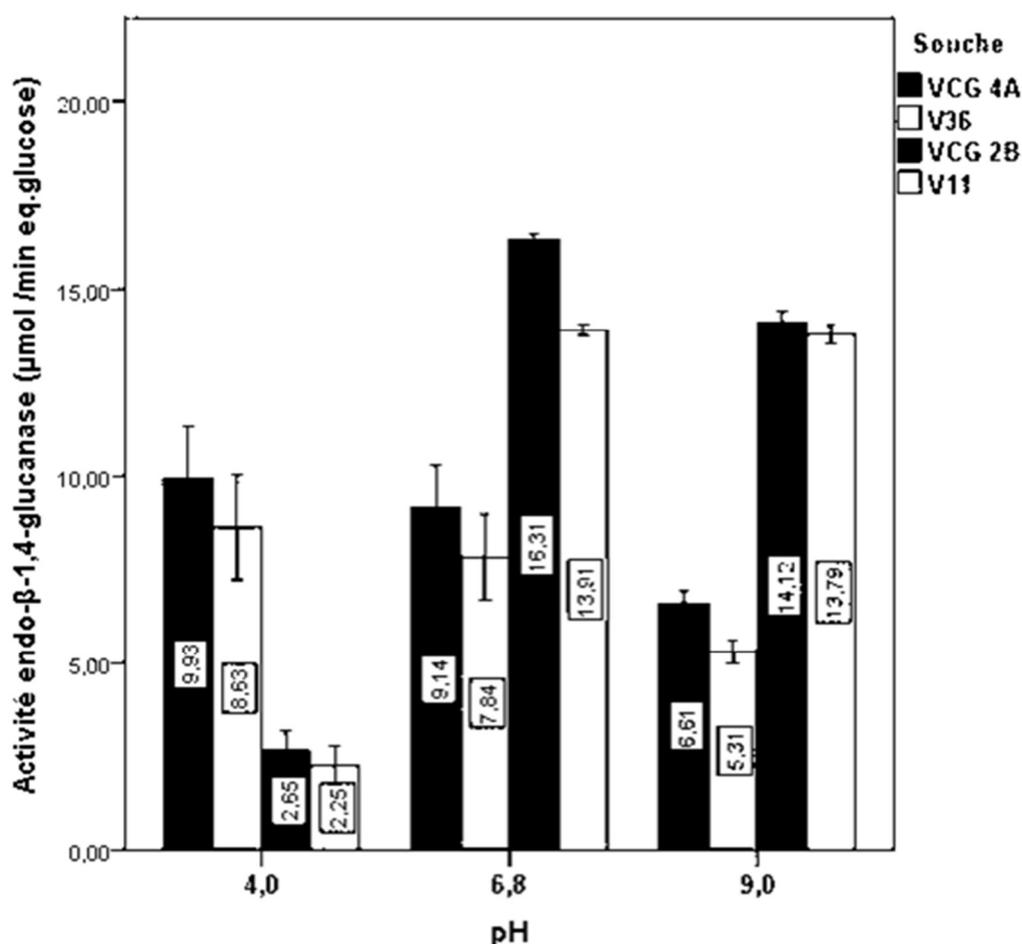


Figure 3. 33: Effet du pH du milieu sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase des isolats de *Verticillium dahliae*

L'augmentation du pH du milieu à 9 provoque une légère diminution de l'activité glucanase pour V36 (5,31  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ ). Dans un milieu acide (pH = 4) l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase est nettement diminué chez V11 et atteints 2,25  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ . Cette activité ne varie pas de manière significative chez V36.

Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3.34. Les traitements se regroupent dans deux sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans un seul pour V36 et VCG 4A.

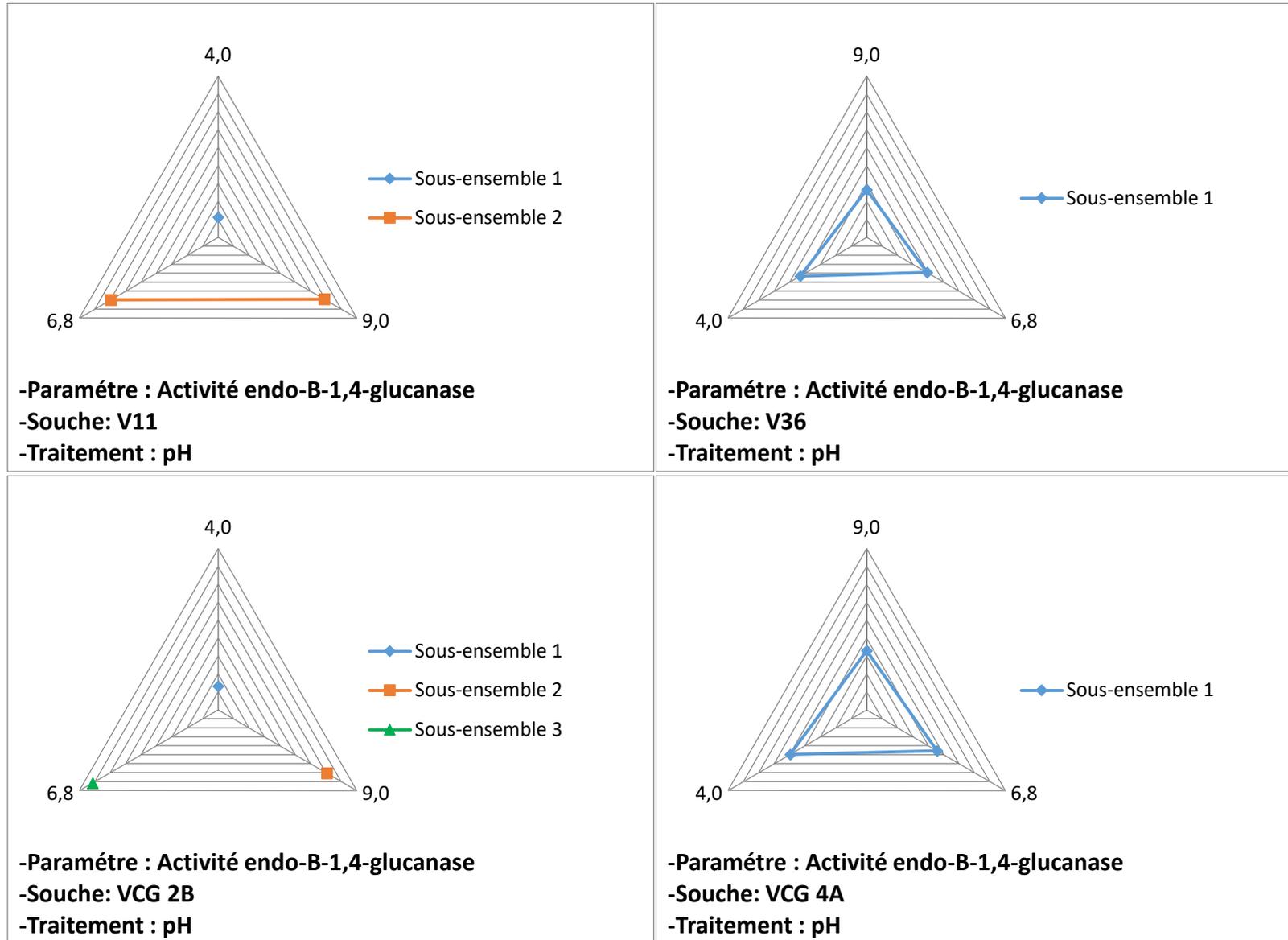
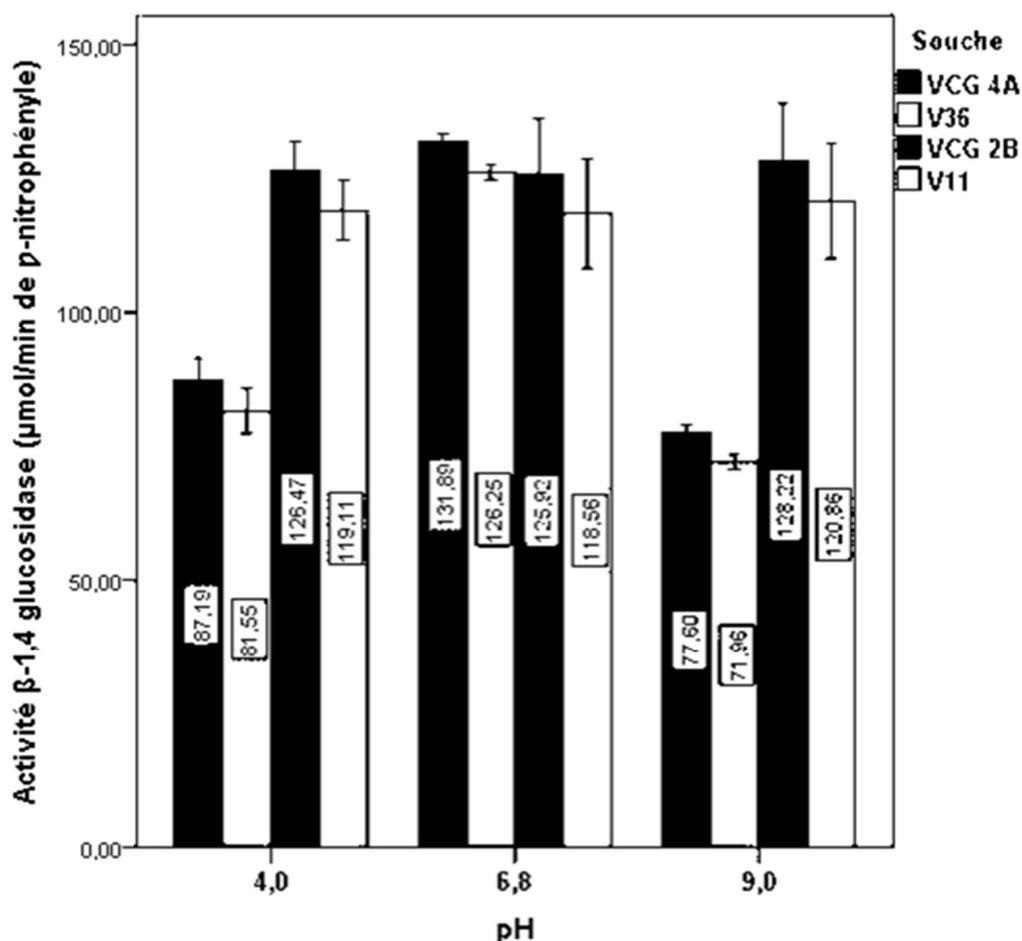


Figure 3. 34 : Répartition des groupes homogènes de l'activité endo-B-1,4-glucanase de *Verticillium dahliae* en fonction du pH

L'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase de L'isolat V11 ne semble pas être affectée variation du pH. Elle est de l'ordre de 118,56  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de p-nitrophényle dans un milieu neutre et 120,86  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de p-nitrophényle dans un milieu basique tandis que dans le milieu acide elle est de 119,11  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de p-nitrophényle. (Figure 3.35)



**Figure 3. 35: Effet du pH du milieu sur l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase des isolats de *Verticillium dahliae***

L'isolat V36 réagit différemment de l'isolat V11. La valeur de l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase est de 126,25  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de p-nitrophényle dans le milieu témoin, elle diminue avec la diminution du pH (4) (81,55  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de p-nitrophényle). La valeur la plus faible de l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase de V36 est enregistrée dans le milieu basique où elle atteint 71,96  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de p-nitrophényle.

Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.36. Les traitements se regroupent dans un seul sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans deux pour V36 et VCG 4A.

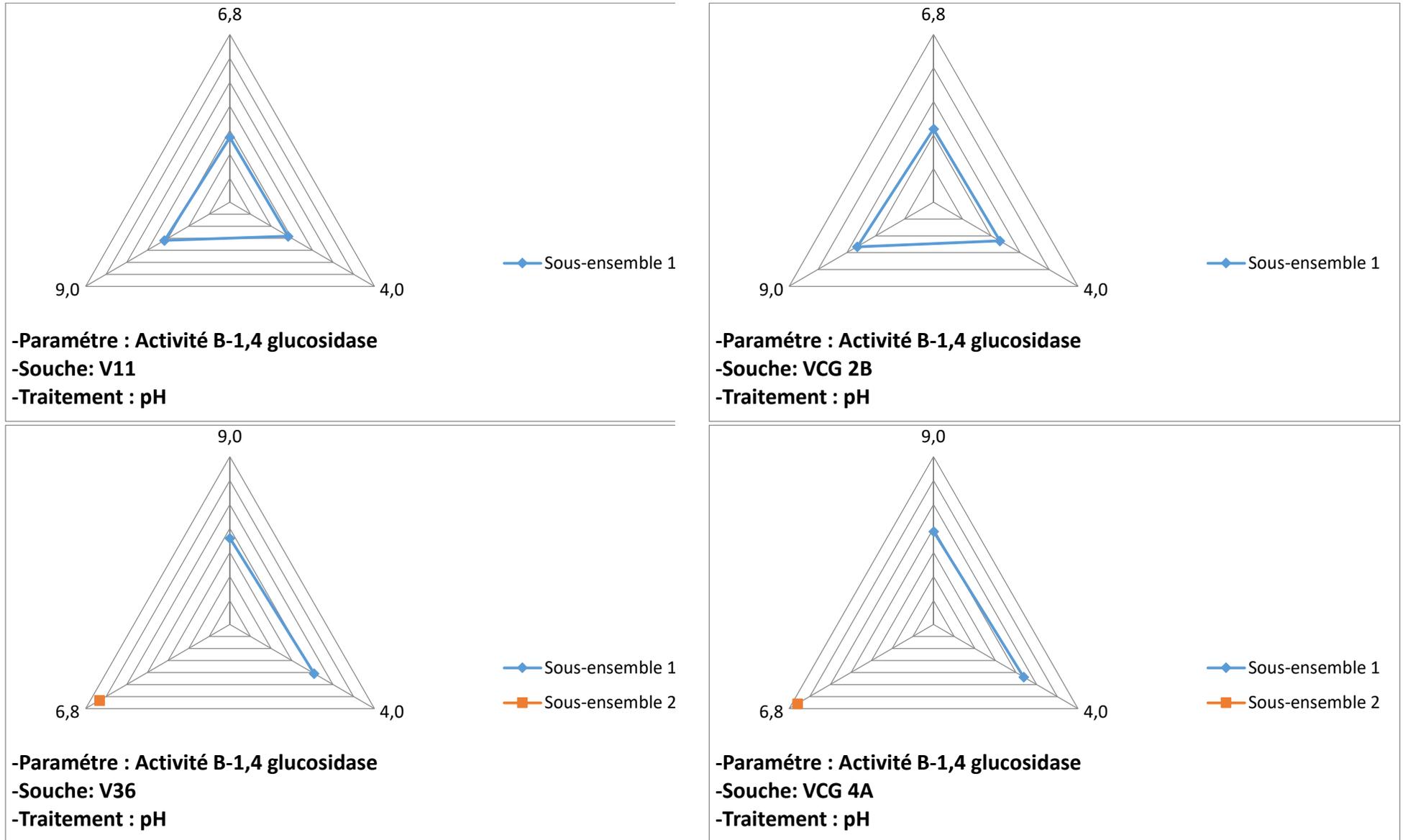


Figure 3. 36: Répartition des groupes homogènes de l'activité B-1,4 glucosidase de *Verticillium dahliae* en fonction du pH

## 7.2. Effet du NaCl sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase et $\beta$ -1,4 glucosidase

L'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase dans le milieu témoin chez V11 et de l'ordre de 13,91  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ . L'addition des doses de NaCl (4, 8 et 10 g/l) dans le milieu ne provoque pas une variabilité significative de cette activité (Figure 3.37).

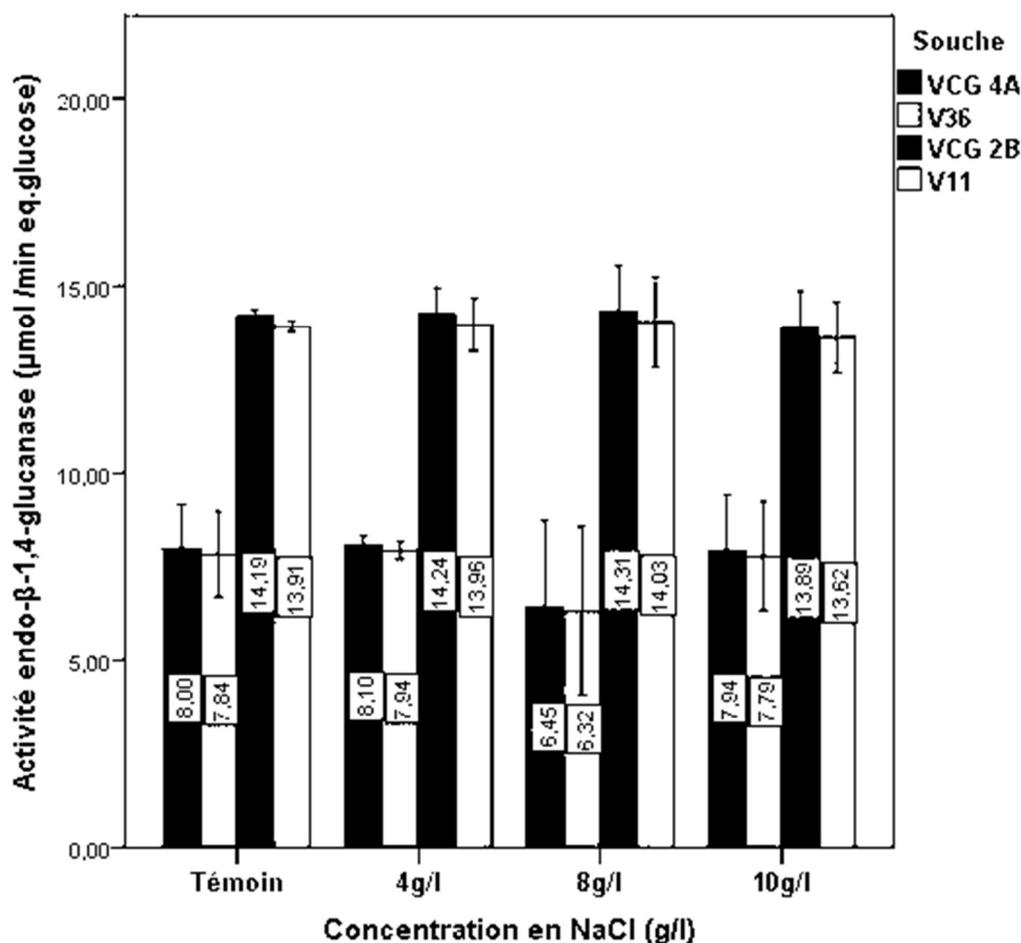
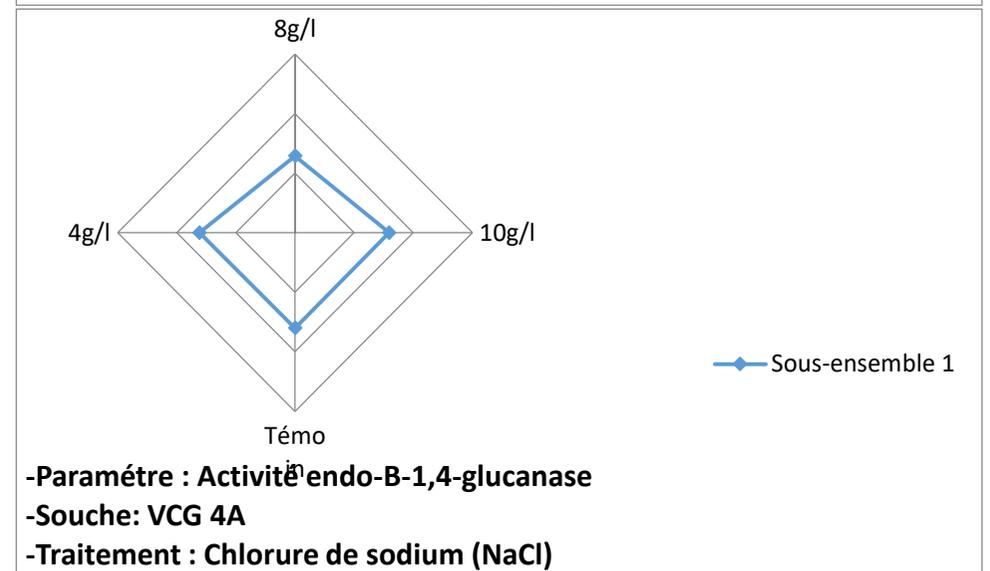
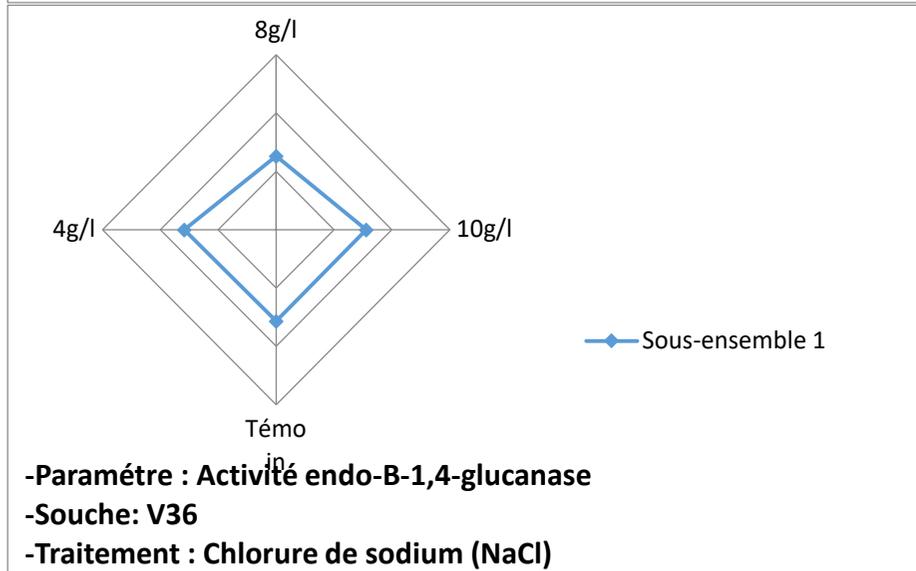
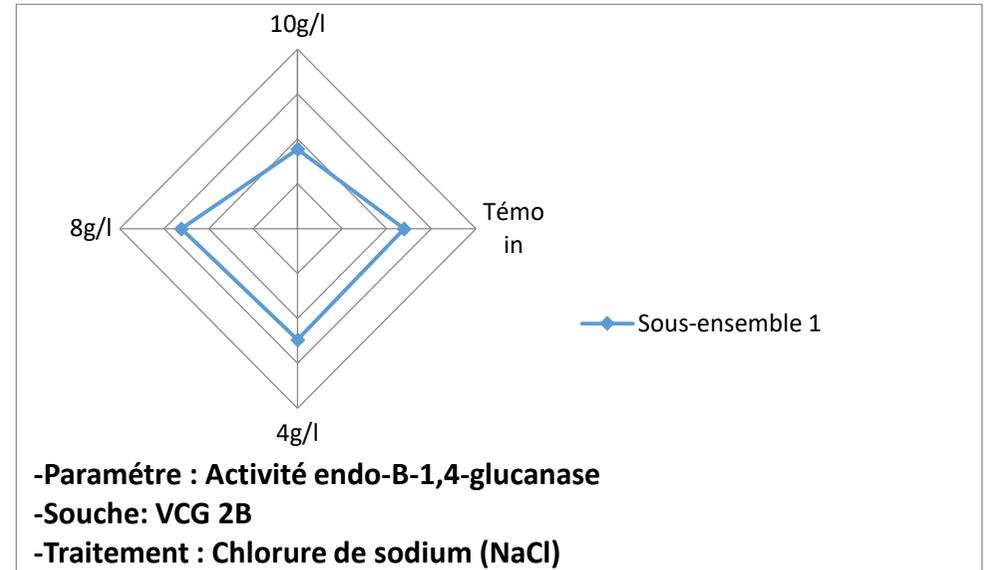
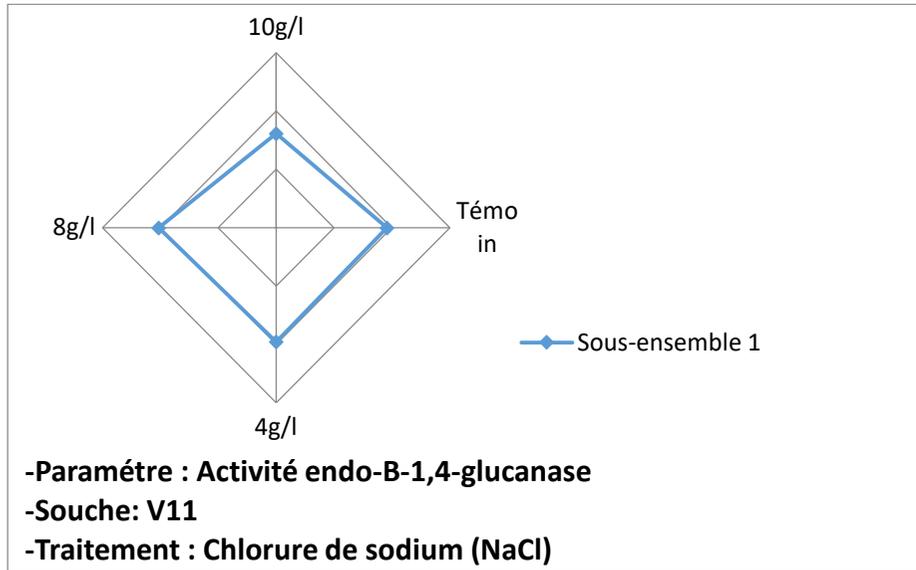
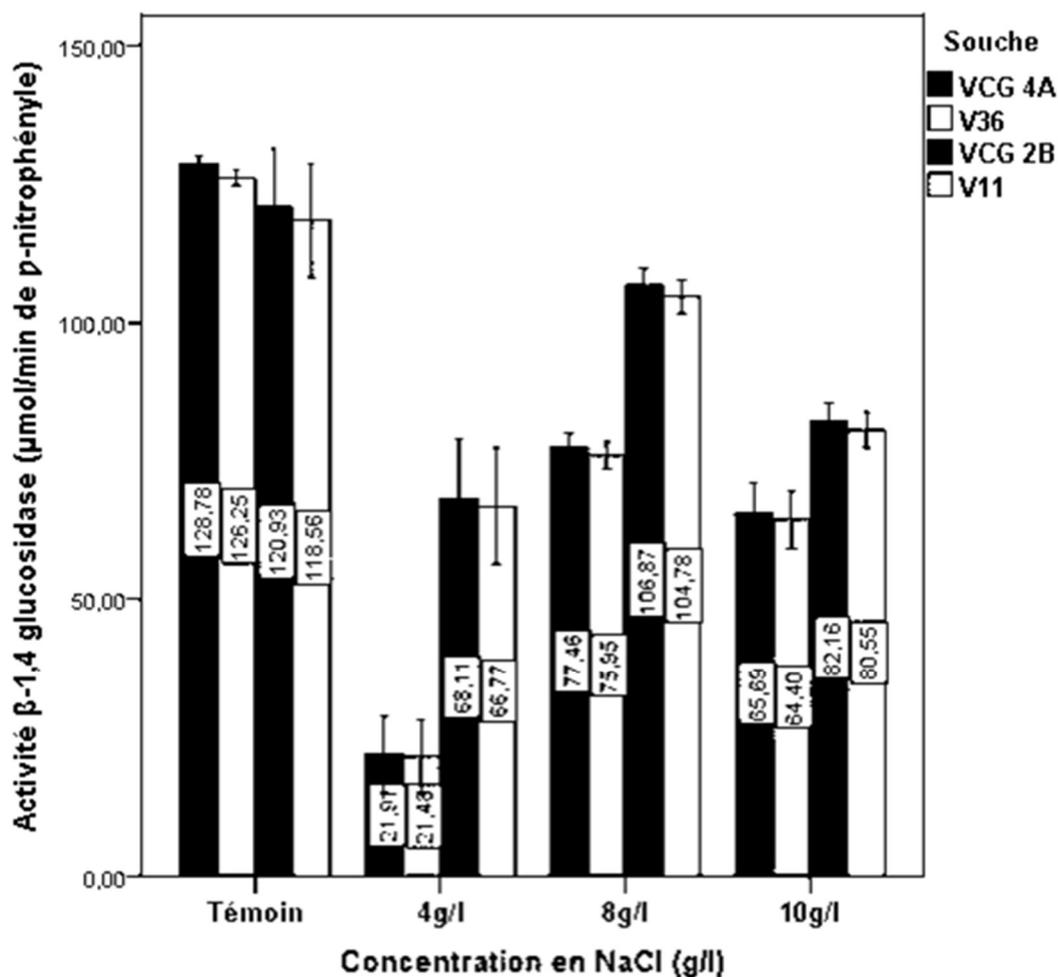


Figure 3. 37: Effet du NaCl sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase des isolats de *Verticillium dahliae*.

L'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase de L'isolat V36 est nettement inférieure à celle de l'isolant V11. En effet, Chez le témoin elle est de l'ordre de 7,84  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ . Une diminution de cette activité est notée avec l'addition de 8 g/l de NaCl dans le milieu (6,32  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ ). Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3.38. Les traitements se regroupent dans un sous-ensemble pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans un autre pour V36 et VCG 4A.



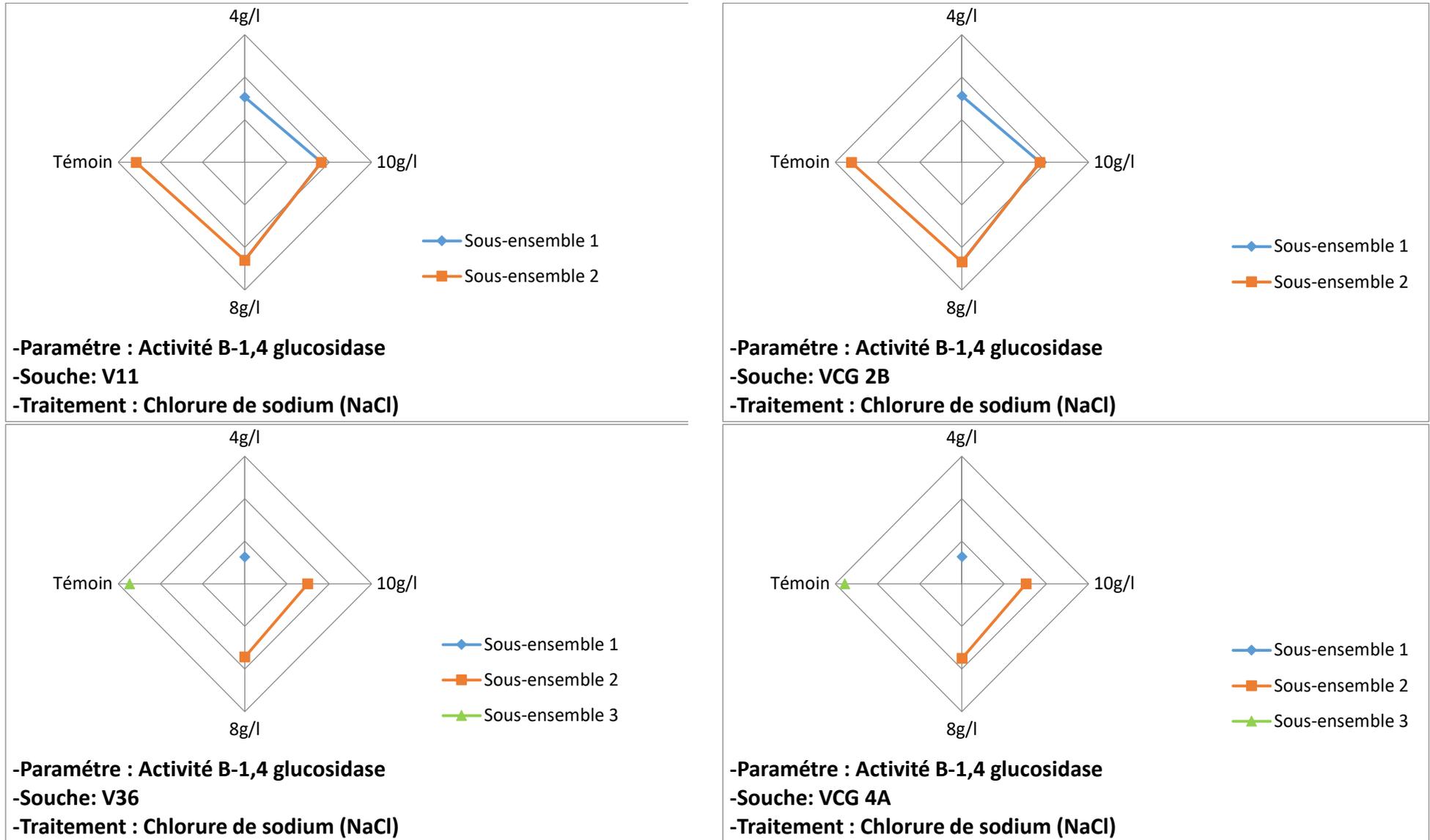
**Figure 3. 38 : Répartition des groupes homogènes de l'activité endo-B-1,4-glucanase de *Verticillium dahliae* en fonction de la concentration en NaCl**



**Figure 3. 39. Effet du NaCl sur l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase des isolats de *Verticillium dahliae***

De manière générale l'addition du chlorure de sodium dans le milieu provoque une diminution de l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase des deux isolats. (Figure 39)

En effet dans un milieu témoin (0 g/l NaCl) l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase est de l'ordre de 118,56  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle pour V11 et 126,25  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle pour V36. À 4 g/l, on enregistre la plus faible valeur de cette activité (21,48  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle) chez V36 et 66,77  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle chez V11. La dose de 8g/l de NaCl semble avoir un effet stimulateur de cette activité par rapport aux doses de 4 et 10 g/l. Ceci est traduit par l'augmentation de l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase pour V11 (104,78  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle) et V36 (75,95  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle). Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.4. Les traitements se regroupent dans deux sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans trois pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 40 : Répartition des groupes homogènes de l'activité B-1,4 glucosidase de *Verticillium dahliae* en fonction de la concentration en NaCl**

### 7.3. Effet des éléments minéraux sur les activités enzymatiques

L'activité endo- $\beta$ -1,4-gluconase dans le milieu témoin sans addition d'éléments minéraux est de l'ordre de 0,11  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$  pour l'isolat V11 et 0,07  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$  pour V36. (Figure 3.41)

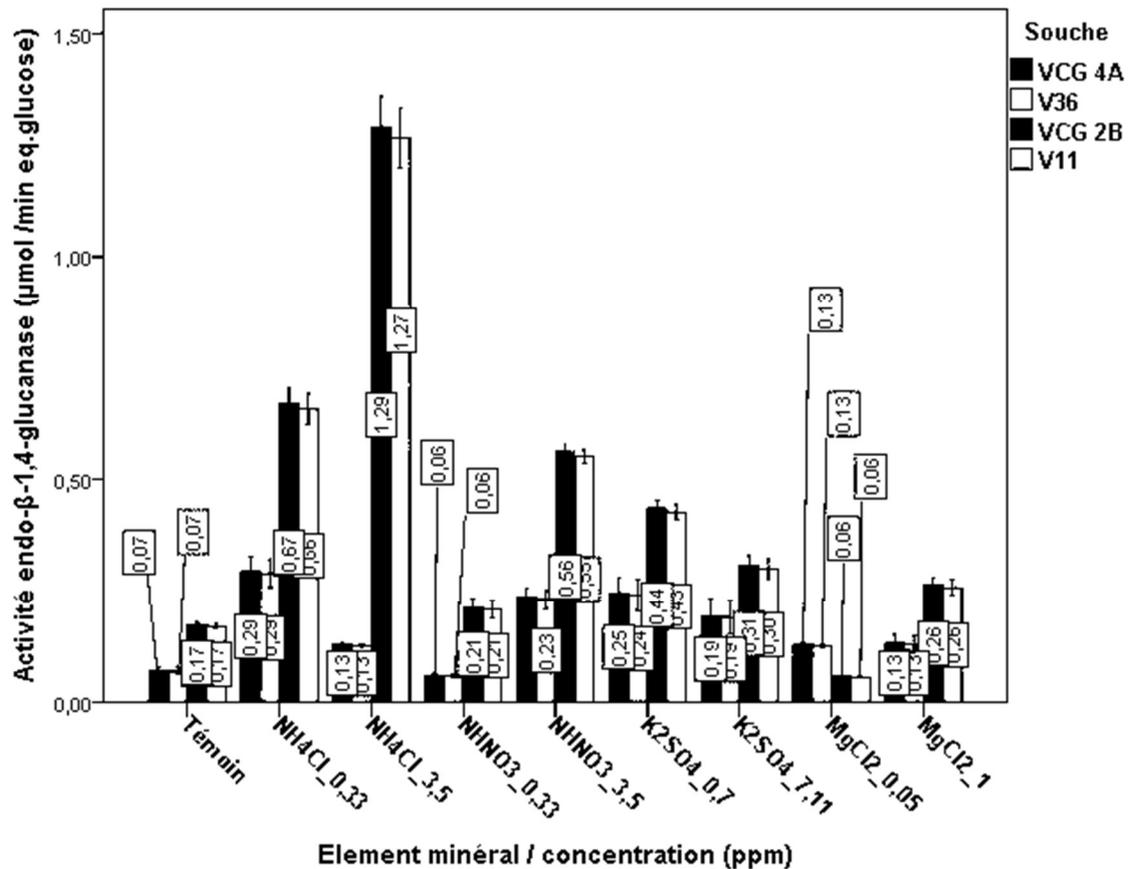


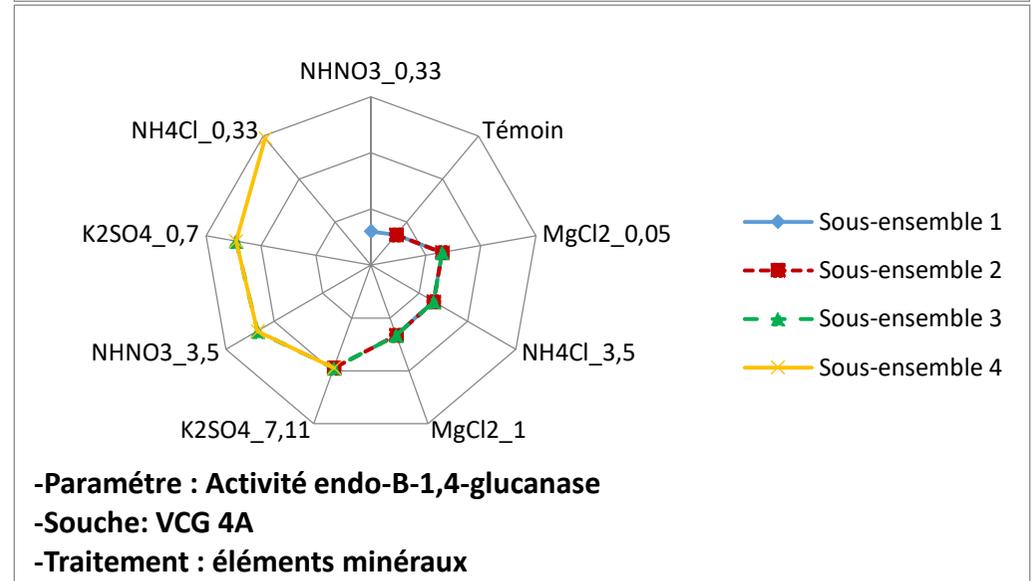
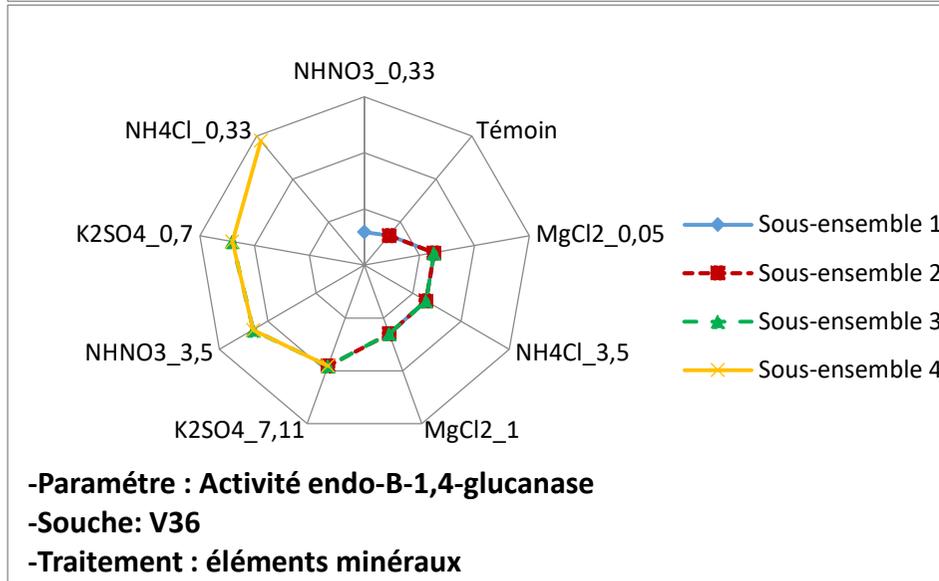
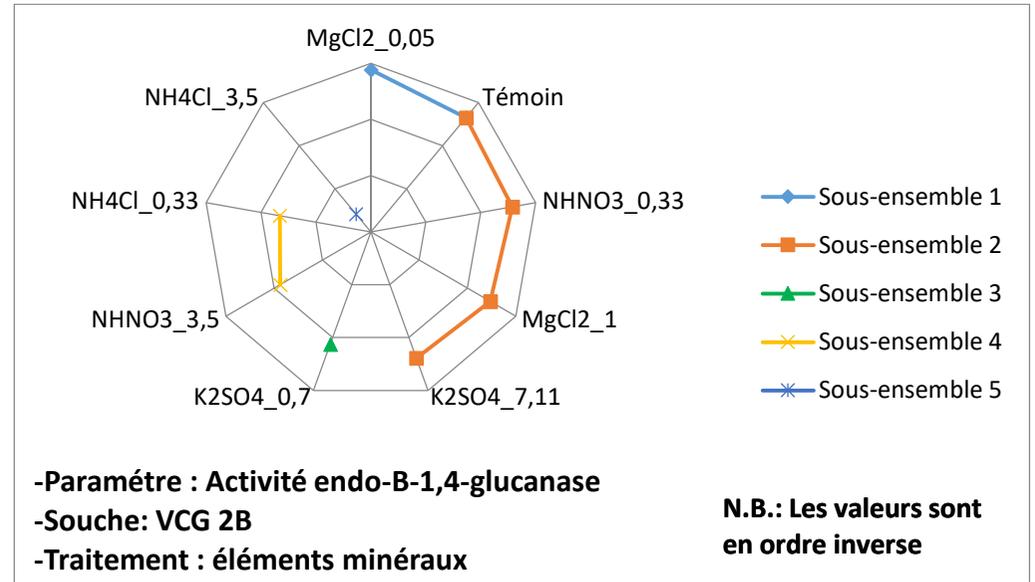
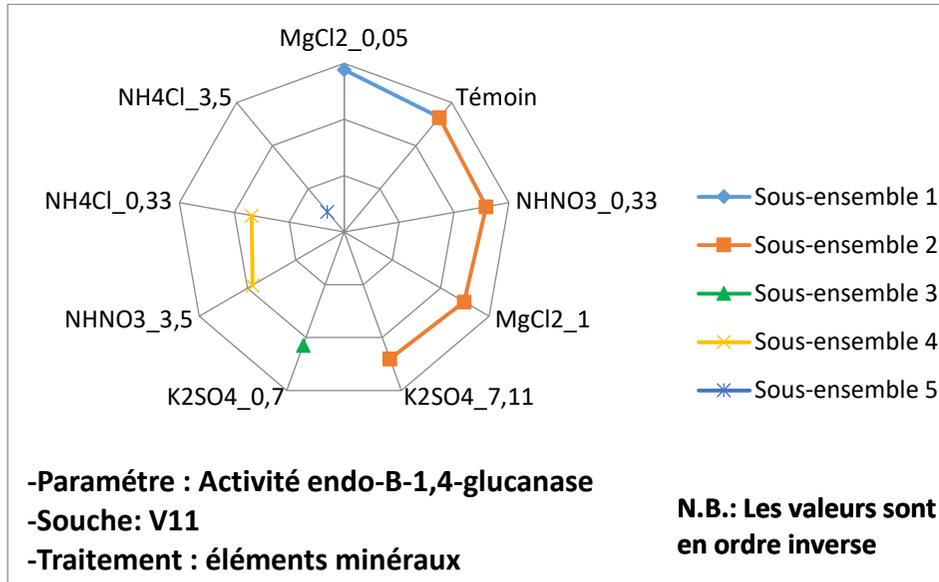
Figure 3. 41: Effet des éléments minéraux sur l'activité endo- $\beta$ -1,4-gluconase des isolats de *Verticillium dahliae*

L'incorporation des éléments minéraux avec différentes doses engendre l'augmentation de l'activité endo- $\beta$ -1,4-gluconase.

L'azote, sous forme de NH<sub>4</sub>Cl à 0,33 ppm et 3,5 ppm provoque une augmentation très significative de l'activité gluconase chez V11. Elle est de l'ordre de 0,67  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$  à 0,33 ppm et 1, 27  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$  à 3,5 ppm. De manière générale V11 enregistre la plus grande valeur de l'activité gluconase peu importe le milieu et peu importe les conditions de l'expérience.

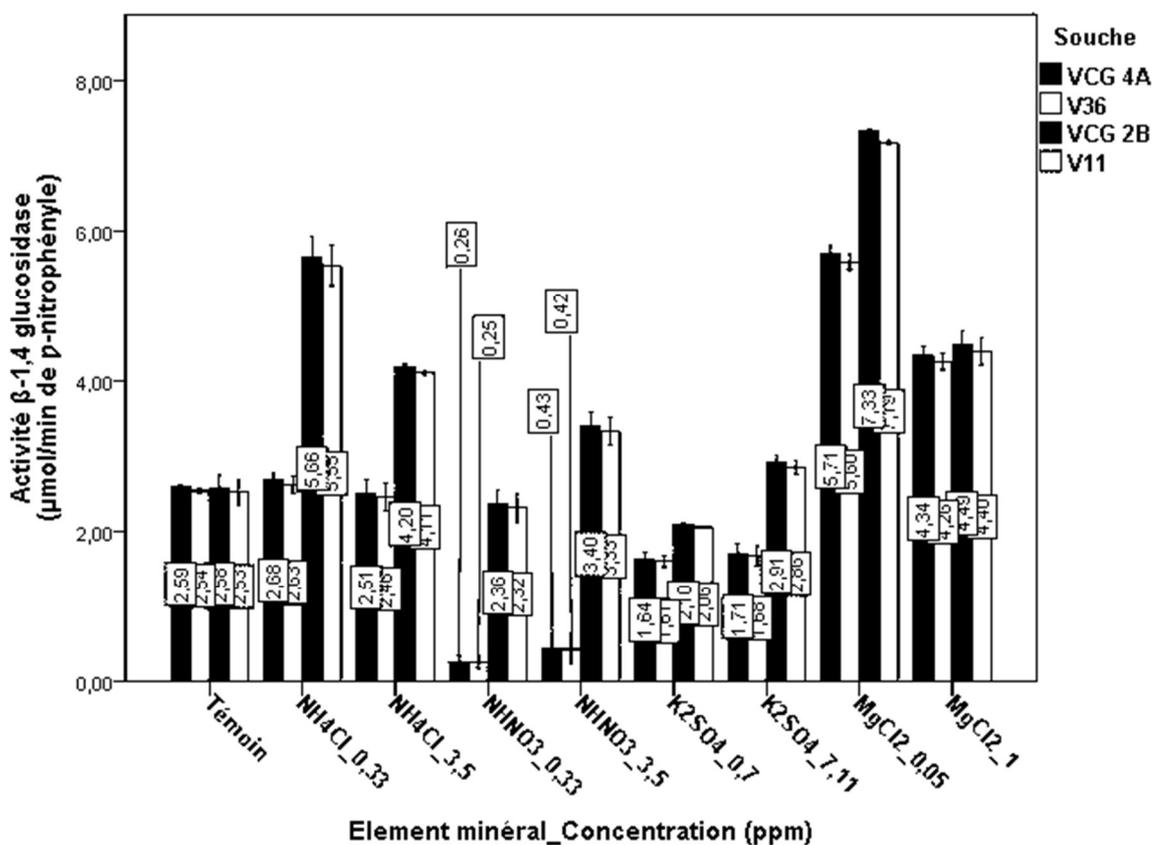
Le chlorure de magnésium à 0,05 ppm provoque une diminution plus ou moins significative par rapport au témoin (0,06  $\mu\text{mol} / \text{min eq. glucose}$ ). Le  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  à 0,33 ppm a le même effet pour l'isolat V36.

Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3.42. Les traitements se regroupent dans cinq sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans quatre pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 42 : Répartition de l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase de *Verticillium dahliae* en fonction des traitements avec les éléments minéraux**

Dans le milieu témoin l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase des deux isolats semble être identique ; elle est de l'ordre de 2,53  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle pour le V11 et 2,54 pour V36 (Figure 3.43)



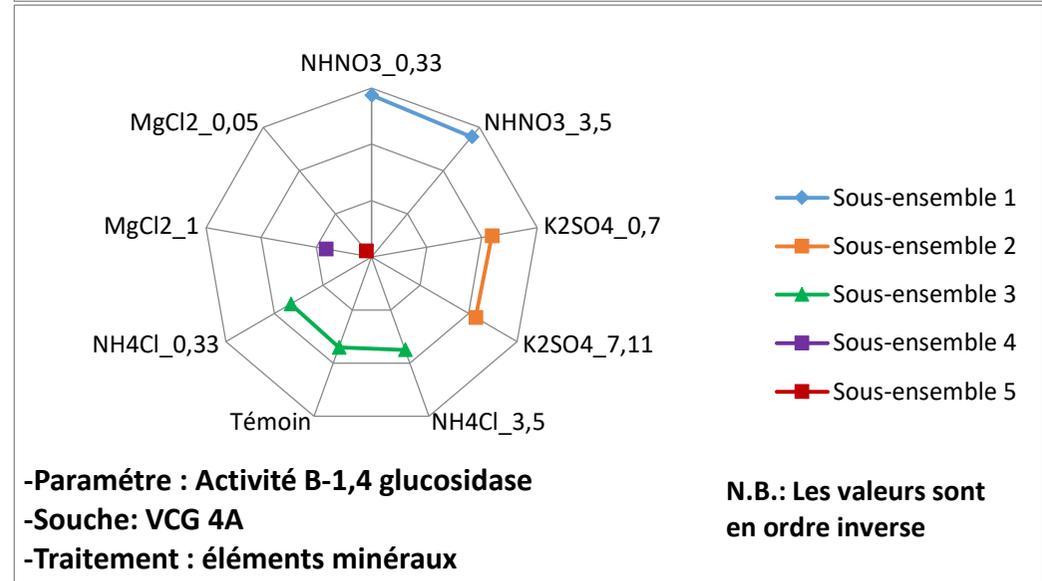
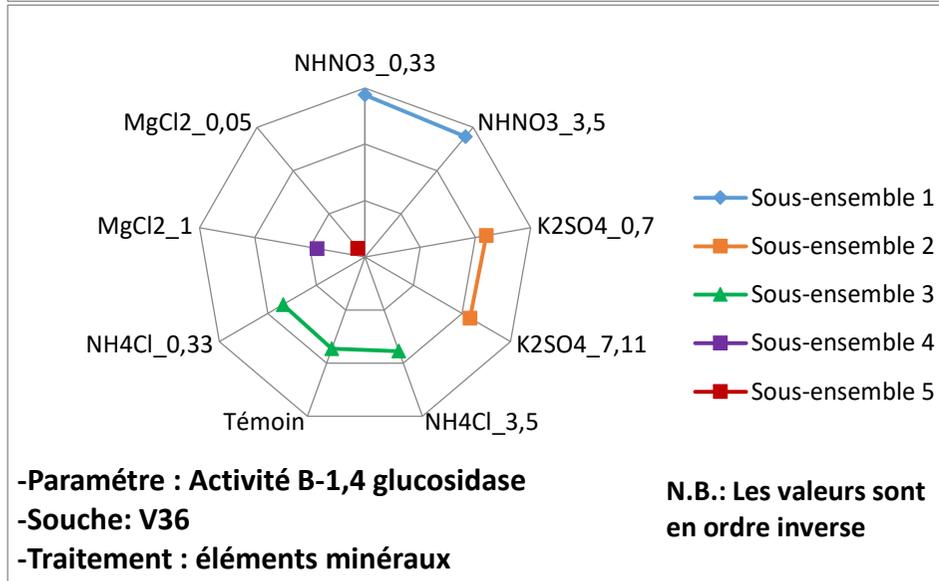
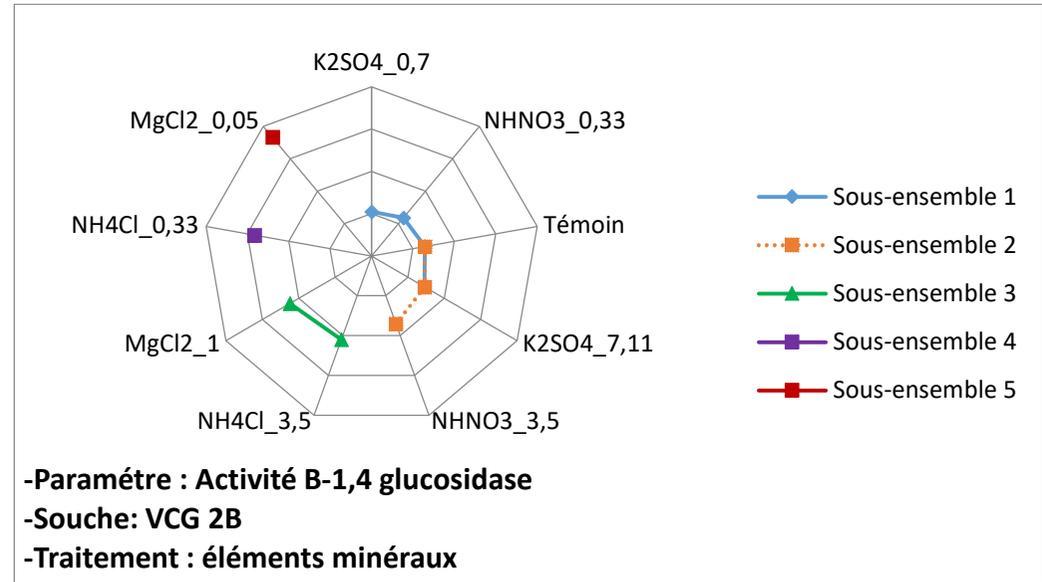
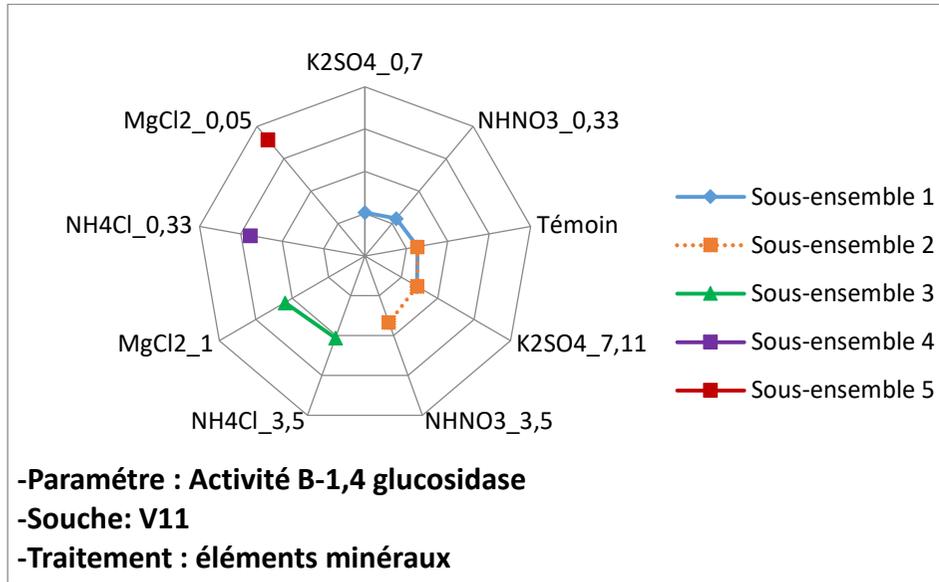
**Figure 3. 43: Effet des éléments minéraux sur l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase des isolats de *Verticillium dahliae***

Chez l'isolat V11, le  $\text{NH}_4\text{Cl}$  à 0,33 ppm et 3,5 ppm ainsi que le  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  à 3,5 ppm engendre une augmentation de l'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase. Cette augmentation est accentuée par l'ajout du chlorure de magnésium à 0,05 ppm où elle atteint 7,19  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle. Le chlorure de magnésium à 1 ppm augmente également l'activité glucosidase pour le V11. Le  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  à 0,33 ppm ainsi que le  $\text{K}_2\text{SO}_4$  à 0,7 ppm contribuent à la diminution de l'activité glucosidase de l'isolat V11

L'activité  $\beta$ -1,4 glucosidase de l'isolat V36 diminue avec l'addition de 0,33 ppm et 0,5 ppm du  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (0,25 et 0,42  $\mu\text{mol}/\text{min}$  de *p*-nitrophényle respectivement). Le sulfate de potassium provoque la diminution de manière moyenne l'activité glucosidase de cet isolat.

Tout comme l'isolat V11, l'isolat V36 voit l'activité enzymatique  $\beta$ -1,4 glucosidase augmenter avec l'addition du chlorure de magnésium à 0,05 et 1 ppm (5,60 et 4,26).

Les groupes homogènes obtenus sont illustrés par la Figure 3.44. Les traitements se regroupent dans cinq sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans cinq pour V36 et VCG 4A.

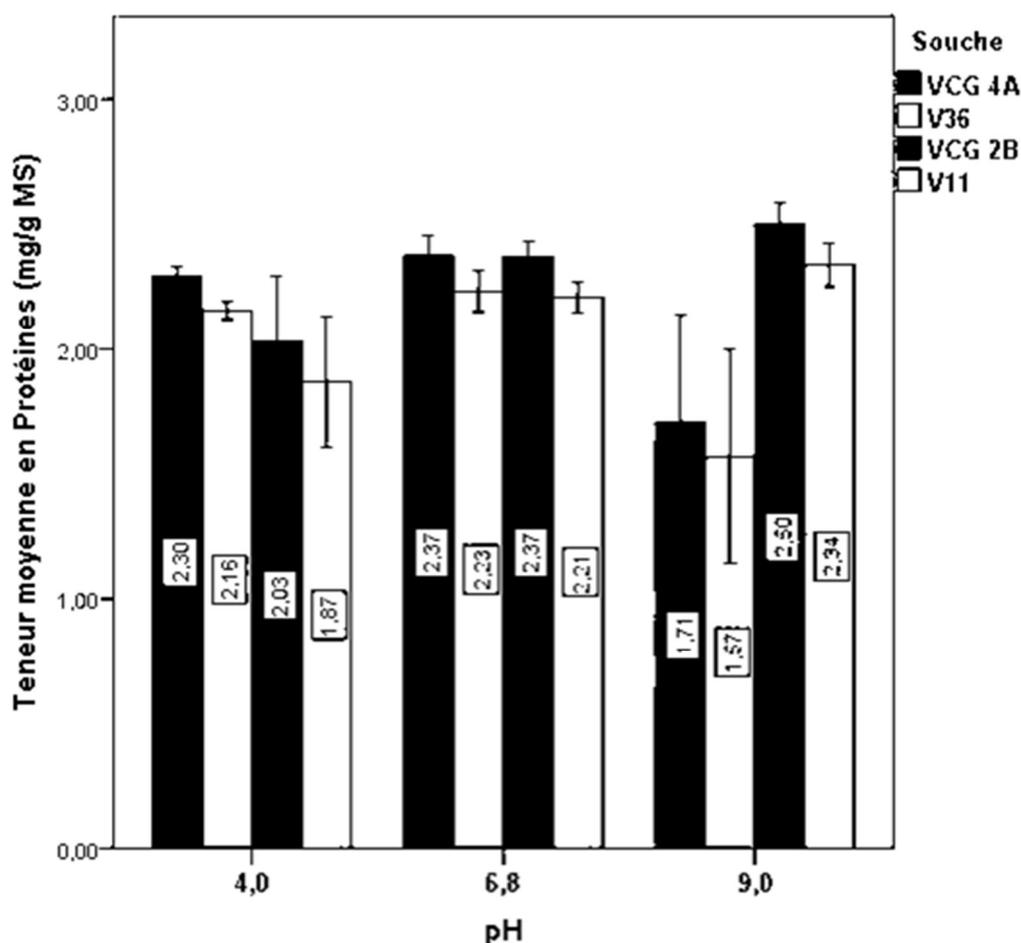


**Figure 3. 44: Répartition de l'activité  $\beta$ -1,4-glucosidase de *Verticillium dahliae* en fonction des traitements avec les éléments minéraux**

## 8. Effet des traitements sur la teneur en protéines secrétés par des isolats de *Verticillium dahliae*.

### 8.1. Effet du pH

Dans le milieu témoin la teneur protéines des deux isolats est de l'ordre de 2,21 mg/g MS (V11) et 2,23 mg/g MS (V36) (Figure 3.45)



**Figure 3. 45: Effet du pH sur la teneur en protéines secrétés dans le milieu par les deux isolats de *Verticillium dahliae***

La diminution du pH provoque une légère diminution de la teneur en protéines chez V11 (1,87 mg/g MS) tandis que l'augmentation du pH provoque la diminution de la teneur du milieu en protéine chez V36 (1,57 mg/g MS). Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.46. Les traitements se regroupent dans un seul sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et dans un autre pour V36 et VCG 4A.

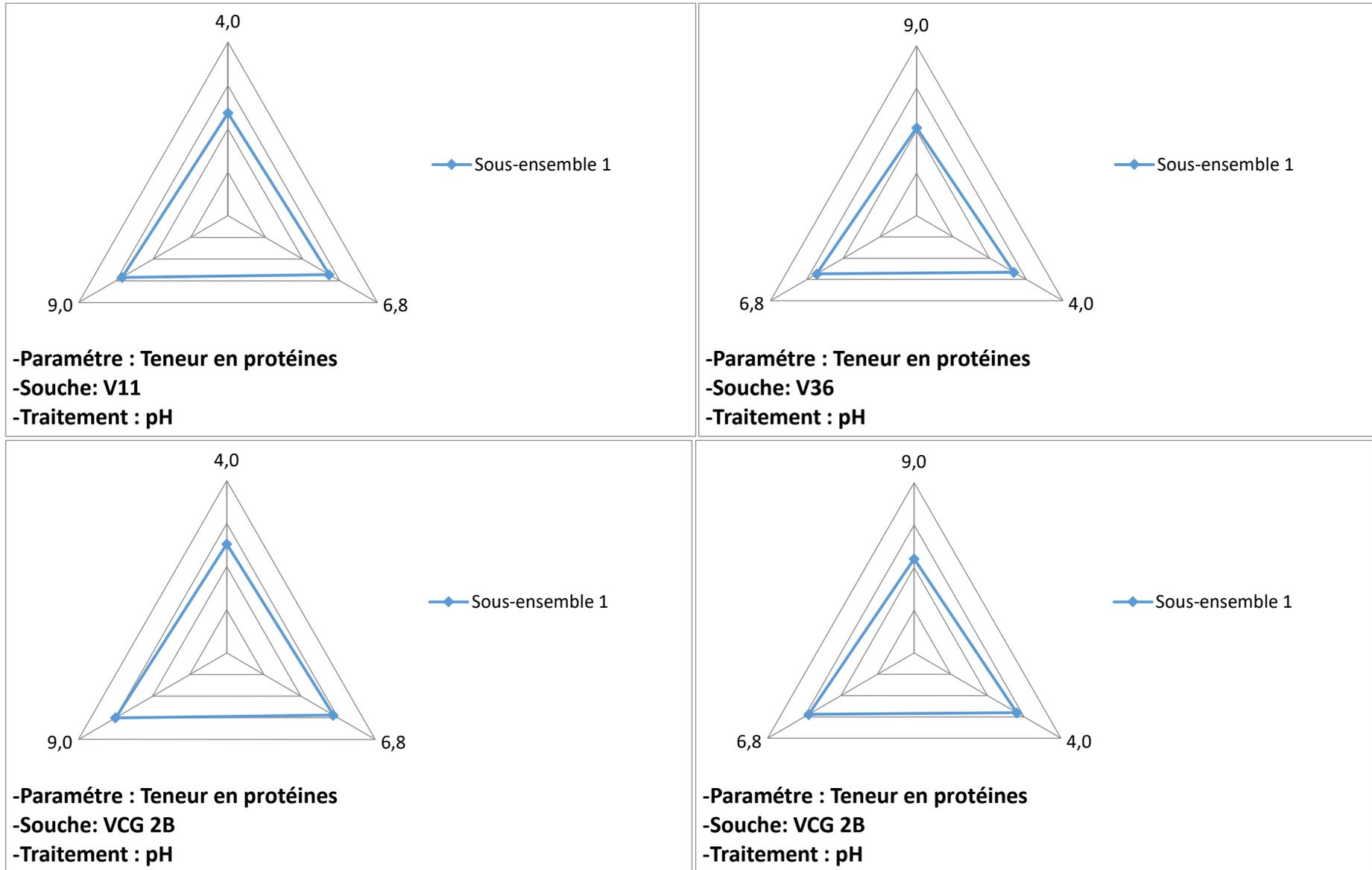


Figure 3. 46 : Répartition des groupes homogènes de la teneur en protéines de *Verticillium dahliae* en fonction du pH

## 8.2. Effet du NaCl

La teneur en protéines dans le milieu des deux isolats ne semble pas être affectée par les conditions de l'expérimentation. Cela dit ; on note une légère augmentation de la teneur en protéine avec l'addition de 8 g /l pour V11 où elle est de l'ordre de 2,33 mg /g MS ce qui est légèrement élevé par rapport au témoin (2,21 mg/g MS) (Figure 3.47)

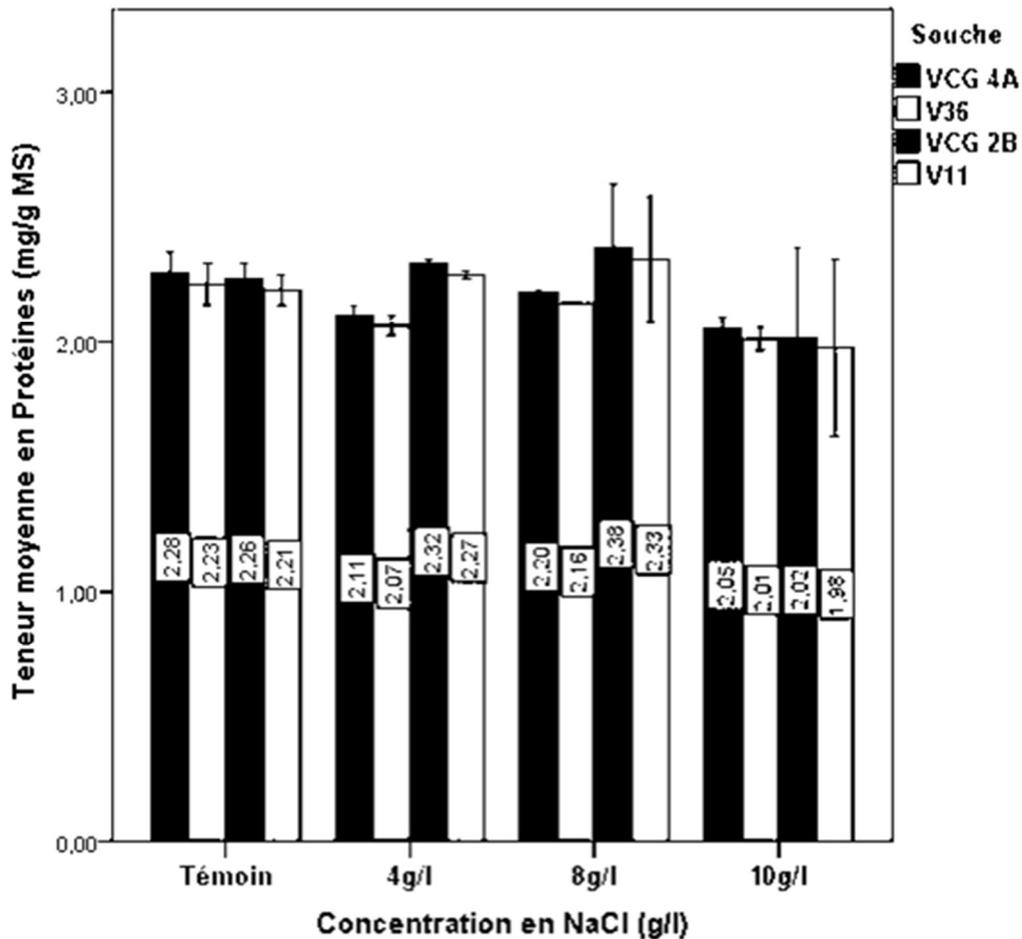
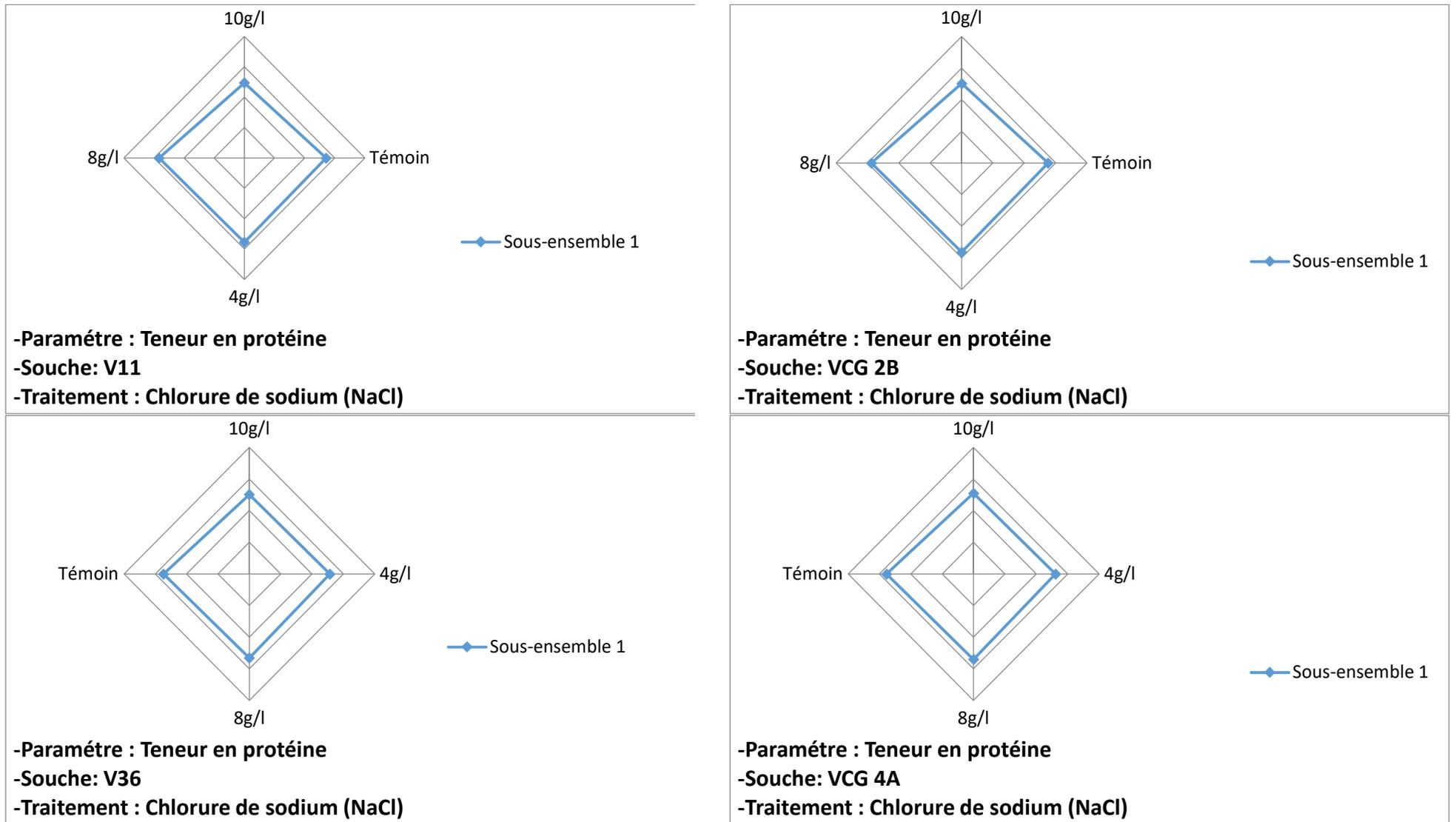


Figure 3. 47 : Effet du NaCl sur la teneur en protéines secrétés dans le milieu par les deux isolats de *Verticillium dahliae*

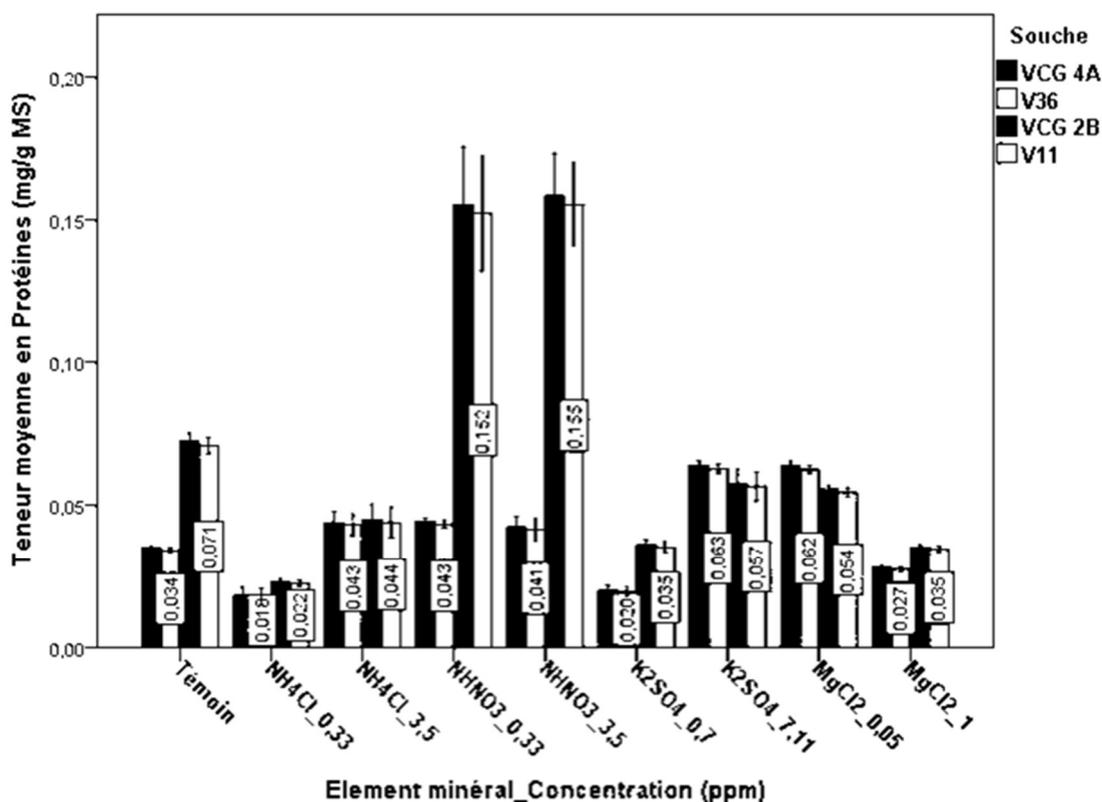
Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.48. Les traitements se regroupent dans un sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et un autre pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 48: Répartition des groupes homogènes de la teneur en protéines de *Verticillium dahliae* en fonction de la concentration en NaCl**

### 8.3. Effet des éléments minéraux

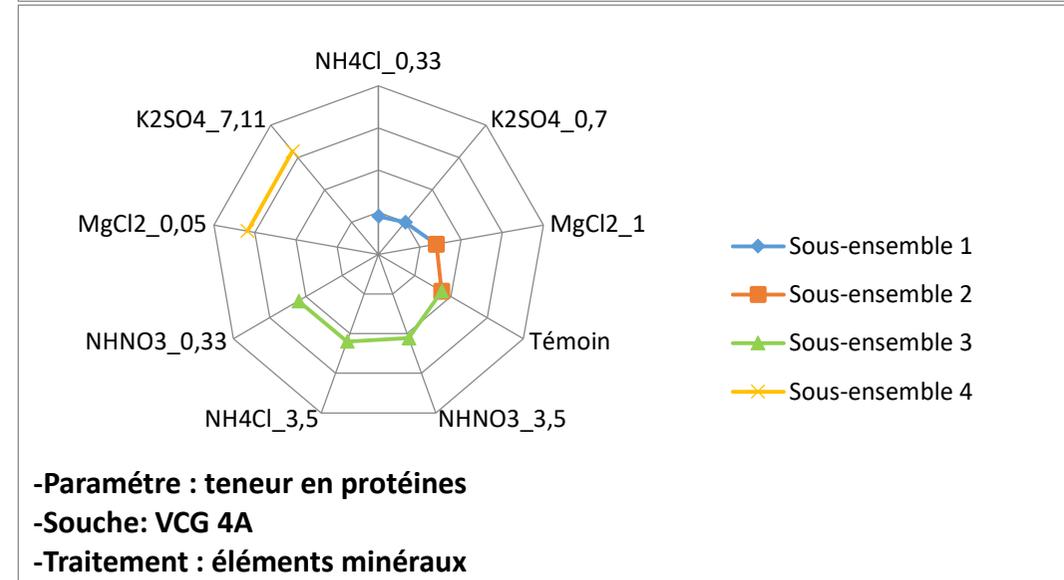
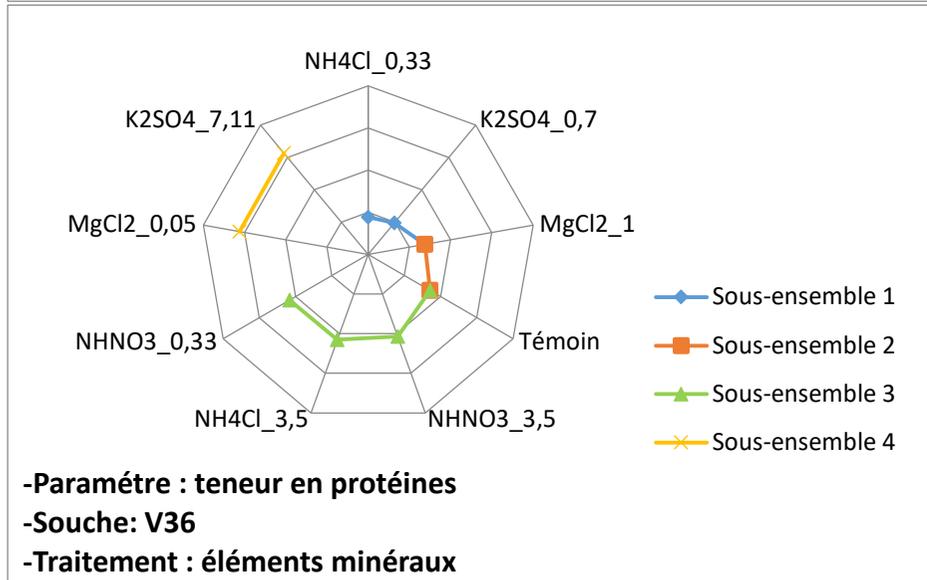
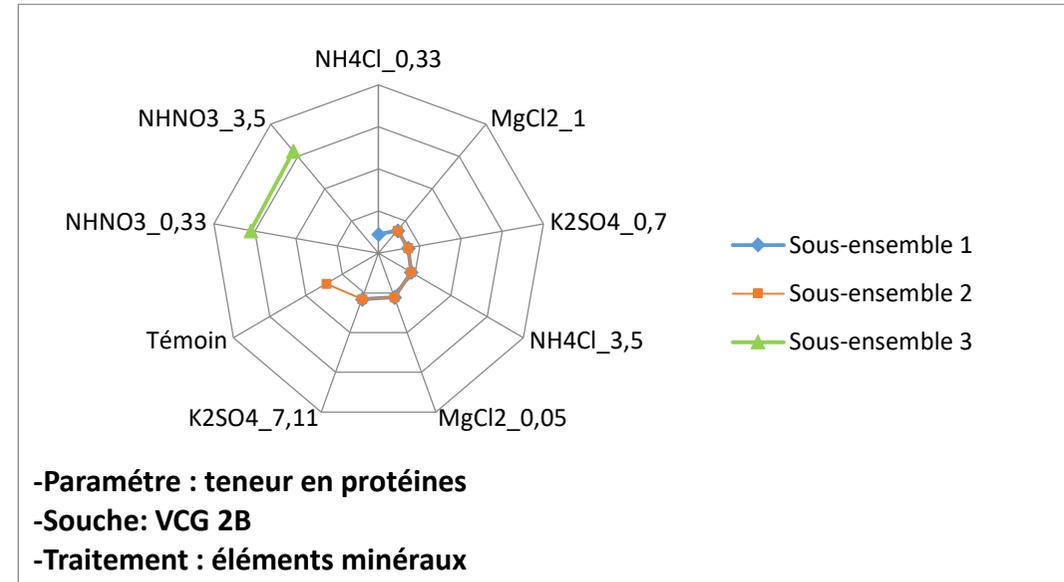
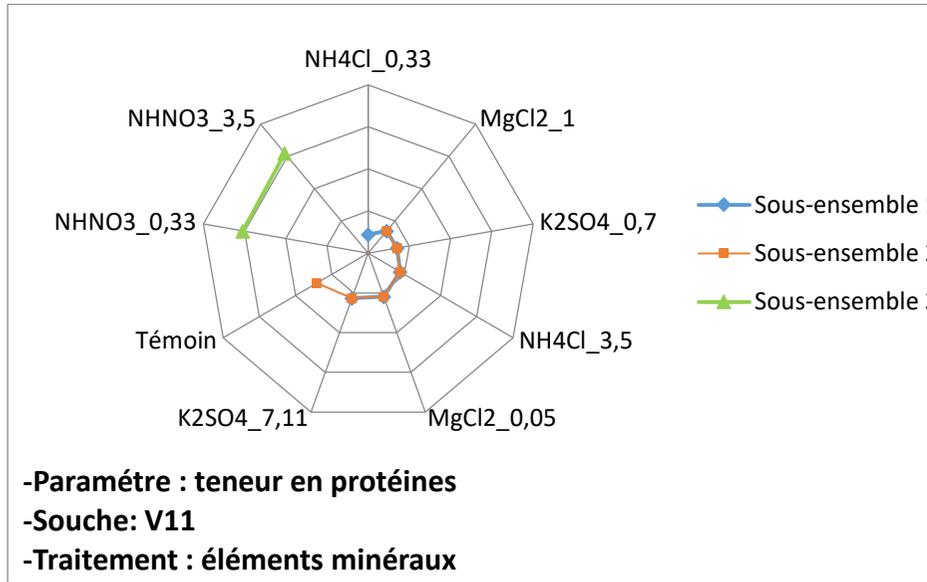
La teneur des protéines secrétées par les deux isolats dans le milieu témoin est statistiquement différente. En effet elle est plus élevée chez l'isolat V11 (0,071 mg/g MS) (Figure 3.49)



**Figure 3. 49 : Effet des éléments minéraux sur la teneur en protéines secrétés dans le milieu par les deux isolats de Verticillium dahliae**

Tous les éléments testés avec leurs doses à l'exception du NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> diminuent la teneur en protéine secrétées dans le milieu. Le NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> augmente la teneur des protéines secrétée à 0,155 mg/g MS (3,5 ppm) et 0,152 (0,33 ppm)

Des faibles doses de chlorure de magnésium et de fortes doses de sulfate de potassium engendrent l'augmentation de la teneur en protéines secrétées par l'isolat V36. Tandis que de faibles teneurs en chlorure de magnésium, en sulfate de potassium et en NH<sub>4</sub>Cl induisent la diminution de ce paramètre. Les groupes homogènes obtenu sont illustrés par la Figure 3.50. Les traitements se regroupent dans trois sous-ensembles pour l'isolat V11 et VCG 2B et quatre pour V36 et VCG 4A.



**Figure 3. 50: Répartition de la teneur en protéine de Verticillium dahliae en fonction des traitements avec les éléments minéraux**

## PARTIE 2

### Évaluation de la Vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* dans le sol en fonctions de la qualité des exsudats racinaires.

#### 9. Composition biochimique des exsudats racinaire

Les teneurs en sucres solubles totaux, en acides aminés et en protéines sont statistiquement plus élevées au stade « Nouaison » par rapport au stade « 1<sup>er</sup> bouton florale » des trois plantes testes. Ceci est démontré dans les figures 3.51 ; 3.52 et 3.53

La teneur en sucres solubles des exsudats racinaires du poivron est statistiquement plus élevée de celle de la tomate et de l'aubergine et ceci dans les deux stades phénologiques. (Figure 3.51). Les groupes homogènes apparaissant dans les figures sont tirés à partir des résultats statistiques du test de Tukey (Annexe 3)

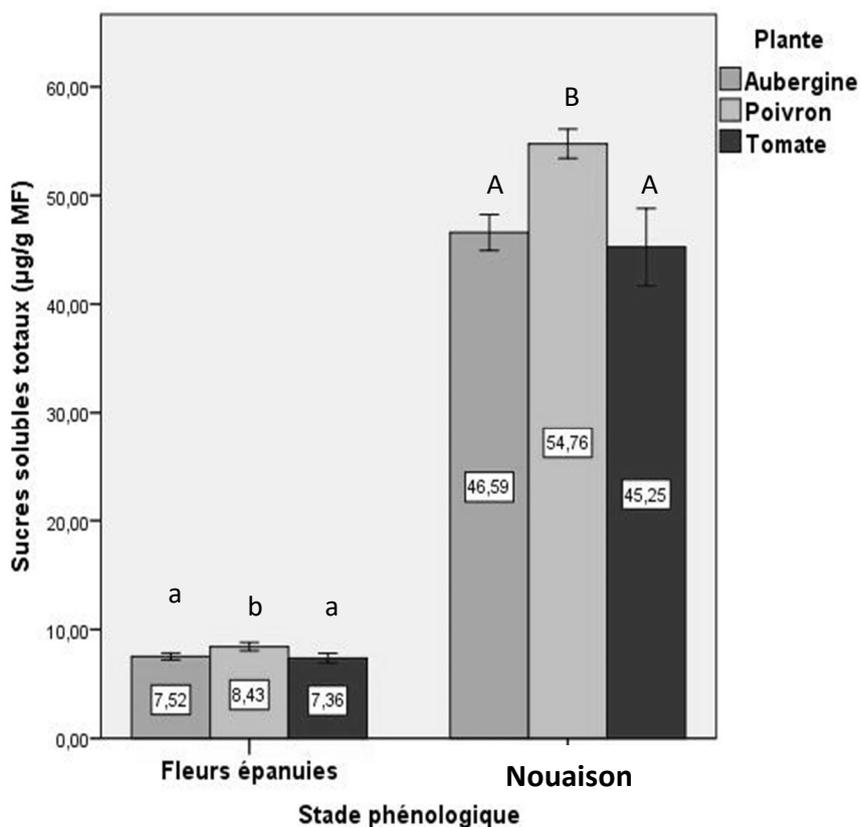
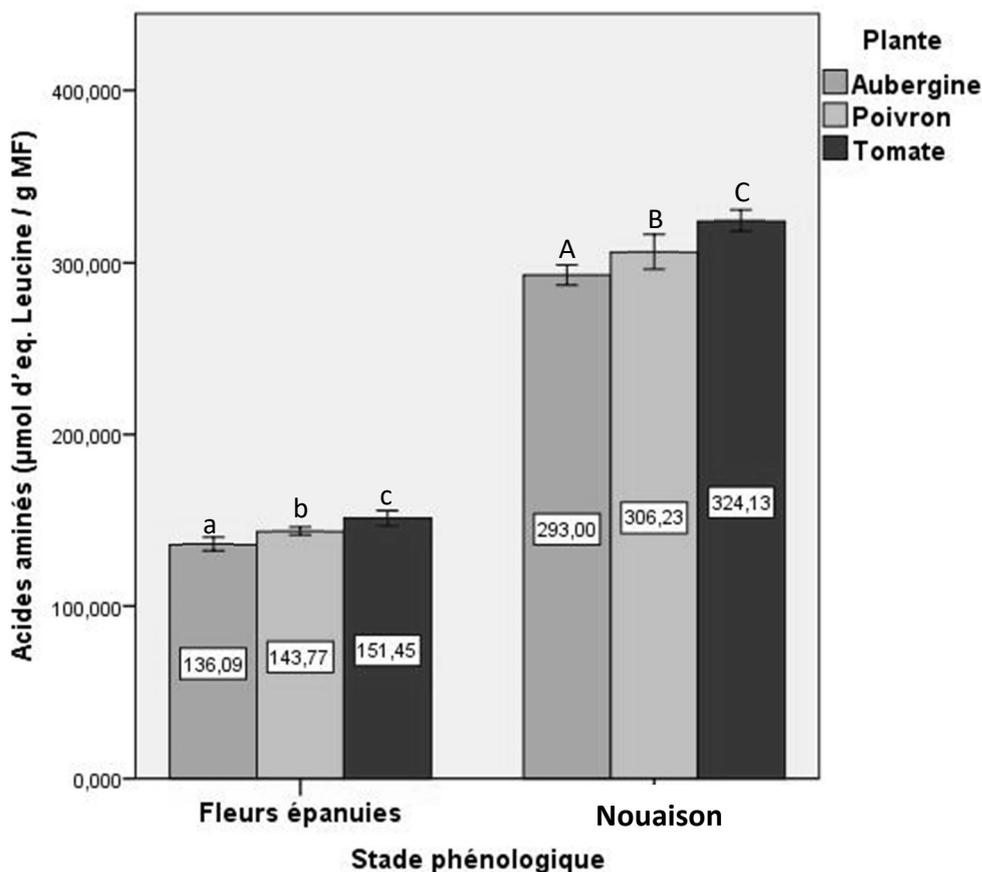


Figure 3. 51: Teneur des exsudats racinaire en sucres solubles totaux (µg/gMF)

Au stade « Nouaison », la teneur en acides aminés chez la tomate (324,13  $\mu\text{mol eq.Leu./gMF}$ ) est statistiquement élevée par rapport au poivron (306,23  $\mu\text{mol eq.Leu./gMF}$ ) et à l'aubergine (293,00  $\mu\text{mol eq.Leu./gMF}$ ). Tandis qu'au stade « fleurs épanouies » ces valeurs diminues de 46,44 à 46,94 % mais garde toujours la même cinétique d'appartenance aux groupes homogènes (Figure 3.52)



**Figure 3. 52 : Teneur des exsudats racinaire en acides aminées ( $\mu\text{mol eq.Leu./gMF}$ )**

Les teneurs en protéines sont nettement plus élevées au stade « Nouaison ». La valeur la plus est observé chez la tomate (0,170 g/l) suivie par le poivron et l'aubergine (1,48 et 1,43 g/l). Ceci engendre l'apparition de deux groupes homogènes, l'un regroupe la teneur en protéine des exsudats du poivron et de l'aubergine et l'autre ceux de la tomate (Figure 3.53)

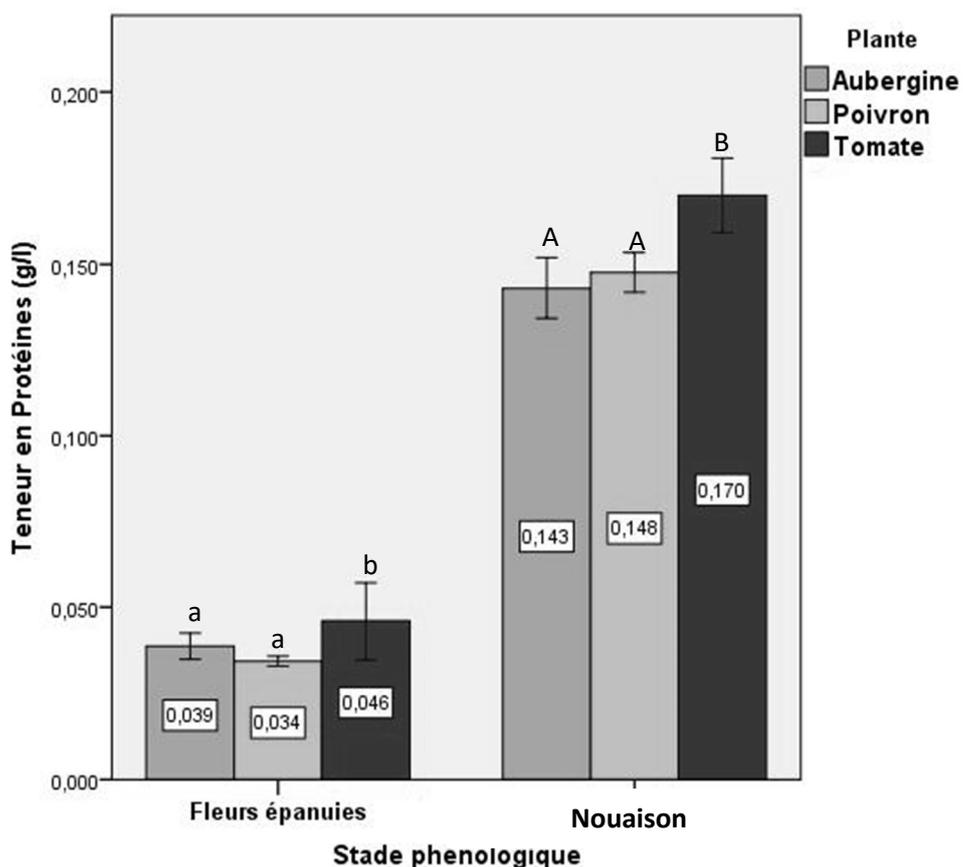


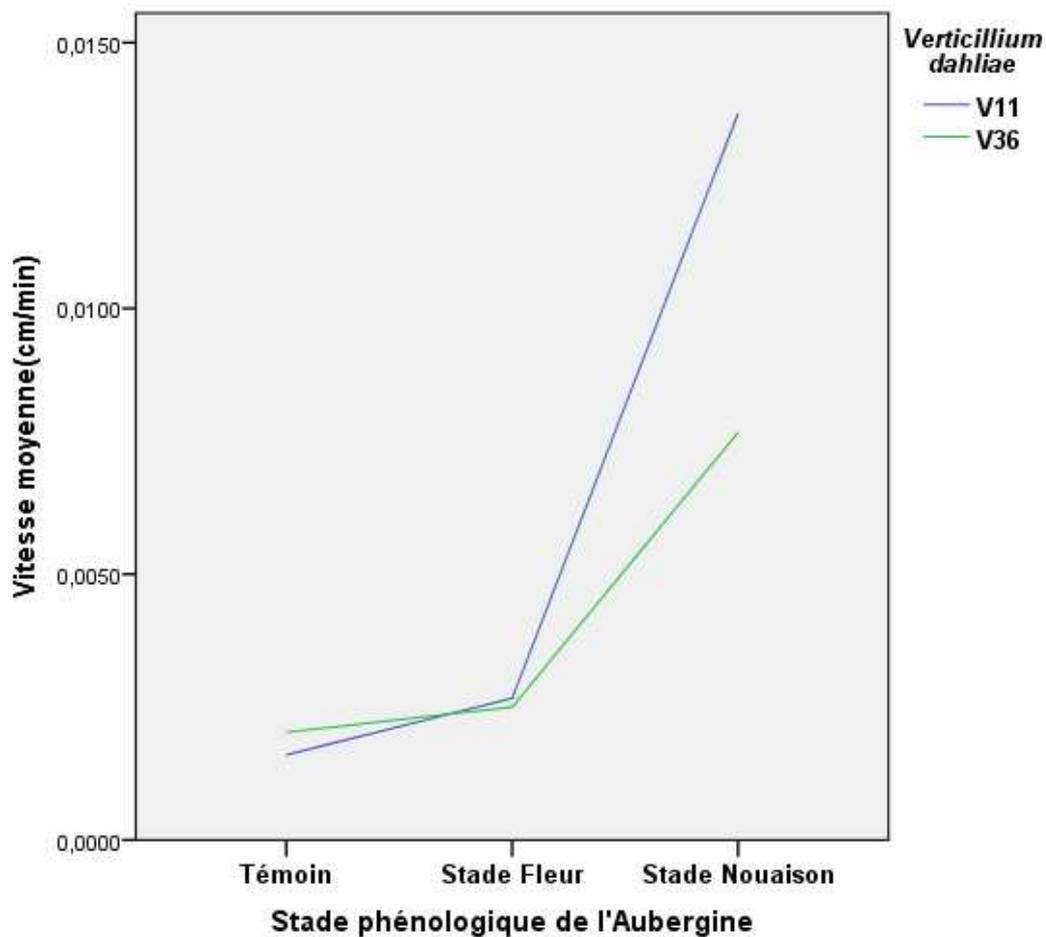
Figure 3. 53 : Teneur des exsudats racinaire en protéines (g/l)

## 10. Extension linéaire de *Verticillium dahliae*

### - Cas de l'Aubergine

Nos résultats montrent que la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* des souches V11 et V36 augmente au stade Fleurs épanouies et continue d'augmenter au stade Nouaison. La vitesse est plus élevée chez les deux stades par rapport au sol témoin (dépourvue d'exsudats racinaire). (Figure 3.54)

L'Analyse multivarié de la variance MANOVA montre qu'il existe une différence statistiquement significative entre la vitesse des deux souches (V11 et V36) par rapport au stade Nouaison, ainsi entre la vitesse des souches comparée avec les stades Fleurs épanouies et témoin (Annexe 3)



**Figure 3. 54: Vitesse de translation (cm/min) de *Verticillium dahliae* en fonction des stades phénologiques de l'aubergine**

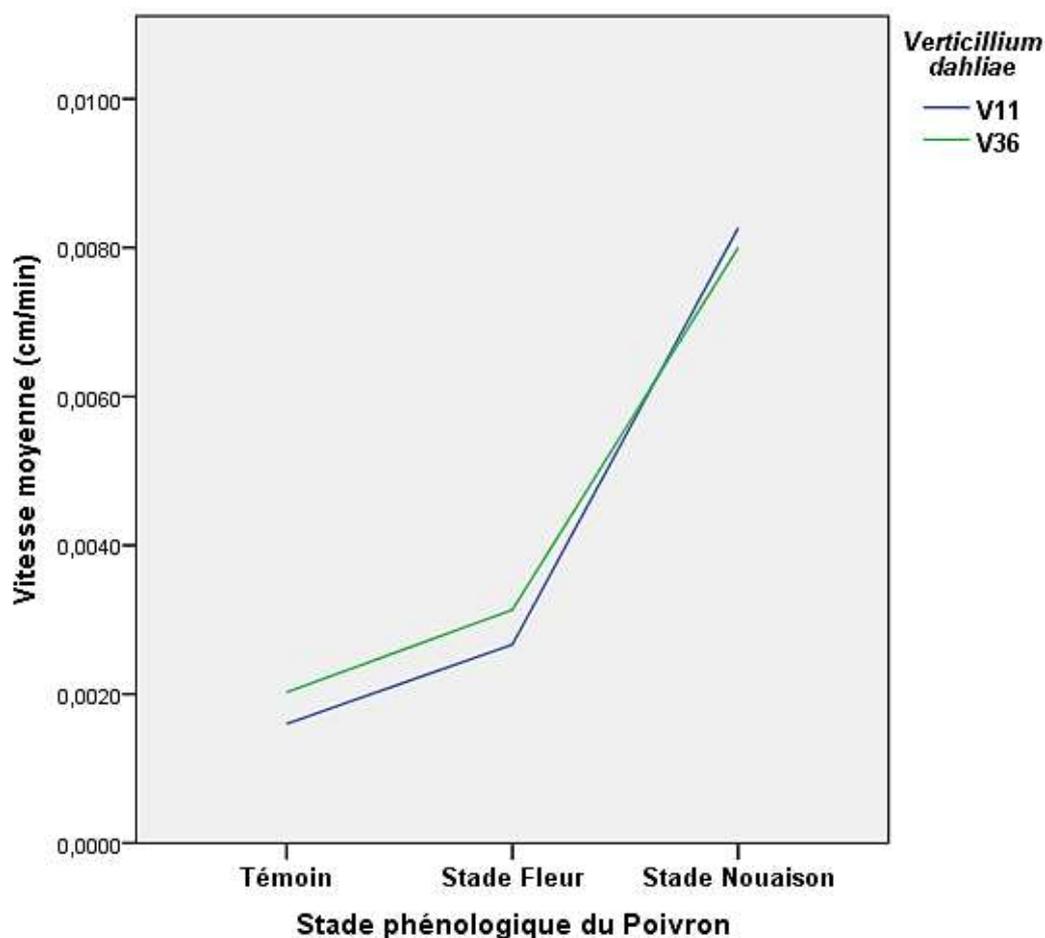
La vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* augmente en fonction de la qualité des exsudats racinaires (teneurs en SST et en Protéines).

La corrélation de Pearson indique l'existence d'une corrélation ( $p=0,002$ ) très forte et proportionnelle ( $r = +0,9$ ) entre les teneurs en sucres solubles totaux et en protéines (Annexe 3).

Le même test nous indique également l'existence d'une corrélation très forte et proportionnelle entre la vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* et la teneur en protéines et en sucres solubles (Annexe 3).

### - Cas du Poivron

Nos résultats montrent que la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* des souches V124 et V11 augmente au stade Fleurs épanouies et continue d'augmenter au stade Nouaison. La vitesse est plus élevée chez les deux stades par rapport au sol témoin (dépourvue d'exsudats racinaire). (Figure 3.55)



**Figure 3. 55: Vitesse de translation (cm/min) de *Verticillium dahliae* en fonction des stades phénologiques du Poivron**

L'Analyse multivarié de la variance MANOVA montre qu'il n'existe pas une différence statistiquement significative entre la vitesse des deux souches (V11 et V36) par rapport aux deux stades et au témoin ( $p > 5\%$ ). Le même test montre qu'il existe une différence statistique entre la vitesse de *Verticillium dahliae* au stade Nouaison, d'une part, et celle au stade Fleurs épanouies et témoin d'autre part

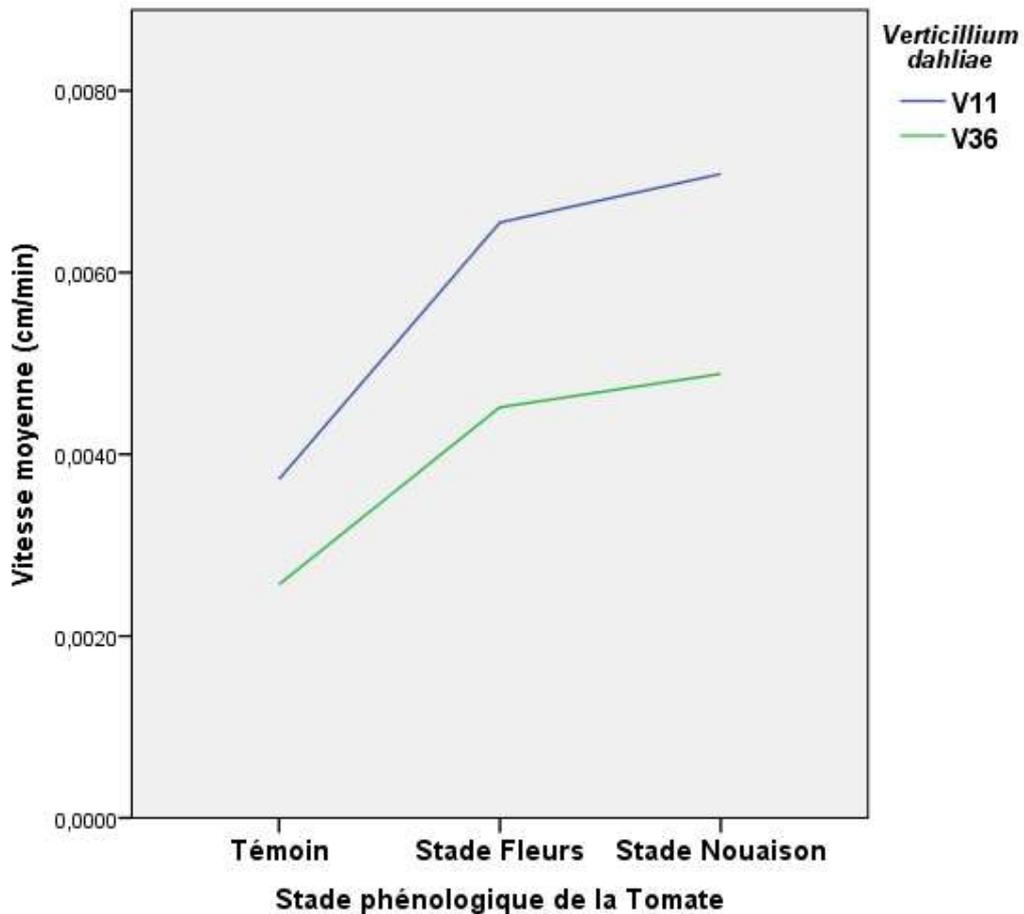
(Annexe 3). La vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* augmente en fonction de la qualité des exsudats racinaires (teneurs en SST et en Protéines).

La corrélation de Pearson indique l'existence d'une corrélation ( $p=0,000$ ) Parfaite et proportionnelle ( $r = 1$ ) entre les teneurs en sucres solubles totaux et en protéines chez le poivron (Annexe 3).

Le même test nous indique également l'existence d'une corrélation très forte et proportionnelle entre la vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* et la teneur en protéines et en sucres solubles (Annexe 3).

#### - **Cas de la tomate**

Chez la tomate, la vitesse de déplacement de la souche V11 est supérieure à celle de V36. Cette différence est statistiquement significative (Annexe 3) peut-être importée de stade de prélèvement des exsudats racinaires (Figure 3.56). La vitesse de déplacement des isolats V11 et V36 est statistiquement semblable au stade Fleurs épanouies et Stade Nouaison. Les valeurs de la vitesse diffèrent significativement avec celle du témoin. (Annexe 3)



**Figure 3. 56 : Vitesse de translation (cm/min) de *Verticillium dahliae* en fonction des stades phénologiques de la Tomate**

La corrélation de Pearson indique l'existence d'une corrélation très forte et proportionnelle entre la vitesse de déplacement du *Verticillium dahliae* et la teneur en protéines et en sucres solubles (Annexe 3).

### **11. Modélisation de la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae***

Suite aux résultats précédents nous avons opté pour une détermination *in-silico* de la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* en se basant sur les résultats obtenues et cela par une méthode de modélisation prévisionnelle (la régression linéaire simple).

## 11.1. Évaluation de la pertinence du modèle de régression

### - Analyse de variance

Le calcul de la valeur de F se fait automatiquement et le degré de signification associé est consigné dans la dernière colonne du tableau 3.2 ; 3.3 et 3.4 La valeur de F est significative à  $p < 0,0005$ . Ceci signifie que les probabilités d'obtenir une valeur F de la taille indiquée par hasard sont de moins de 0,05 %. Dans ce cas, nous devons *rejeter l'hypothèse nulle*. Il y a donc une relation statistiquement significative entre le temps et la distance parcourue de *Verticillium dahliae* et cela au niveau des 3 stades des trois plantes.

**Tableau 3. 2 : Analyse de variance pour le modèle de régression de l'Aubergine**

**ANOVA**

**Souche V11 (Aubergine Stade Témoin)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	388,21	1,00	388,21	123,54	0,002 <sup>e</sup>
Résidu	9,43	3,00	3,14		
Total	397,634 <sup>d</sup>	4,00			

**Souche V11 (Aubergine Stade Fleurs)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	1125,30	1,00	1125,30	14,60	0,042 <sup>e</sup>
Résidu	154,11	2,00	77,06		
Total	1279,411 <sup>d</sup>	3,00			

**Souche V11 (Aubergine Stade Nouaison)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	22648,73	1,00	22648,73	64,52	0,015 <sup>e</sup>
Résidu	702,08	2,00	351,04		
Total	23350,810 <sup>d</sup>	3,00			

**Souche V36 (Aubergine Stade Témoin)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	552,41	1,00	552,41	75,91	0,003 <sup>e</sup>
Résidu	21,83	3,00	7,28		
Total	574,242 <sup>d</sup>	4,00			

**Souche V36 (Aubergine Stade Fleurs)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	1007,37	1,00	1007,37	466,90	,002 <sup>e</sup>
Résidu	4,32	2,00	2,16		
Total	1011,689 <sup>d</sup>	3,00			

**Souche V124 (Aubergine Stade Nouaison)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	5894,37	1,00	5894,37	91,08	,011 <sup>e</sup>
Résidu	129,43	2,00	64,72		
Total	6023,808 <sup>d</sup>	3,00			

**Tableau 3. 3 : Analyse de variance pour le modèle de régression du Poivron**

**ANOVA**

**Souche V11 (Poivron Stade Témoin)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	388,207	1	388,207	123,544	,002 <sup>c</sup>
Résidu	9,427	3	3,142		
Total	397,634 <sup>d</sup>	4			

**Souche V11 (Poivron Stade Fleurs)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	1188,317	1	1188,317	54,760	,018 <sup>c</sup>
Résidu	43,401	2	21,700		
Total	1231,718 <sup>d</sup>	3			

**Souche V11 (Poivron Stade Nouaison)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	7427,562	1	7427,562	490,841	,002 <sup>c</sup>
Résidu	30,265	2	15,132		
Total	7457,827 <sup>d</sup>	3			

**Souche V36 (Poivron Stade Témoin)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	552,411	1	552,411	75,912	,003 <sup>c</sup>
Résidu	21,831	3	7,277		
Total	574,242 <sup>d</sup>	4			

**Souche V36 (Poivron Stade Fleurs)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	1271,072	1	1271,072	132,373	,007 <sup>c</sup>
Résidu	19,204	2	9,602		
Total	1290,277 <sup>d</sup>	3			

**Souche V36 (Poivron Stade Nouaison)**

Modèle	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Sig.
1 Régression	6405,309	1	6405,309	257,201	,004 <sup>c</sup>
Résidu	49,808	2	24,904		
Total	6455,117 <sup>d</sup>	3			

**Tableau 3. 4: Analyse de variance pour le modèle de régression de la Tomate**

**ANOVA**

<b>Souche V11 (Tomate Stade Témoin)</b>						
Modèle		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
1	Régression	8438,500	1	8438,500	577,609	,000 <sup>c</sup>
	Résidu	73,047	5	14,609		
	Total	8511,547 <sup>d</sup>	6			

**Souche V11 (Tomate Stade Fleures épanouies)**

Modèle		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
1	Régression	33179,289	1	33179,289	4597,905	,000 <sup>c</sup>
	Résidu	57,729	8	7,216		
	Total	33237,018 <sup>d</sup>	9			

**Souche V11 (Tomate Stade Nouaison)**

Modèle		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
1	Régression	41147,946	1	41147,946	3523,515	,000 <sup>c</sup>
	Résidu	81,747	7	11,678		
	Total	41229,693 <sup>d</sup>	8			

**Souche V36 (Tomate Stade Témoin)**

Modèle		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
1	Régression	3995,468	1	3995,468	505,350	,000 <sup>c</sup>
	Résidu	39,532	5	7,906		
	Total	4035,000 <sup>d</sup>	6			

**Souche V36 (Tomate Stade Fleures épanouies)**

Modèle		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
1	Régression	15782,170	1	15782,170	5783,719	,000 <sup>c</sup>
	Résidu	21,830	8	2,729		
	Total	15804,000 <sup>d</sup>	9			

**Souche V36 (Tomate Stade Nouaison)**

Modèle		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	D	Sig.
1	Régression	19598,529	1	19598,529	2830,343	,000 <sup>c</sup>
	Résidu	48,471	7	6,924		
	Total	19647,000 <sup>d</sup>	8			

## 11.2. Évaluation de la variabilité expliquée par le modèle de régression

### - Les paramètres du modèle

Les tableaux 3.5 ; 3.6 et 3.7 nous donnent les paramètres de l'équation du modèle de régression. Les coefficients non standardisés ( $\alpha$ ) nous permettent de reconstituer l'équation de la droite de régression, qui sera de type :  $y = (\alpha \cdot x)$

**Tableau 3. 5 : Paramètres de l'équation du modèle de régression de l'Aubergine**

Coefficients<sup>a,b</sup>

#### Souche V11 (Aubergine Stade Témoin)

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,12</b>	0,01	0,99	11,12	0,00

#### Souche V11 (Aubergine Stade Fleurs)

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,15</b>	0,04	0,94	3,82	0,06

#### Souche V11 (Aubergine Stade Nouaison)

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,89</b>	0,11	0,98	8,03	0,02

#### Souche V36 (Aubergine Stade Témoin)

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,14</b>	0,02	0,98	8,71	0,00

#### Souche V36 (Aubergine Stade Fleurs)

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,14</b>	0,01	1,00	21,61	0,00

#### Souche V124 (Aubergine Stade Nouaison)

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,45</b>	0,05	0,99	9,54	0,01

a. Variable dépendante : Distance (cm)

b. Régression linéaire à l'origine

**Tableau 3. 6 : Paramètres de l'équation du modèle de régression du Poivron**

**Coefficients<sup>a,b</sup>**

**Souche V11 (Poivron Stade Témoin)**

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,12</b>	0,01	0,99	11,12	0,00

**Souche V11 (Poivron Stade Fleurs)**

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,15</b>	0,02	0,98	7,40	0,02

**Souche V11 (Poivron Stade Nouaison)**

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,51</b>	0,02	1,00	22,15	0,00

**Souche V36 (Poivron Stade Témoin)**

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,14</b>	0,02	0,98	8,71	0,00

**Souche V36 (Poivron Stade Fleurs)**

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,16</b>	0,01	0,99	11,51	0,01

**Souche V36 (Poivron Stade Nouaison)**

Modèle	Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
	A	Erreur standard	Bêta		
1 Temps (h)	<b>0,47</b>	0,03	1,00	16,04	0,00

a. Variable dépendante : Distance (cm)

b. Régression linéaire à l'origine

**Tableau 3. 7 : Paramètres de l'équation du modèle de régression de la tomate**

**Coefficients<sup>a,b</sup>**

**Souche V11 (Tomate Stade Témoin)**

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard	Bêta		
1	Temps (h)	<b>0,121</b>	,009	,996	24,033	,000

**Souche V11 (Tomate Stade Fleures épanouies)**

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard	Bêta		
1	Temps (h)	<b>0,391</b>	,006	,999	67,808	,000

**Souche V11 (Tomate Stade Nouaison)**

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard	Bêta		
1	Temps (h)	<b>0,434</b>	,007	,999	59,359	,000

**Souche V36 (Tomate Stade Témoin)**

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard	Bêta		
1	Temps (h)	<b>0,144</b>	,006	,995	22,480	,000

**Souche V36 (Tomate Stade Fleures épanouies)**

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard	Bêta		
1	Temps (h)	<b>0,270</b>	,004	,999	76,051	,000

**Souche V36 (Tomate Stade Nouaison)**

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.
		A	Erreur standard	Bêta		
1	Temps (h)	<b>0,299</b>	,006	,999	53,201	,000

a. Variable dépendante : Distance (cm)

b. Régression linéaire à l'origine

La colonne des coefficients standardisés indique la valeur du coefficient de corrélation (Bêta). Elle apporte toutefois une nouvelle information: la valence de cette valeur (+ ou -). Donc le sens de la relation entre la distance parcourue par le *Verticillium dahliae*. (y) et le temps (x) est proportionnel peut import le stade.

### - Détermination des équations de régression

Les précédents tableaux nous permettent d'établir des formules prédictives de la distance de déplacement de *Verticillium dahliae* dans un espace linéaire en fonction des plantes (Aubergine, Poivron et Tomate), leur stade phénologique (Fleurs épanouies et nouaison) et la souche de *Verticillium dahliae* inoculé (V11 et V36) et dans un substrat témoin exempte de culture. (Tableau 3.8)

**Tableau 3. 8 : Formules prédictives de la distance de déplacement de *Verticillium dahliae* dans un espace linéaire**

Plante	Souche <i>Verticillium dahliae</i>	Stade phénologique	Formule de la régression
<b>Aubergine</b>	V11	Témoin	$y = 0,121 x$
		Fleurs épanouies	$y = 0,147 x$
		Nouaison	$y = 0,887 x$
	V36	Témoin	$y = 0,144 x$
		Fleurs épanouies	$y = 0,139 x$
		Nouaison	$y = 0,452 x$
<b>Poivron</b>	V11	Témoin	$y = 0,121 x$
		Fleurs épanouies	$y = 0,155 x$
		Nouaison	$y = 0,508 x$
	V36	Témoin	$y = 0,144 x$
		Fleurs épanouies	$y = 0,160 x$
		Nouaison	$y = 0,472 x$
<b>Tomate</b>	V11	Témoin	$y = 0,121 x$
		Fleurs épanouies	$y = 0,391 x$
		Nouaison	$y = 0,434 x$
	V36	Témoin	$y = 0,144 x$
		Fleurs épanouies	$y = 0,270 x$
		Nouaison	$y = 0,299 x$

Avec : y : valeur prédite de la distance (cm) ; x : le temps (h).

## DISCUSSION

Les maladies induites par *Verticillium dahliae* sont caractérisées par une large gamme d'hôtes du pathogène, Le champignon a une capacité de survivre nombreuses années dans le sol ou les débris végétaux. Cependant, la croissance fongique est confinée dans le xylème pendant la phase pathogène **(23),(24)**. *Verticillium dahliae* est capable d'infecter plus de 400 espèces végétales, y compris les cultures et les adventices annuelles, herbacées, ainsi que les arbres fruitiers et ornementaux, et les arbustes **(23)**. Il peut rester viable dans le sol jusqu'à 14 ans **(39)**. Les sols infestés et le matériel de plantation infecté sont d'importantes sources d'inoculum **(138), (139)**.

Les 37 isolats obtenus ont tous étaient pathogènes au plantes tests (Tomate, aubergine et poivron). L'initiation de la pathogénicité est stimulé (plusieurs fois) par les exsudats racinaires de l'hôte et de certaines plantes non hôtes **(140), (141), (142)**. On reporte que l'influence efficace de la rhizosphère des racines est d'environ 100 µm **(143)**.

Le schéma général de la pathogénicité de des cultures maraichères de certains arbres hôtes est une perte totale ou partielle de turgescence, provoquée par la flaccidité de la feuille la plus basse, ou une foliole terminale dans une feuille composée se développant vers la tige et se propageant de manière acropète jusqu'à ce que la plante entière soit affectées, dans les cas graves entraînant la mort.

Les racines pivotantes et les racines secondaires de nombreuses plantes infectées présentent de petites lésions brunes ou de plus grandes taches brunes représentant les principaux sites d'infection **(144)**. La flaccidité initiale est suivie en séquence rapide de chlorose et de nécrose. Associé à ces symptômes, mais en fonction du type et de l'âge de l'hôte, une épinastie, une abscission pétiolaire et un retard de croissance peuvent survenir **(144)**.

Une épinastie et un retard de croissance, ces derniers associés à des taux de photosynthèse réduits, ont été décrits dans la tomate infectée par *Verticillium albo-atrum* **(145)**. Un retard de croissance et un rabougrissement ont été constatés comme un symptôme chronique, en l'absence de flétrissement général, à la suite

d'une infection des semis. L'effet des souches défoliantes et non défoliantes de *Verticillium dahliae* sur le coton a été décrit par Wiese et DeVay (1970) **(146)**, Garber (1973), **(147)** Schnathorst et Mathré (1966) **(148)**, Schnathorst (1981) **(149)** et Friebertshauser et DeVay (1982) **(150)**.

Pour les souches moins agressives, les symptômes sont apparus 35 à 40 jours après l'émergence de la plante **(149)**. Les cotylédons sont devenus chlorotiques et sont rapidement morts, suivis d'une chlorose internervaire et marginale dans la première feuille. Le tissu chlorotique devient nécrotique et la maladie se propage à la plante. Une épïnastie modérée est produite et, selon le cultivar et les conditions environnementales, en particulier la température, la plante pourrait mourir **(151)**.

La classification hiérarchique des isolats indique l'apparition de deux groupes de *Verticillium dahliae*. L'infection des souches moins agressives entraîne une infection chronique non létale, contrairement aux souches très agressives qui entraîne un repliement rapide de la feuille terminale, suivi rapidement d'une épïnastie sévère, d'une nécrose et d'une abscission presque totale des fruits **(149)**.

Les populations naturelles de *V. dahliae* sont définies comme adaptées à l'hôte plutôt que spécifiques à l'hôte, c'est-à-dire qu'elles présentent une pathogénicité croisée mais sont plus virulentes à l'hôte duquel ils ont été isolés **(88)**, **(152)**, **(153)** **(154)**, **(155)**.

Ainsi, sous la pression de sélection, certaines souches d'agents pathogènes peuvent s'adapter à de nouveaux hôtes, de sorte que les isolats causant une maladie grave chez un hôte peuvent potentiellement provenir de ceux infectant d'autres hôtes **(153)**, **(154)**, **(156)**. De plus, une adaptation pathogène plus spécifique peut se produire pour certains hôtes ou cultivars, donnant lieu à l'établissement de pathotypes **(157)**, **(158)** et de races pathogènes **(159)**, **(160)**, **(161)**.

L'adaptation actuelle de l'hôte dans les populations de *Verticillium dahliae* peut aider à choisir des cultures alternatives pour les calendriers de rotation des cultures. Des informations limitées sont disponibles concernant la spécificité d'hôte des isolats de *Verticillium dahliae* infectant les cultures maraichère en Algérie. Des études en France indiquent qu'un isolat d'artichaut a été trouvé virulent sur l'aubergine, le melon et le poivre, mais pas sur la tomate **(162)**. D'autres études en Italie ont montré

que deux isolats d'artichauts du sud-est du pays, étaient pathogènes sur le melon cantaloup, le carosello (*Cucumis melo* var. Chate), l'aubergine et la pastèque, mais pas sur le concombre, le poivre et la tomate **(163)**. Des travaux supplémentaires ont indiqué que 29 isolats similaires étaient hautement virulents sur l'aubergine et le carosello, modérément virulents sur la pastèque et le melon, et confirmés non pathogènes sur le concombre, le poivron et la tomate **(164)**.

De même, des tests de pathogénicité sur 11 légumes souvent utilisés dans les rotations de cultures ont montré que 12 isolats de *Verticillium dahliae* provenant du centre-est de l'Espagne étaient très virulents sur l'artichaut, le cardon, l'aubergine et la pastèque, mais non pathogènes pour le chou-fleur, le concombre, la laitue, le poivron et la citrouille **(165)**.

Dans l'ensemble, la large gamme d'hôtes des isolats de *Verticillium dahliae* et les quelques cas connus de races pathogènes dans ses populations ont conduit à la perception qu'il existe peu de variation génétique au sein de l'espèce **(36)**. Cependant, en plus des quelques exemples d'adaptation spécifique, un continuum de virulence a été observé au sein des populations de *Verticillium dahliae* infectant certaines cultures, telles que le coton, la pomme de terre et la tomate **(166)**, **(167)**, **(168)**, suggérant qu'une variation génétique considérable doit se produire à des locus autres que ceux codant pour des caractères de virulence spécifiques. En fait, des études menées au cours de la dernière décennie ont démontré que la diversité génétique au sein des populations de *Verticillium dahliae* est plus élevée qu'on ne le pensait auparavant, et qu'une compréhension limitée de la nature de cette diversité a nui à l'efficacité de la gestion de la flétrissure verticillienne **(169)**, **(170)**, **(171)**.

Comprendre la biologie de la population de *Verticillium dahliae* est important pour la gestion des maladies par l'évaluation des risques, ainsi que le développement et le déploiement de cultivars résistants, en explorant le potentiel des agents pathogènes pour développer de nouvelles souches avec des caractères de pathogénicité améliorés et en empêchant leur introduction dans de nouvelles zones. La biologie de la population de *Verticillium dahliae* a été étudiée principalement au moyen d'analyses de compatibilité végétative **(170)**,**(112)**,**(171)** ainsi que d'analyses de l'ADN fongique, **(88)**,**(172)**, **(173)**, **(174)**, **(175)** ,**(154)**. La compatibilité végétative est déterminée par la capacité contrôlée par le locus (incompatibilité des hétérocaryons)

des souches fongiques individuelles de subir une anastomose hyphale et de former des hétérocaryons.

Les isolats fongiques qui sont végétativement compatibles sont placés dans le même groupe de compatibilité végétative (VCG) **(170)**, **(176)**. Étant donné que la recombinaison sexuelle est inconnue chez *Verticillium dahliae*, l'anastomose hyphale suivie de la formation d'un hétérocaryon est une condition préalable à l'échange génétique et à la recombinaison génétique parasexuelle éventuelle entre différents isolats **(177)**, **(23)**. Par conséquent, on pense que les isolats de *Verticillium dahliae* dans différents VCG sont des populations génétiquement isolées qui peuvent varier dans un certain nombre de traits écologiques, physiologiques et de virulence **(170)**, **(171)**.

Six VCG (VCG1 à VCG6) ont été identifiés en utilisant des mutants complémentaires de nitrate non utilisateurs (Nit) d'isolats provenant de divers hôtes et d'origine géographique dans le monde entier **(178)**, **(179)**, **(180)**, **(181)**, **(170)**, **(182)**. VCG1, VCG2 et VCG4 ont en outre été divisés en deux sous-groupes (désignés A et B) en fonction de la fréquence et de la vigueur de la complémentation **(178)**, **(168)**, **(183)**. Strausbaugh et al. **(182)** ont attribué un seul isolat à un nouveau VCG, VCG5; cependant, il n'y a aucune référence que d'autres isolats ont été inclus dans ce VCG depuis lors. Un ensemble d'isolats et de testeurs de mutants nit a été décrit qui facilite un système internationalement uniforme pour l'identification VCG chez *Verticillium dahliae* **(181)**, **(186)**, **(183)**, **(182)**.

L'utilisation généralisée de cet ensemble de testeurs aiderait à standardiser les études VCG et donc l'échange international d'informations sur VCG chez *Verticillium dahliae* **(170)**, **(171)**. L'analyse AFLP de l'ADN génomique de *Verticillium dahliae* a démontré que les isolats au sein d'un sous-groupe VCG sont génétiquement similaires, dans la mesure où le regroupement des isolats AFLP est en corrélation avec les sous-groupes VCG indépendamment de la source de l'hôte et de l'origine géographique **(184)**. Les populations de *Verticillium dahliae* infectant les artichauts dans trois provinces du centre-est de l'Espagne ont été typées pour les VCG et ont été trouvées abritant une diversité limitée de VCG. Sur 107 isolats examinés, 96% étaient VCG2, 67% étant VCG2B et 29% VCG2A; un isolat était VCG1A; trois étaient

VCG4B; et deux étaient hétérocaryons auto-incompatibles **(173)**. Le VCG de l'isolat est en corrélation avec sa virulence **(173)**

La polyphyrie (c'est-à-dire évoluant indépendamment plus d'une fois) dans est signalé chez VCG2B et peut être importante pour la gestion de la flétrissure verticillienne des cultures maraichères, car elle implique que les traits écologiques, physiologiques et / ou de virulence des isolats peuvent varier d'un endroit à l'autre.

Récemment, des marqueurs moléculaires basés sur des microsatellites et des séquences polymorphes ont été utilisés pour évaluer la structure génétique d'une population de *Verticillium dahliae* du centre-est de l'Espagne **(185)**. La population comprenait 30 isolats obtenus à partir d'artichauts et 20 isolats de pommes de terre cultivées dans les mêmes zones de production où les deux cultures sont utilisées en rotation (ARMENGOL 2010). La différenciation génétique relativement élevée observée parmi les sous-populations des deux hôtes et la grande diversité génotypique suggèrent un degré de différenciation entre les populations de l'agent pathogène de différents hôtes, qui pourrait avoir résulté de l'adaptation de *Verticillium dahliae* de la population résidente d'origine à différents hôtes **(186)**.

L'impact des facteurs de croissance tel que le pH, la teneur en NaCl et en éléments minéraux sur la croissance mycélienne et la formation des organes de reproduction (la sporulation et la germination des conidies) in vitro de deux isolats représentatifs des VCG (V11 et V36) de *Verticillium dahliae* a été étudié dans ce travail de recherche.

Des résultats similaires ont été obtenus chez l'espèce *V.dahliae* par Ramualde ,1992, **(123)** les travaux de Ligoxigakis et al., 2002 **(83)** et Yilddiz et al., 2009 **(84)** expliquent que la croissance optimale chez le *Verticillium dahliae* se situe à pH 4 . Par contre, **Goud et al.,2003 (183)** ont reporté que les deux espèces de *Verticillium (V.dahliae et V.tricorpus)* peuvent se développer à un pH allant de 5 à 7 dont l'optimum est obtenu à un pH 5 pour *Verticillium dahliae* et à pH 6 pour *Verticillium tricorpus*.

Le pH est un paramètre de grande importance pour le développement et le croissance du champignon ainsi que pour la formation des organes de reproduction (conidies).En effet c'est l'un des principaux facteurs qui détermine l'agressivité et la virulence de l'agent pathogène **(123)**.

*Verticillium dahliae* sur coton se rencontre normalement sur des sols neutres à alcalins, pH 6–9. À pH 5,5 et moins, la croissance et la survie sont toutes inhibées. Bell (1992b) **(188)** a supposé que cela pourrait résulter de l'accumulation d'ions Mn et Al comme en témoigne l'augmentation de la concentration de ces ions dans les feuilles de coton des plantes cultivées dans des sols acides par rapport au neutre. Rudolph (1931) **(144)** a signalé un flétrissement grave de *Verticillium dahliae* dans le coton dans des sols limoneux-sableux, des sols argileux et des sols riches en matière organique. L'incidence du flétrissement dans les sols sableux, cependant, ne peut pas être facilement dissociée des traitements d'irrigation, ce qui rend les sols sableux plus comparables à l'argile. Brinkerhoff (1973) **(189)** a décrit le flétrissement du coton dans des sols argileux neutres à acides en Oklahoma et dans le delta du Mississippi. Lorsque les sols acides sont chaulés pour augmenter le pH, la gravité du flétrissement augmente invariablement, par exemple avec les tomates **(190)**. Foy et al. (1981) **(191)** ont montré que le chaulage réduisait la teneur en Mn du coton; Le Mn dans un environnement acide (pH 4–5) inhibe la croissance mycélienne à 120 mg/l et la production microsclérotiale à 30 mg/l **(192)**. L'aluminium qui s'accumule également dans les plantes à faible pH, supprime la croissance mycélienne **(193)**. Lorsque le pH du sol est réduit à 4,5 avec le  $Al_2(SO_4)_3$ , les propagules viables sont considérablement réduites **(39)**. Orellana et al. (1975) **(193)** ont montré que le chaulage d'un sol toxique à l'Al de pH 4,4 à 5,4 augmentait le flétrissement de *Verticillium dahliae* chez le tournesol.

Babaev et Bagirov (1967) **(194)** ont montré qu'en général, les mélanges de microéléments qui réduisent le flétrissement sur le terrain inhibent également *Verticillium dahliae* en culture. L'infection de la luzerne par *Verticillium dahliae* entraîne des changements de pH dans la plante **(195)**.

L'interaction *Verticillium dahliae* × salinité a été évaluée in vitro. La croissance de la colonie radiale et pondérale est un paramètre fiable pour mesurer l'effet d'une variable environnementale sur la croissance des champignons. De plus, Cook (1973) **(196)** a mentionné que ce type d'expériences in vitro peut refléter le comportement des agents pathogènes in vivo, à l'intérieur des tissus végétaux.

Le NaCl a des effets négatifs importants sur le développement, la morphologie et la sclérotinisation de *Macrophomina phaseolina* en raison de la réduction de la synthèse des de certains métabolites par cette espèce.

Des études in vitro sur l'interaction salinité × *Verticillium dahliae*, ont montré des effets non significatifs des traitements à des taux élevés en sels sur la sporulation des agents pathogènes et sur la formation des structures des résistances comme les microsclérotos. Ainsi, l'interaction des agents pathogènes avec la salinité semble être assez spécifique, complexe et ne peut être extrapolée pour tous les champignons du sol, même s'ils occupent la même niche écologique et subissent le même stress abiotique (32).

Les études d'interaction salinité × *Verticillium dahliae* sur tomate a montré que les plantes inoculées avec *V. dahliae* et arrosées avec des concentrations accrues d'eau salée étaient gravement affectées par la maladie. Besri (1990) (197), Livescu et al. (1990) (198) et Nachmias et al. (1993) (199).

Les éléments minéraux sont essentiels à la croissance et au développement des Champignons (127) et peuvent avoir aussi des effets néfastes sur le développement de certaines maladies fongiques.

L'impact des éléments minéraux sur la croissance, la sporulation et la germination des conidies in vitro de *Verticillium dahliae* a été étudié.

Le comportement de des isolats de *Verticillium dahliae* selon les différents niveaux et source d'azote, peut expliquer les résultats obtenus. En effet, l'excès de chlorure d'ammonium dans le milieu de culture gélose diminue la croissance mycélienne de cette espèce ;

Il semble que la présence d'azote en excès dans le milieu de culture n'est pas nécessaire au développement du *Verticillium dahliae*, ceci est confirmé par Imrani et al., 2014 (200), qui ont signalé que les concentrations élevés du chlorure d'ammonium réduisent significativement la croissance diamétrale mycélienne de *Cochliobolus sativus*. Ceci est en parfaite concordance avec notre résultat en ce qui concerne le chlorure d'ammonium (NH<sub>4</sub>Cl).

Les conidies produites et viables de *Verticillium dahliae* augmente de façon significative ;le test de Pearson montre une corrélation positive que lorsque les concentrations s'élèvent en  $\text{NaNO}_3$  et  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dans le milieu de culture. Par contre le nombre de conidies produites diminue de façon significative avec l'augmentation de la concentration  $\text{NH}_4\text{Cl}$  après. La corrélation de Pearson révéla l'existence d'une corrélation très forte inversement proportionnelle entre la concentration et le nombre de conidies produites. Nous constatons également l'absence de corrélation entre la concentration et le nombre de conidies viables

Nos résultats concordent avec Les travaux d'Imrani et al., 2014 **(200)**;ces auteurs constatent que L'addition de l'azote sous forme de Nitrate d'ammonium au milieu PDA a permis de réduire la sporulation *Helminthosporium sativum* et *H. australiensis* (agents pathogènes foliaires du Riz), au fur et à mesure que la concentration en chlorure d'ammonium augmente. Ces auteurs concluent que la fertilisation azotée sous forme de nitrate d'ammonium pourrait contribuer à la lutte contre cet agent phytopathogène. Par contre, une diminution de la croissance mycélienne et une augmentation du nombre de conidies produites en présence de concentrations plus élevées de nitrate d'ammonium est possible **(127)**.

Cette Diminution de la croissance mycélienne combinée à la diminution du nombre de conidies Viables produites avec des concentrations élevées de  $\text{NaNO}_3$  pourrait revêtir un intérêt particulier dans le contexte de la lutte contre certain champignons tellurique **(127)**

La plupart des champignons peuvent utiliser les nitrates comme source d'azote. La seule voie du métabolisme d'assimilation de l'azote sous forme des nitrates est leur réduction en nitrites en présence de l'enzyme nitrate réductase, suivie d'une réduction en ammonium **(201)**. Certains groupes de champignons comme les basidiomycètes sont incapables d'utiliser les nitrates comme source d'azote puisqu'ils sont incapables de synthétiser la nitrate réductase **(202)**. Ceci ne semble pas être le cas de *Verticillium dahliae* qui croît relativement bien sur un milieu contenant des nitrates (nitrates d'ammonium) ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ).

L'ammonium peut généralement être utilisé comme source d'azote par la majorité des champignons. On attribue à l'ion ammonium un rôle de régulateur de croissance. Par exemple, la présence de l'ammonium en milieu de culture est très importante

pour la formation des fructifications sexuées chez *Calonectria camelliae* **(203)**. Par contre, la sporulation chez *Saccharomyces cerevisiae* est inhibée par l'ion ammonium. Ceci semble être le cas de *Verticillium dahliae* où le chlorure d'ammonium inhibe de façon significative sa croissance diamétrale, la sporulation (nombres de conidies viables) à de forte concentration en  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (3.5 ppm).

Par ailleurs, la suppression ou l'inhibition in vitro de la croissance et de la sporulation par les milieux préparés à base de chlorure d'ammonium, suggèrerait l'aptitude de cet élément à contrôler *in vivo* la verticilliose sur les plantes attaquées. La sévérité et l'incidence de la maladie de la verticilliose sur pomme de terre est en corrélation négative avec la fertilisation azotée sous forme de chlorure d'ammonium **(204)**.

Nos résultats suggèrent que la fertilisation azotée sous forme de chlorure d'ammonium à des concentrations élevées pourrait contribuer à la diminution de la sévérité du *Verticillium dahliae*. L'effet du potassium ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) à de différentes concentrations (0 à 7.11 ppm) a été évalué. Les résultats obtenus ont montré que les fortes concentrations de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  stimulaient de façon significative la croissance mycélienne du champignon après une semaine d'incubation.

L'augmentation de la concentration du Potassium est favorable à la croissance mycélienne mais diminue la production des conidies. Ces résultats vont à l'encontre de ceux de Imrani et *al.*, 2014 **(200)** qui stipulent qu'en générale, l'excès de potassium augmente la croissance mycélienne et la sporulation de *Helminthosporium sativum* et *Helminthosporium. australiensis* donc un meilleur développement des pathogènes est accompagné d'un haut niveau en potassium, ce constat est confirmé par Hervieux (2000) **(205)** qui a noté une stimulation de la croissance mycélienne d'*Helminthosporium solani*, suite à un apport élevé de chlorure de potassium (KCl) sur le milieu PDA.

Le Potassium sous forme de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  augmente la croissance mycélienne et diminue la Production de conidies totales et la production de conidies viables de *Helminthosporium solani* à des concentrations élevées (7,11 ppm) **(127)**. Ces mêmes auteurs ont également montré que la germination in vitro n'a pas été affectée de façon significative par des éléments nutritifs potassiques.

Le magnésium sous Forme de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  diminue le nombre de conidies viables à des concentrations supérieures à 5ppm sans toutefois affecter la croissance mycélienne et la production totale de conidies *Helminthosporium solani* (127). Nos résultats concordent avec ceux de Nyiransengiyumva 2007 (127).

L'impact des éléments minéraux sur la croissance pondérale et l'activité enzymatique in vitro du *Verticillium dahliae* indiquent que l'apport d'azote sous forme de nitrate d'ammonium ( $NH_4NO_3$ ) au milieu de culture liquide Czapek-dox augmente significativement la croissance pondérale de *Verticillium dahliae* (V11, V36, VCG 2B et 4A). L'apport d'azote sous forme de chlorure d'ammonium, diminue la croissance pondérale des isolats.

L'azote a été intensivement étudié dans la relation "nutrition de l'hôte-sévérité de la maladie" depuis plusieurs années (Huber et Watson, 1974). L'azote présente différents effets selon la culture et l'agent pathogène étudié.

D'après les recherches de Huber et Watson, 1974 (206), l'azote sous forme de nitrate augmente le développement du *Verticillium dahliae* et sous forme d'ammonium le diminue.

Nam et al. (2006) ont montré que des concentrations élevées d'azote dans la solution nutritive ont augmenté la sévérité de l'antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) chez une culture de fraisier en système hydroponique fermé (71).

De nombreux champignons phytopathogènes sont connus pour leur production d'enzymes capables de dégrader les polysaccharides des parois cellulaires de leurs plantes hôtes. Les cellulases et les pectinases seraient impliquées dans les maladies des plantes et dans le processus de la dégradation des tissus durant la colonisation par l'agent pathogène (207), (16). *Verticillium albo-atrum* produit une gamme de polysaccharidases qui dégradent les parois cellulaires des tissus vasculaires de la tomate (207). Une augmentation de l'activité endopeptinase dans les vaisseaux conducteurs des tomates sensibles a été enregistrée trois jours après l'infection par *V. albo-atrum* et bien avant l'apparition de symptômes (207).

Dans le processus de pénétration des champignons pathogènes à travers la paroi cellulaire, un rôle essentiel est également joué par les enzymes hydrolysant les hémicelluloses et les celluloses. En effet, Russel, (1975) (79) a montré que l'infection

des tomates avec *V. albo-atrum* entraîne une augmentation de l'activité cellulolytique aussi bien chez les plantes sensibles que résistantes. Cet auteur stipule que les cellulases sont produites par les plantes mais aussi en grande partie par le pathogène. Les références aux enzymes consultés concernent principalement des études in vitro sur l'organisme; Cependant, de nombreux articles font référence à des études in vitro et in planta ou à une partie subordonnée d'une étude différente. Pour ces raisons, les enzymes sont également abordées dans les chapitres sur la pathogenèse, la résistance, la morphologie, la taxonomie et ailleurs. La littérature abondante sur les enzymes pectolytiques et cellulolytiques a principalement été examinée dans les volets de pathogenèse. Des revues détaillées ont également été présentées par Dimond (1955, 1970) **(207)**, **(208)**, Pegg (1981, 1985) **(209)**, **(210)**, **(211)**, Beckman (1987) **(212)**, Heale (1988) **(213)** et Bell (1992) **(188)**. Plusieurs auteurs écrivant dans les années 1990 sur les enzymes semblent ignorer l'importance de la composition et de la concentration du substrat, d'où le problème de l'induction enzymatique et de la répression des substrats et des produits, examiné dans le document de base de Cooper et Wood (1975) **(214)**.

Les enzymes concernées par la dégradation de substrats autres que les substances à base de pectine et de cellulose incluent diversement la galactanase, la xylanase, l'arabinase, la glucosidase, la glucanase, la chitinase et la protéase. Keen et al. (1970) **(215)** ont décrit l'induction et la répression de la D-galactosidase à partir de cultures de *V. albo-atrum*.

*V. albo-atrum* possède au moins deux galactanases, une exo-xylanase et une endo-arabinase **(214)**. Mussell et Strouse (1971) **(216)** ont montré que *V. dahliae* sécrétait des protéases extracellulaires capables d'hydrolyser les protéines lorsqu'elles étaient utilisées comme source unique de carbone. Vessey et Pegg (1973) **(217)** et Young et Pegg (1982) **(218)** ont décrit l'endo-chitinase, la 1,4-acétylglucosaminidase, la 1,4-glucosidase et l'exo-1,3-glucanase chez *V. albo-atrum*. L'hydrolyse des préparations de parois de cellules de *V. albo-atrum* purifiées était complexe et faisait intervenir une combinaison d'enzymes hôte (tomate) et fongique (Young et Pegg, 1982). Adylbekov et al. (1991) **(219)** ont caractérisé une 1,3-glucanase de *V. dahliae* présente dans des filtrats de culture et du mycélium. Il a été affirmé que l'enzyme purifiée pourrait hydrolyser les polysaccharides de la paroi

cellulaire de *V. dahliae*. Bakhali (1991) **(220)** a confirmé les résultats de Cooper et Wood (1975) **(214)** relatifs à la xylanase et montré que la synthèse de glucose et de xylose réprimait la xylanase, tandis que la cellulose, la cellobiose et la carboxyméthylcellulose induisaient une certaine stimulation enzymatique. Dans une comparaison entre *V. albo-atrum*, *V. dahliae*, *V. tricornis*, *V. nubilum* et *V. nigrescens*, *V. dahliae* présentait les taux les plus élevés d'enzymes cellulolytiques et la plus grande pathogénicité pour la tomate **(221)**. Bakhali (1989) **(222)** a décrit l'induction de l'endo- Polygalacturonase, de l'exo- Polygalacturonase dans des cultures de *V. tricornis* isolées à partir de plants de pomme de terre fanés. Bakhali (1987) a décrit un résultat similaire sur des parois cellulaires isolées de palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera*) **(223)**.

La production de Polygalacturonase est proportionnelle au taux de croissance du mycélium. Les faibles concentrations de substrat enzymatique améliorent la synthèse enzymatique **(214)**. À l'inverse, de fortes concentrations de produit ou de substrat répriment la synthèse **(224)**. Le glucose, une source de carbone commune du milieu, inhibe la plupart des polysaccharases à sa concentration en éléments nutritifs **(225)**; **(226)**; **(227)**. Le saccharose, le lactose et le galactose agissent comme des répresseurs similaires **(225)**, **(228)**; **(214)**. Les autres facteurs influençant l'activité enzymatique chez les espèces de *Verticillium* sont: le tissu hôte **(228)**; **(214)**, la source d'azote, par ex. peptone **(224)**, ions  $Ca^{2+}$  et  $PO_4^{3-}$  **(224)**; **(228)**; **(216)**; **(227)**, pH **(214)** et l'agitation de milieux aqueux **(226)**.

La production des polysaccharidases par les champignons dépend de la nature de la source de carbone du milieu **(229)** ; **(222)**. Les études menées in vitro par Heale et Gupta, (1971) **(229)** ont montré que parmi le grand nombre de sucres et de polysaccharides, seul les substrats à base de cellulose et de cellobiose peuvent induire la production de cellulases. Selon le même auteur, l'activité cellulase peut être convenablement étudiée en utilisant plusieurs formes de cellulose soluble et incluant les sels de  $Na^+$  du carboxyméthylcellulose comme substrat.

Bateman, (1969) a rapporté que l'environnement où se développent certains champignons phytopathogènes influe sur le type et la quantité d'enzymes pectocellulosiques qu'ils produisent **(230)**.

Les travaux de Novo M. et al. (2006) **(128)** indiquent que des isolats de *Verticillium dahliae* produisent des cellulases capables de dégrader la cellulose soluble et cristalline afin d'établir qu'ils possèdent les trois activités enzymatiques nécessaires à l'hydrolyse de la cellulose **(16)**. Les isolats se comportaient de la même manière en présence de cellulose soluble et tous deux étaient capables de la dégrader. Cependant, l'isolat le plus agressif avait une plus grande activité de  $\beta$ -1,4-glucosidase et d'endo- $\beta$ -1,4-glucanase **(128)**.

Les cellulases peuvent ne pas être le facteur déterminant de l'agressivité et, par conséquent, la cause des symptômes; Cependant, ils peuvent jouer un rôle important dans le processus de pénétration **(231)**.

Les champignons du genre *Verticillium* sont des parasites vasculaires qui vivent et se reproduisent à l'intérieur des vaisseaux du xylème de leurs plantes hôtes. Ils sont donc soumis aux fluctuations de la composition chimique de la sève elle-même dépendante des variabilités du milieu nutritif extérieur.

L'excrétion des protéines par *Verticillium* est influencée par la nature de la substance carbonée ou de la présence de substances de croissance (Chaib, 1987) **(232)**.

Les quantités de protéines extracellulaires sont corrélées avec la virulence du champignon. En effet, Chaib, (1987), a montré des différences dans les taux de protéines secrétées par des isolats de *Verticillium albo-atrum* selon leur pouvoir pathogène vis-à-vis de la tomate. Les souches pathogènes produisant 10 fois plus de protéines que les souches non pathogènes **(231)**. Des résultats similaires ont été décrits par Saksirirat & Hoppe (1991) **(232)**. Ces auteurs ont rapporté des différences dans les niveaux des protéines synthétisées in vitro par *Verticillium lecanii* et *Verticillium psallioetea*.

Dans notre étude, toutes les enzymes étaient principalement extracellulaires. Ce système enzymatique permet à *Verticillium dahliae* de se développer dans des milieux où la cellulose est une source de carbone et peut contribuer à la dégradation de la paroi cellulaire, ce qui est très important pour la pénétration de l'hôte **(77)** , **(211)**

Chez *V. albo-atrum*, les isolats haploïdes hautement pathogènes pour le coton avaient 10 fois plus d'activité  $\beta$ -1,4-glucosidase que les diploïdes moins pathogènes (233). Chez le pathogène nécrotrophe de la carotte, *Mycocentrospora acerina*, l'activité de l'endo- $\beta$ -1,4-glucanase était plus élevée chez les isolats les plus agressifs (234). Le comportement de ces isolats était différent lorsque l'on tentait de dégrader une source de cellulose cristalline, car l'isolat le plus agressif sécrétait l'enzyme dans le milieu de culture plus tôt que l'isolat moins agressif. Le fait que l'isolat moins agressif ait besoin de plus de temps pour se dégrader peut être important pour la pathogénèse, car une réduction de l'activité sur la cellulose native pourrait suggérer que le champignon a une capacité diminuée à coloniser l'hôte, ce qui retarde l'apparition des symptômes et une expression plus douce de la maladie. Ces résultats peuvent suggérer que *V. dahliae* produit les cellulases nécessaires pour contribuer à la dégradation des parois des cellules du poivron. De plus, le taux et l'ampleur de la synthèse des cellulases devraient jouer un rôle important dans l'agressivité de *V. dahliae* puisqu'il a été établi auparavant pour des interactions dans plusieurs situations pathogènes (235).

Les phytopathologistes ont généralement estimé que les cellulases ne sont pas particulièrement importantes dans la pathogénèse, car une dégradation importante de la cellulose ne se produit généralement que tardivement, voire pas du tout (16); cependant, lorsque les principaux gènes d'endoglucanase sont perturbés, la virulence diminue (236), (86). Bien que la relation entre les enzymes et la pathogénicité n'ait pas été établie à ce jour, ils sont considérés comme des facteurs d'agression possibles car la colonisation de l'hôte et sa survie peut dépendre de la capacité de l'agent pathogène à dégrader les composants de la paroi cellulaire (77).

Dans l'optique d'étudier au mieux le pathosystème plante hôte – *Verticillium dahliae* nous avons suivi l'effet des exsudats racinaire et du stade phénologique de l'aubergine, de la tomate et du poivron sur la dynamique de deux isolats de *Verticillium dahliae* (V11 et V36) appartenant à deux VCG différents.

La qualité de ces exsudats est éperonnée par les sucres solubles totaux et protéines. La quantité de sucres solubles et des protéines stimule la vitesse de déplacement de *Verticillium dahliae* V11 et V36.

Ces exsudats jouent un rôle important à cause de leurs composants. La dynamique de *Verticillium dahliae* varie selon la quantité de sucres solubles des acides aminés et des protéines contenue dans les exsudats des trois plantes. Ce qui implique qu'à l'augmentation de la quantité de ces composants dans les exsudats racinaire la vitesse de *Verticillium dahliae* augmente.

Les exsudats racinaires sont constitués de deux fractions majeures, en plus des cellules exfoliées de la coiffe : Les mucilages qui sont composés à 95 %, de sucres (polysaccharides) et à 5 % de protéines, Les exsudats solubles, également issus du processus de photosynthèse, composés de molécules de plus petite taille comme des sucres simples, des acides aminés, des acides organiques, des enzymes, des phénols, des stérols ou encore des vitamines. Les exsudats stimulent le développement des micro-organismes, en retour, ceux-ci stimulent l'exsudation racinaire, les bactéries (plus rapides à se multiplier) puis les champignons **(13)**

Les exsudats de plantes hôtes sont riche en protéines et en sucres qui augmentent la vitesse de déplacement des agents pathogènes virulents. Cela est confirmé par notre travail dont les résultats rejoignent ceux de Mench, (1985) **(237)**. L'auteur stipule qu'une plante hôte libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées azotées : polysaccharides, acides organique et protéines. Ces exsudats favorisent le développement de la microflore qui lui est pathogène. Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter **(238)**

Dans nos résultats, on a constaté que la présence des exsudats racinaire stimule la vitesse de de déplacement de l'agent pathogène. Baetz et Martinoia, (2013) stipulent le contraire, certains exsudats ont ainsi pour rôle de repousser les agresseurs et les maintenir à distance **(239)**.

Cette mise en évidence de la relation étroite des exsudats racinaire avec la translation de *Verticillium dahliae* dans un espace linéaire a permis d'établir un model prédictif pour une surveillance et un contrôle des VCG de *Verticillium dahliae* détecté en Algérie.

## CONCLUSION

Ce travail de recherche s'inscrit dans un programme destiné à la caractérisation du *Verticillium dahliae* en Algérie. Il a pour objectif d'évaluer certains paramètres de croissance sur le développement et l'activité enzymatique de cet agent tellurique. L'étude des pathosystèmes proposé repose sur l'évaluation du pouvoir pathogène *in planta* afin de réaliser une modélisation statistique qui permet une appréhension de la translation de *Verticillium dahliae*

Le flétrissement vasculaire d'origine verticillien des cultures maraichères est une maladie très dangereuse pouvant provoquer le dépérissement total de la plante, redoutable surtout chez les plantes sensibles. Les pertes occasionnées par cette affection sont considérables sur le plan socio-économique. L'aubergine, la Tomate, le chou fleur le poivron, l'artichaut et la courgette sont cultivés dans la majorité des cas dans des zones à vocation maraichère et occupent qui se caractérisent par une situation pédoclimatique déficiente. L'originalité de notre travail de recherche s'appuie sur ces assertions qui ont été jusqu'à présent mal étudiées en Algérie.

Les souches de *Verticillium dahliae* d'origine horticole sont capables d'altérer le développement des trois plantes tests (Tomate, Poivron et Aubergine). Suite aux résultats obtenus par différents indices et calculs statistiques qui ont démontrés la réduction de la croissance des plants inoculés par rapport aux plants témoins et une défoliation suivie de la mort des plantes confirme la sensibilité des trois plantes testées aux deux VCGs de *Verticillium dahliae*.

Aucune des trois plantes n'a répondu exactement de la même façon aux attaques des différentes souches de *Verticillium dahliae*. La variabilité de réponses de tomate, poivron et aubergine aux isolats de *Verticillium dahliae* souligne que l'origine de l'inoculum fongique a une incidence notable sur l'expression de la maladie et la sévérité du flétrissement engendré.

Les isolats de *Verticillium dahliae* présentent une variabilité culturale en présence des contraintes environnementales à savoir pH, NaCl selon leur origine géographique et la plante hôte. L'isolat V11 en provenance de la région semi-aride de Tébessa à un comportement particulier par rapport aux autres isolats.

Les résultats obtenus ont démontré que la source et la concentration d'éléments minéraux comme l'azote, potassium, et magnésium étudiés après incubation du *Verticillium dahliae* sur milieu Czapek-dox influencent sa croissance pondérale et son activité enzymatique.

On a constaté que l'azote sous forme de chlorure d'ammonium  $\text{NH}_4\text{Cl}$  diminue la croissance pondérale du *Verticillium dahliae*, Contrairement aux nitrates d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), qui stimule ce paramètre. Des concentrations élevées de potassium sous forme de sulfates (7,11 g/L) et de magnésium (chlorure de magnésium) (1g/L) diminue la croissance pondérale du *Verticillium dahliae*.

En ce qui concerne l'effet de ces éléments minéraux sur l'activité enzymatique du *Verticillium dahliae*, on remarque que l'augmentation des concentrations en magnésium diminue l'activité endo- $\beta$ -1,4-glucanase et l'augmentation des concentrations du chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) diminue l'activité  $\beta$ -1,4-glucosidase.

On conclue donc que les éléments minéraux peuvent avoir un effet inhibiteur, et/ou un effet accélérateur sur le développement et l'activité enzymatique du *Verticillium dahliae*

Ainsi, les informations qui en découleront et celles obtenues in vitro pourront éventuellement servir pour élaborer des plans stratégiques de fertilisation ou de modification des propriétés telluriques afin de mieux contrôler le développement de cette maladie. Ainsi la source  $\text{NH}_4\text{Cl}$  avec son fort effet inhibiteur à concentration élevée peut être un facteur important pour le contrôle de cette maladie.

La qualité des exsudats et la quantité des sucres, des acides aminés et des protéines étudiés dans les deux stades phénologiques de l'aubergine, de la tomate et du poivron influencent sur la vitesse du déplacement de *Verticillium dahliae* dans le sol. La vitesse est plus élevée au stade Nouaison par rapport au stade Fleurs épanouies. Ceci est en étroite relation avec la qualité des exsudats racinaire/

Suite à nos résultats, la détermination in-silico de la vitesse du déplacement du *Verticillium dahliae* par une méthode de modélisation prévisionnelle (la régression linéaire simple) nous a permis de ressortir treize (13) formules mathématiques qui nous permettent de modéliser la vitesse de déplacement de deux isolats de *Verticillium dahliae* dans les conditions de l'expérimentation. Ces formules permettent d'appréhender le déplacement de *Verticillium dahliae* et par conséquent, appréhender ses dégâts

Dans les travaux futurs, il serait intéressant de faire une étude plus approfondie en effectuant une analyse poussée des exsudats racinaires utilisés. Il serait également intéressant d'évaluer l'effet de ces exsudats sur la vitesse du déplacement du champignon tout au long du cycle végétatif de plusieurs plantes hôte.

Vue l'absence de traitement chimique utilisés contre cette trachéomycose, seules les mesures de lutte prophylactique pratiquées au moment opportun permettent de réduire l'impact de la maladie.

Par ailleurs, pour freiner son évolution il est indispensable de sensibiliser les agriculteurs sur l'étiologie de cette affection qui existe en Algérie et que plusieurs semble la confondre avec la fusariose. Il est souhaitable d'étudier la dynamique des populations de ce pathogène dans le sol et sa relation avec la physiologie des cultures maraichères.

En raison de l'implication directe de l'inoculum du sol dans l'infestation primaire. Il est aussi intéressant d'examiner d'éventuelle variabilité du pouvoir pathogène chez les souches de ce champignon en vue d'arrêter une procédure de lutte et déporter une participation dans la protection des cultures au sein du programme de revalorisation de secteur maraicher.

**- FIN -**

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 Harrington M. A. And Dobinson K. F. (2000). Influences Of Cropping Practices On Verticillium Dahliae Populations In Commercial Processing Tomato Fields In Ontario. *Phytopathol.*, 90, 1011-1017.
- 2 McCain A. H., Raabe R. D., And Wilhelm S. (1981). Plants Resistant Or Susceptible To Verticillium Wilt. Cooperative Extension, U.S. Department Of Agriculture, University Of California, Berkeley, 12 Pp.
- 3 Pegg G. F. (1984). The Impact Of Verticillium Diseases In Agriculture, *Phytopathol. Mediterr.*, 23, 176-192.
- 4 Bellahcen M., 2004. La Verticilliose De L'olivier : Étude Épidémiologique Et Diversité Génétique De Verticillium Dahliae Kleb., Agent De La Verticilliose. Thèse De Doctorat D'état De Science, Université D'Oran, Algérie. 145 P.
- 5 Huber, D.M. Et Watson, R.D., 1974. Nitrogen Form And Plant Disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12:139-165.
- 6 Huber, D.M., 1978. Disturbed Mineral Nutrition. Dans *Plant Pathology, And Advanced Treatise*. Vol. Iii. Horsfall, J.G. Et Cowling, E.B., Eds. Academic Press, New York, Ny, Pages 163-181.
- 7 Huber, D.M., 1980. Role Of Nutrients In Defense. Dans *Plant Pathology, An Advanced Treatise*. Vol. V. Horsfall, J.G. Et Cowling, E.B., Eds. Academic Press, New York, Ny, Pages 381-406.
- 8 Huber, D.M., 1989. Dans *Soilborne Plant Pathogens: Management Of Diseases With Macro-And Microelements*. Engelhard, A.W., Ed. APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Mn, Pages 1-8. Identification Of Soils Suppressives Against *Helminthosporium solani*, The Causal Agent Of Potato Silver Scurf. *Soil Biol. Biochem.* 34:1861-1868p.
- 9 Jones, J.P., Engelhard, A.W. Et Ewoltz, S.S., 1989. Management Of Fusarium Wilt Of Vegetables And Ornamentals By Macro-And Microelement Nutrition. Dans *Soilborne Plant Pathogens : Management Of Diseases With Macro-And Microelements*.
- 10 Lambert, D.H., Powelson, M.L. Et Stevenson, W.R., 2005. Nutrition And Interactions Influencing Diseases Of Potato. *Am. J. Potato Res.* 82:309-319.
- 11 Fravel, D.R., Davis, J.R. And Sorensen, L.H. (1986) Effect Of *Talaromyces flavus* And Metham On Verticillium Wilt Incidence And Potato Yield 1984–1985. *Biological Culture Tests* 1, 17.
- 13 Waligora Cécile ., 2010 -, *Racines Et Sol : Un Monde De Communications Et D'équilibres*,
- 14 Nelson, P.E. And Wilhelm, S. (1958) Thermal Death Range Of Verticillium Albo-Atrum. *Phytopathology* 48, 613–616.

- 15 Xiao-Gang Li, 2013 The Composition Of Root Exudates From Two Different Resistant Peanut Cultivars And Their Effects On The Growth Of Soil-Borne Pathogen. *Journal Of physiological Sciences* 9 (2):164-173. Doi: 10.7150/ljbs.5579
- 16 Cooper, R. M. 1984. The Role Of Cell Wall Degrading Enzymes In Infection And Damage.
- 17 Cooper, R.M. And Wood, R.K.S. (1980) Cell Wall Degrading Enzymes Of Vascular Wilt Fungi. Iii. Possible Involvement Of Endo-Pectin Lyase In Verticillium Wilt Of Tomato. *Physiological Plant Pathology* 16, 285–300.
- 18 Regragui A., Rahouti M. Et Lahlou H., 2003. Effet Du Stress Salin Sur Verticillium Alboatrum: Pathogénécité Et Production D'enzymes Cellulolytiques In Vitro. *Cryptogamie, Mycol.* 24 (2) : 167-174.
- 19 Dubery, I.A. And Meyer, R. (1996) Specific Binding Of A Verticillium Dahliae Phytotoxin To Protoplasts Of Cotton, Gossypium Hirsutum. *Plant Cell Reports* 15(10), 777–780.
- 20 Meyer, R., Slater, V. And Dubery, I.A. (1994) A Phytotoxic Protein–Lipopolysaccharide Complex Produced By Verticillium Dahliae. *Phytochemistry* 35(6), 1449–1453.
- 22 Gaucher,D.,1998.Maladies De La Pomme De Terre. Institut Technique Des Céréales Et Des Fourrages.Paris,48pages.
- 23 Pegg G.F.,Brady B.L.2002.Verticilium Wilts(Editeur: Cab International).Cabi Publishing,Wallingford,Uk.552p
- 25 Malik, N.K. And Milton, J.M. (1980) Survival Of Verticillium In Monocotyledonous Plants. *Transactions Of The British Mycological Society* 75, 496–498.
- 26 Bejarano-Alcazar, A.J. Termorshuizen And R.M. Jimenez-D'Íaz , (1999), Single-Site Root Inoculations On Eggplant With Microsclerotia Of Verticillium Dahliae,, *Phytoparasitica* 27(4):279-289
- 27 Agrios N.G., 1988. Plant Disease Epidemiology. In *Plant Pathology*, Academic Press, Inc. 3th Edition, 156-179.
- 28 Botton B., Breton A., Févre M. Gauthier S., Guy Ph., Larpent J-P., Raymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y. And Veau R. (1990). *Moisissures Utiles Et Nuisibles : Importance Industrielle*. Édition Masson, Paris.
- 29 Hawke, M. A., And Lazarovits, G. 1994 : Production And Manipulation Of Individual Microsclerotia Of Verticillium Dahliae for Use In Studies Of Survival, *Phytopathology* 84 :883-890.
- 30 Sinha, A.K. And Wood, R.K.S. (1967a) An Analysis Of Responses Of Resistant And Susceptible Tomato Plants To Verticillium Infection. *Annals Of Applied Biology* 59, 143–154.
- 31 Lahlou H. & Boisson C., 1981. Pathogenecity Variation In One Tomato Isolate Of Verticillium Albo-Atrum (Microsclerotia Form) C.R. Du 3ème Symposium International Sur Les Verticillium. Bari

- 32** Jabnoun-Khiareddine, H., Et Al 2010) Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Barbara, D.J., And El Mahjoub, M. 2010. Morphological Variability Within And Among *Verticillium* Species Collected In Tunisia. *Tunisian Journal Of Plant Protection* 5: 19-38.
- 34** Isaac, I. (1967). Speciation In *Verticillium*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 5 Isaac, I. 5: 201– 222.
- 36** Heale, J. B. 2000. Diversification And Speciation In *Verticillium* – An Overview. Pages 1-14 In: *Advances In Verticillium: Research And Disease Management*. E. C. Tjamos, R. C. Rowe, J. B. Heale, And R. D. Fravel, Eds. American Phytopathological Society, St. Paul, Mn.
- 37** Fradin, E.F. And Thomma, B.P.H.J. (2006). Physiology And Molecular Aspects Of *Verticillium* Wilt Fradin, E.F. And Thomma, B.P.H.J. *Diseases Caused By V. Dahliae And V. Albo-Atrum*. *Mol. Plant Pathol.* 7: 71–86.
- 38** Blancard Dominique, 2013 *Verticillium Dahlia* Kleb, (1913) *Verticillium Albo-Atrum* Reinke È Brethold Inra ,Edition Quae, France
- 39** Wilhelm S. 1955. Longevity Of The *Verticillium* Wilt Fungus In Laboratory And Field. *Phytopathology*,45:180–181.
- 40** Triki M.A., Hassaïri A., Mahjoub M. 2006. Premières Observations De *Verticillium Dahliae* Sur Olivier En Tunisie. *Bull Eppo Bull.*, 36 (1): 69–71.
- 41** Schnathorst W.C. And Mathre D.E., 1966. Host Range And Differentiation Of Severe Form Of *Verticillium Albo-Atrum* In Cotton. *Phytopathology*, 56: 1156-1161.
- 43** Vallad, G.E. And Subbarao, K.V. (2008). Colonization Of Resistant And Susceptible Lettuce Cultivars By Vallad, G.E. And Subbarao, K.V. A Green Fluorescent Protein-Tagged Isolate Of *Verticillium Dahliae*. *Phytopathology* 98: 871– 885.
- 46** Berlanger, I. And Powelson, M.L. (2000).*Verticillium* Wilt
- 47** Jouan B., Lemaire J. M., Lemarchand E., Sanson M. T., 1974. Mise Au Point Sur La Gangrène De La Pomme De Terre (*Phoma Exigua* Var. *Exigua* Et Var. *Foveata*). *Sci. Agron.*, Rennes, 97-110
- 48** Singh, T.N., D. Aspinall, L.G. Paleg Et S.F. Bogges (1973). Stress Metabolism. li. Changes In Proline Concentration In Excised Plant Tissues. *Aust. J. Biol. Sci.*, 26: 57-63.
- 49** Inra 2013
- 50** Yangui T., Sayadi S., Gargoubi A., Dhouib A. 2010. Fungicidal Effect Of Hydroxytyrosolrich Preparations From Olive Mill Wastewater Against *Verticillium Dahliae*. *Crop Protection* 29:1208-1213
- 52** Henni J.E. 1982. Contribution À La Lutte Contre Le Verticilliose : Facteurs Physico-Chimiques Et Biologiques Inhibant La Germination Desmicosclerotes De *Verticillium Dahliae* Klebahn. Thèse.Doct. D'état. Univ. Paris (France). 150pp.

- 53** Boukenadel F. 2001. Contribution À L'étude De Verticillium Dahliae Kleb., Agent De La Verticilliose De L'olivier. Mém. Magister, Univ. Tlemcen (Algérie),103p.
- 54** Kumar R., Tapwal A., Kumar Borah R. 2012. Verticillium Wilt Infecting Parkia Roxburghi Seedling In Manipur India. Academic Journal Inc., 1-6.
- 55** Nannipieri P., Grego S., Ceccanti B. 1990. Ecological Significance Of The Biological Activity In Soil. In: Bollag Jm, Stotzky G (Eds) Soil Biochemistry, Vol 6. Marceldekker, New York, 293–355.
- 56** Arslan M., Dervis S. 2010. Antifungal Activity Of Essential Oils Against Three Vegetative Compatibility Groups Of Verticillium Dahliae. World J. Microbiol.Biotechnol., 26:1813–1821.
- 59** Muller H.,Tejedor –Gonzalez E.,Mercado-Blanco J.,Rodriguezjurado D.,Jiménez-Diaz R.M.,Berg G.2007.Effet Of The Biological Control Strain Serratiaplymuthicahro C48 On Verticilium Wilt Of Olive Trees Cv.Arbequina .Bulletin Oilb/Srop.,Pp30:173-177
- 60** C. Galinet 1987. La Verticilliose De La Tomate.
- 62** Boullinger,M. (1970) Cultures Maraichères-Phytopathologie, Phytopharmacie, Projet Algérie.Formation Professionnelle Agricole, 70p
- 63** Subramoniam, V.1974 Rapport Sur La Microflore D'algerie. I. N. A, Alger, Algérie, 15p.
- 64** Benchaabane, M. 1990 Observation Des Cas De Verticilliose De L'olivier À Cap-Djinet Et Sidi-Aich. Rapport De Mission. Itaf, Algérie, 5p.
- 65** Matallah-Boutiba, A., Fortas, Z., Henni, D., Sedra, M.H., Geiger, J.P. 1996. La Verticilliose De L'olivier Dans L'ouest Algérien : Histopathologie Des Interactions Hôte-Parasite. 4ème Congrès De La Société Française De Phytopathologie, 19-22 Nov, Nice, France, P.E13.
- 66** Bellahcen, M., Fortas, Z., Henni, D., Matallah, A., Geiger, J.P., Nicole, M. 1997.
- 67** Bellahcen, M., Fortas, Z., Kaddous, M., Matallah, A., Nicole, M. Geiger, J.P., 1998. La Verticilliose De L'olivier Dans Les Oliveraies De La Région Ouest D'algerie : Estimation Du Taux D'infection, Caractérisation De L'agent Causal Et Analyse Quantitative Des Microscélérotés Dans Le Sol. Xième Journées Nationales De Microbiologie. S.A.M, 30 Nov -1 Déc, Oran, Algérie, Pp.36-37.
- 68** Bellahcen, M., Fortas, Z., Geiger, J.P., Matallah, A., Henni, D., 2000. Verticillium Wilt In Olive In Algeria : Geographical Distribution And Extent Of The Disease. Olivae, 82, Pp.41-43.
- 69** Duffy, B.K.Et Défago,G.,1999.Macro-And Microelements Fertilizers Influence The Severity Of Fusarium Crown And Root Rot Of Tomato In A Soilless Production System. Hort.Sci.34:287-291.
- 70** Hoffland,E.,Jeger,M.J.Et Van Beusichem,M.L.,2000.Effet Of Nitrogen Supplyrate On Disease Resistance In Tomato Depends On The

Pathogen.Plantsoil218:239-247.

- 71 Nam, M. H., Jeong, S. K., Lee, Y. S., Choi, J. M. Et Kim, H. G., 2006. Effects Of Nitrogen, Phosphorus, Potassium And Calcium Nutrition On Straw<sup>^</sup>Berry Anthracnose. *Plant Pathol.* 55 : 246-249
- 72 Sanogo,S. Et Yang, X.B., 2001.Relation Of And Content, Ph And Potassium And Phosphorus Nutrition To The Development Of Sudden Death Syndrome In Soybean. *Can. J.Plant Pathol.*23:174-180p.
- 73 Wisniewski, M., Droby, S., Chalutz, E. Et Eilam, Y., 1995. Effects Of Ca<sup>^^</sup> And Mg<sup>^^</sup> On *Botrytis Cinerea* And *Penicillium Expansum* In Vitro And On The Biocontrol Activity Of *Candida Oleophila*. *Plant Pathol.* 44 : 1016-1024.
- 74 Taylor, G. A., 1954. The Effects Of Three Levels Of Magnesium On The Nutrient Element Composition Of Two Inbred Lines Of Corn And On Their Susceptibility To *Helminthosporium Maydis*. *Plant Physiol.* 29 : 87-91.
- 76 Lehtinen, U. 1993. Plant Cell Wall Degrading Enzymes Of *Septoria Nodorum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 43:121-134.
- 77 De Lorenzo, G., Castoria, R., And Cervone, F. 1997. Fungal Invasion Enzymes And Their Inhibition. Pages 61-83 In: *The Mycota. Plant Relationships, Part A Vol. 5.* K. Esser And P. A. Lemke, Eds. Springer-Verlag, Berlin.
- 78 Mussel H.W., 1973. Endopolygalacturonase ; Evidence For Involvement In *Verticillium Wilt* Of Cotton. *Phytopathology* 63: 62-70.
- 79 Russel, S. 1975. The Role Of Cellulase Produced By *Verticillium Albo-Atrum* In *Verticillium Wilt* Of Tomatoes. *Phytopathologische Zeitschrift* 82, 35–48.
- 80 Balandina I.D., Shvetsova L.P. And Miryakubova M., 1976. Role Of Certain Enzymes Of *Verticillium Dahliae* In Pathogenesis Of *Verticillium Wilt* Of Cotton. *Fiziol. Rast.*, 23:155-159.
- 82 Whitney P.J., Heale J.B. And Vaughan J.G.,1972. Protein Changes In Vascular Wilt Diseases Of Lucerne Caused By *Verticillium Albo-Atrum* R & B. *Journal Of Experimental Botany* 23 (75): 400-414.
- 83 Ligoxigakis, E.K., Vakalounakis, D.J., And Thanassouloupoulos, C.C. (2002). Weed Hosts Of *verticillium* Ligoxigakis, E.K., Vakalounakis, D.J., And Thanassouloupoulos, C.C. *Dahliae* In Crete: Susceptibility, Symptomatology And Significance. *Phytoparasitica* 30: 511– 518.
- 84 Yildiz Dasgan H , Sebahattin Çürük, Sedat Mansuroglu, Sener Kurt,
- 86 Roberts, D. P., Denny, T. P., And Schell, M. A. 1988. Cloning Of The *Egl* Gene Of *Pseudomonas Solanacearum* And Analysis Of Its Role In Phytopathogenicity. *J.Bacteriol.* 170:1445-1451.
- 88 Bhat, R. G., And Subbarao, K. V. 1999. Host Range Specificity In *Verticillium Dahliae*. *Phytopathology* 89:1218-1285.

- 89** Robb, J., Shittu, H., Soman, K.V., Kurosky, A., And Nazar, R.N. (2012). Arsenal Of Elevated Defense Robb, J., Shittu, H., Soman, K.V., Kurosky, A., And Nazar, R.N. Proteins Fails To Protect Tomato Against *Verticillium Dahliae*. *Planta* 236: 623–633.
- 90** Rapilly F.(1968). Les Techniques De Mycologie En Pathologie Végétale. *Ann Epiphyt* 19 ,(N° Hs).
- 99** Lesuffleur F. (2007). Rhizodéposition À Court Terme De L'azote Et Exsudation Racinaire Des Acides Aminés Par Le Trèfle Blanc (*Trifolium Repens* L.). Thèse De Doctorat. Institut De Biologie Fondamentale Et Appliquée (Ibfa). Université De Caen, France
- 100** Whipps J. M. (1990). Carbon Economy In The Rhizosphere. In: *Ecological And Applied Microbiology*. Lynch J.M. (Eds). Wiley Series. 59-97.
- 101** Soufiane B. (1998). Isolement À Partir De La Rhizosphère Des Conifères De Bactéries Et D'actinomycètes Antagonistes Aux Champignons Phytopathogènes. Mémoire De Métrise. Faculté Des Sciences De L'agriculture Et De L'alimentation. Université Laval, Québec.
- 102** Walker Ts, Bais Hp, Grotewold E, Vivanco Jm. 2003a. Root Exudation And Rhizosphere Biology. *Plant Physiol*. 132:44-51
- 105** Louvet J., 1975- L'activité Des Champignons Phytopathogènes Dans Larhizosphère. *Coll. Rhizosphère*, 183-192.
- 106** Bellahcene M. 2004. La Verticilliose De L'olivier : Étude Épidémiologique Et Diversité Génétique De *Verticillium Dahlia* Kleb., Agent De La Verticilliose. Thèse. Doct. D'état. Univ. Oran (Algérie). 144pp.
- 107** Davet P., Rouxel H. 1997. Détection Et Isolement Des Champignons Du Sol. *Inra. Techniques Et Pratiques*, 203 P.
- 108** Booth C. 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237p.
- 109** Belabid L. 2003. La Fusariose Vasculaire De La Lentille (*Lens Culinaris* Med.) Dans Le Nord Ouest Algérien: Morphologie Et Diversité Génétique Chez *Fusarium Oxysporum* (Schlecht.) Emcnd. S. & H. F.Sp. *Lentis* (Vasud. & Srini.) En Relation Avec La Répartition Géographique Et Le Pouvoir Pathogène. Doct. D'état. Univ. Oran (Algérie), 178p.
- 110** Rieuf P. 1985. Clé D'identification Des Champignons Rencontrés Sur Les Plantes Maraîchères. Publication Inra, Paris.
- 111** Watanabe T. 1937, *Pictorial Atlas Of Soil And Seed Fungi Morphologies Of Cultured Fungi And Key To Species*, 2nd Edition P 446 - 453
- 112** Puhalla, J. E., And Hummel, M. 1983. Vegetative Compatibility Groups Within *Verticillium Dahliae*. *Phytopathology* 73:1305 1308.
- 113** Correll J.C., C.J.R. Klittichetj.F. Leslie,1987. Nitrate Non Utilizingmutants Of *F. Oxysporum* And Their Use In Vegetative Compatibility Tests. *Phytopathology*, 77, 1640-1646.

- 114** Molnàra., L. Sulyoket L. Hornok, 1990. Parasexual Recombination Between Vegetatively Incompatible Strains in *Fusarium Oxysporum*. *Mycol. Res.*, 94, 393-398.
- 115** Rouhani H., Davet P., Poinso B., Beyries A., Messiaen C.M. 1979. Inventaire Et Évaluation Du Pouvoir Pathogène Des Composants De La Microflore Fongique Sur Racines De Maïs En France. *Ann. Phytopathol.*, 11 (1) : 69-93.
- 116** Boukenadel F. 2001. Contribution À L'étude De *Verticillium Dahliae* Kleb., Agent De La Verticilliose De L'olivier. Mém. Magister, Univ. Tlemcen (Algérie), 103p.
- 117** Bhat R.G., Koike S.T., Smith R.F., Subbarao K.W., Wu B.M. 2003. Characterization Of *Verticillium Dahliae* Isolates And Wilt Epidemics Of Pepper. *Plant Disease*, 87: 789-797.
- 118** Regragui A. 2005. Contribution À L'étude De L'influence De La Salinité Sur Le Couple Tomate —*Verticillium* : Conséquences Physiologiques Et Impact Sur La Bioprotection Des Tomates Contre La Verticilliose. Doct. D'état. Univ. Mohammed V-Agdal (Maroc). 257p.
- 119** Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi Iviayed F., Jebari H., El Mahjoub M. 2007. Incidence Of *Verticillium* Wilt Of Melon In Tunisia. *Afr. J. Plant Science And Biotechnology.*, 1(1): 10-15.
- 120** Harir M. 2010. Effet Antagonistes Entre Les Souches D'actinomycètes Et Le *Verticillium Dahlae* Kleb., Agent De La Verticilliose De L'olivier. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 77p.
- 121** Bounoua M.D. 2008. Essais D'utilisation Des *Pseudomonas* Spp. Et *Bacillus* Spp. Dans Le Biocontrôle De *Fusarium Oxysporum* F.Sp. *Lycopersici* Sur Tomate Et *Verticillium Dahliae* Sur L'olivier. Mem. Magister Univ. Oran (Algérie), 90p.
- 122** Malik M.S. 2010. Contribution À L'étude Du Pouvoir Pathogènes De *Verticillium Dahlae* Kleb., Agent De La Verticilliose De L'olivier. Mém. Magis. Centr. Univ. Mascara (Algérie) 85p.
- 123** Ramualde N. 1992. Influence Des Conditions De Culture Sur La Croissance De *V. Dahliae* Et Diversité Du Pouvoir Pathogène Du Champignon Vis-À-Vis Du Cotonnier. Maîtrise De Physiologie Végétale Appliquée. Univ. Montpellier (France). 34p.
- 124** Boukenadel F. 2001. Contribution À L'étude De *Verticillium Dahliae* Kleb., Agent De La Verticilliose De L'olivier. Mém. Magister, Univ. Tlemcen (Algérie), 103p.
- 125** Campbell C.L., Van Der Gaag D.J. 1993. Temporal And Spatial Dynamics Of *Microsclerotia* Of *Macrophomina Phaseolina* In Three Fields In North Carolina Over Four To Five Years. *Phytopathology*, 83: 1434-1440.
- 126** Singh, A., 1968. Studies On *Helminthosporium Solani*, The Causal Organism Of Silver Scurf Of Potato. Ph. D. Thesis, North Dakota State University, Nd, 60 Pages.

- 127** Nyiransengiyumva, C ,2007. Effet De Différents Éléments Minéraux Sur La Croissance Et Le Développement Du Champignon Helminthosporium Solani, Agent Responsable De La Gale Argentée De La Pomme De Terre.P58.
- 128** M. Novo, F. Pomar, C. Gayoso, And F. Merino,2006. Departamento De Biología Animal, Biología Vegetal Y Ecología, Facultad De Ciencias, Universidad De A Coruña, La Zapateira S/N 15071 A Coruña.
- 129** Somogy, M. 1952. Notes On Sugar Determination. J. Biol. Chem. 195:19-23.
- 130** Desphande, M. V., Petterss, L. G., And Eriksson, K. E. 1988. Selective Assay For Exo-1,4- B-Glucanases. Method Enzymol. 160:126-130.
- 131** Bradford, M. M. 1976. A Rapid And Sensitive Method For The Quantitation Of Microgram Quantities Of Protein Utilizing The Principle Of Proteindye Binding. Anal. Biochem. 72:248-254
- 132** Etang M., 2012-Effet De Différents Paramètres De L'environnement Sur Le Déterminisme Biochimie D'exsudats Racinaires De Crotalaria Spp. : Application À La Nématorégulation En Production Végétale. Thèse De Doctorat Sous La Direction De H. Ozier-Lafontaine.
- 133** Minh, T.T.L., Mignard, B., Vinter, E., Ayala, O., Hông, P.V.C., Tuyén, B.C., Dechaux, C., Lanoue, A., Boitel-Conti, M., Bourgaud, F., 2004. Etude De La Production D'alcaloïdes Tropaniques Chez Datura Innoxia Mill. Cultivé En Hydroponie; Evaluation D'un Procédé Générique De Production De Métabolites Végétaux À Usage Thérapeutique Et/Ou Cosmétique.
- 134** Dubois M-K-A, Gilles Y-K Et Hamilton P-A., 1956. Colemetric Method For Determination Of Sugars And Related Substance. Anal And Chem. Jour: 28. P: 350-356.
- 135** Naidu, B.P., D.F. Cameron Et S.V. Konduri (1998). Improving Drought Tolerance Of Cotton By Glycine Betaine Application And Selection. Proceedings Of The Australian Agronomy Conference, July 20-23, 1998, The Australian Society Of Agronomy, Australia
- 136** Toueni M., (2014). Étude De L'interaction Entre *Verticillium Alfalfae* Et *Medicago Truncatula*. Institut National Polytechnique De Toulouse (Inp Toulouse). Thèse De Doctorat Pp 391
- 137** Degaichia H. Bouchenka F. Benrima A. Et Agmengol Forti J. ; 2019. Modélisation De L'extension Linéaire De Verticillium Dahliae Kleb. (Moniliaceae) Dans Le Sol En Fonction Des Exsudats Racinaires De L'aubergine. Revue Agrobiologia (2019) 9(1) Issn (Print): 2170-1652 Pp: 1284-1291
- 138** Ashworth, L. J., Jr., Huisman, O. C., Harper, D. M., And Stromberg, L. K. 1974. Free And Bound Microsclerotia Of *Verticillium Albo-Atrum* In Soils. Phytopathology 64:563-564.
- 139** Devay, J. E., Forrester, L. L., Garber, R. H., And Butterfield, E. J. 1974. Characteristics And Concentration Of Propagules Of *Verticillium Dahliae* In Air-Dried Field Soils In Relation To The Prevalence Of Verticillium Wilt In Cotton. Phytopathology 64:22-29

- 140 Lacy, M. L., And Horner, C. E. 1966. Behavior Of *Verticillium Dahliae* In The Rhizosphere And On Roots Of Plants Susceptible, Resistant, And Immune To Wilt. *Phytopathology* 56:427-430
- 141 Mol, L. 1995. Effect Of Plant Roots On The Germination Of Microsclerotia Of *Verticillium Dahliae*. ii. Quantitative Analysis Of The Luring Effect Of Crops. *Eur. J. Plant Pathol.* 101:679-685
- 142 Schreiber, L. R., And Green, R. J. 1963. Effect Of Root Exudates On Germination Of Conidia And Microsclerotia Of *Verticillium Albo-Atrum* Inhibited By Soil Fungistatic Principle. *Phytopathology* 53:260-264.
- 143 Huisman, O. C. 1982. Interrelationship Of Root Growth Dynamics To Epidemiology Of Root-Invading Fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.* 20:303-327.
- 144 Rudolph, B.A. (1931) *Verticillium* Hadromycosis. *Hilgardia* 5, 201–361.
- 145 Selman, I.W. And Pegg, G.F. (1957) An Analysis Of The Growth Response Of Young Tomato Plants To Infection By *Verticillium Albo-Atrum*. *Annals Of Applied Biology* 45, 674–681.
- 146 Wiese, M.V. And Devay, J.E. (1970) Growth Regulator Changes In Cotton Associated With Defoliation Caused By *Verticillium Albo-Atrum*. *Plant Physiology* 45, 304–309.
- 147 Garber, R.H. (1973) *United States Department Of Agriculture Publication 1 .* Ars-S-19. Pp. 69–77.
- 148 Schnathorst, W.C. And Mathré, O.E. (1966b) Cross Protection In Cotton By Strains Of *Verticillium Albo-Atrum*. *Phytopathology* 56, 1204–1209.
- 149 Schnathorst, W.C. (1981) Life Cycle And Epidemiology Of *Verticillium*. In: Mace, M.E., Bell, A.A. And Beckman, C.H. (Eds) *Fungal Wilt Diseases Of Plants*. Academic Press, New York, Pp. 81–111.
- 150 Friebertshauser, G.E. And Devay, J.E. (1982) Differential Effects Of The Defoliating And Nondefoliating Pathotypes Of *Verticillium Dahliae* Upon The Growth And Development Of *Gossypium Irsutum*. *Phytopathology* 72, 872–877.
- 151 Devay, J.E. (1990) Physiological Responses Of Cotton (*Gossypium Hirsutum*) Cultivars To Different Pathotypes Of *Verticillium Dahliae*. *Proceedings Of The Fifth International Verticillium Symposium*. Leningrad, P. 62.
- 152 Douhan, L. I., And Johnson, D. A. 2001. Vegetative Compatibility And Pathogenicity Of *Verticillium Dahliae* From Spearmint And Peppermint. *Plant Dis.* 85:297-302.
- 153 Koike, S. T., Subbarao, K. V., Davis, R. M., Gordon, T. R., And Hubbard, J. C. 1994. *Verticillium* Wilt Of Cauliflower In California. *Plant Dis.* 78:1116- 1121.
- 154 Qin, Q.-M., Vallad, G. E., Wu, B. M., And Subbarao, K. V. 2006. Phylogenetic Analyses Of Phytopathogenic Isolates Of *Verticillium* Spp. *Phytopathology* 96:582 592.
- 155 Subbarao, K. V., Chassot, A., Gordon, T. R., Hubbard, J. C., Bonello, P., Mullin, R., Okamoto, D., Davis, R. M., And Koike, S. T. 1995. *Genetic*

*Relationships And Cross Pathogenicities Of Verticillium Dahliae Isolates From Cauliflower And Other Crops. Phytopathology 85:1105-1112.*

- 156** Subbarao, K. V., Hubbard, J. C., Greathead, A. S., And Spencer, G. A. 1997. *Verticillium Wilt. Pages 26-27 In: Compendium Of Lettuce Diseases. R. M. Davis, K. V Subbarao, R. N. Raid, And E. A. Kurzt, Eds. American Phytopathological Society, St. Paul, Mn.*
- 157** Navas-Cortés, J. A., Landa, B. B., Mercado-Blanco, J., Trapero-Casas, J. L., Rodríguez-Jurado, D., And Jiménez-Díaz, R. M. 2008. Spatiotemporal Analysis Of Spread Of *Verticillium Dahliae* Pathotypes Within A High Tree Density Olive Orchard In Southern Spain. *Phytopathology 98:167-180.*
- 158** Schnathorst, W. C., And Mathre, D. E. 1966. *Host Range And Differentiation Of A Severe Form Of Verticillium Albo-Atrum In Cotton. Phytopathology 56:1155-1161.*
- 159** Alexander, L. J. 1962. Susceptibility Of Certain *Verticillium*-Resistant Tomato Varieties To An Ohio Isolate Of The Pathogen. *Phytopathology 52:998- 1000.*
- 160** Dobinson, K. F., Tenuta, G. K., And Lazarovits, G. 1996. Occurrence Of Race 2 Of *Verticillium Dahliae* In Processing Tomato Fields In Southwestern Ontario. *Can. J Plant Pathol.-Rev. Can. Phytopathol. 18:55-58.*
- 161** Vallad, G. E., Qin, Q.-M., Grube, R., Hayes, R. J., And, Subbarao, K. V. 2006. *Characterization Of Race-Specific Interactions Among Isolates Of Verticillium Dahliae Pathogenic On Lettuce. Phytopathology 96:1380-1387.*
- 162** Chambonnet, D., Pochard, E., And Vigouroux, A. 1967. La Verticilliose De L'artichaut Dans Le Sud-Est De La France. *Phytopathol. Mediterr. 6:95-99.*
- 163** Cirulli, M., Ciccarese, F., And Frisullo, S. 1984. L'avvizzimento Del Carciofo Da *Verticillium Dahliae* Kleb. In Italia Meridionale. *Inform. Agrar. 40(30):52-54.*
- 164** Ciccarese, F., Schiavone, D., And Bottalico, A. 2005. Survey On Verticillium-Wilt Of Artichoke In Apulia And Pathogenic Variations Among Isolates Of *Verticillium Dahliae*. *Acta Hort. 681:617-623.*
- 165** Berbegal, M., Ortega, A., Jiménez-Gasco, M. M., Olivares-García, C., Jiménez-Díaz, R. M., And Armengol, J. 2010. Genetic Diversity And Host Range Of *Verticillium Dahliae* Isolates From Artichoke And Other Vegetable Crops In Spain. *Plant Dis. 94:396-404.*
- 166** Ashworth, L. J., Jr. 1983. Aggressiveness Of Random Isolates Of *Verticillium Dahliae* From Cotton And The Quantitative Relationship Of Internal Inoculum To Defoliation. *Phytopathology 73:1292-1295.*
- 167** Grogan, R. G., Ioannou, N., Schneider, R. W., Sall, M. A., And Kimble, K. 1979. Verticillium Wilt On Resistant Tomato Cultivars In California: Virulence Of Isolates From Plants And Soil And Relationship Of Inoculum Density To Disease Incidence. *Phytopathology 69:1176-1180.*
- 168** Joaquim, T. R., And Rowe, R. C. 1991. Vegetative Compatibility And Virulence Of Strains Of *Verticillium Dahliae* From Soil And Potato Plant. *Phytopathology 81:552 558.*

- 169 Barbara, D. J., And Clewes, E. 2003. Plant Pathogenic *Verticillium* Species: How Many Of Them Are There. *Mol. Plant Pathol.* 4:297-305.
- 170 Katan, T. 2000. Vegetative Compatibility In Populations Of *Verticillium* – An Overview. Pages 69-86 In: *Advances In Verticillium: Research And Disease Management*. E. C. Tjamos, R. C. Rowe, J. B. Heale, And R. D. Fravel, Eds. American Phytopathological Society, St. Paul, Mn.
- 171 Rowe, R. C. 1995. Recent Progress In Understanding Relationships Between *Verticillium* Species And Subspecific Groups. *Phytoparasitica* 23:31-38.
- 172 Carder, J. H., And Barbara, D. J. 1994. Molecular Variation Within Some Japanese Isolates Of *Verticillium Dahliae*. *Plant Pathol.* 43:947-950.
- 173 Jiménez-Díaz, R. M., Mercado-Blanco, J., Olivares-García, C., Colladoromero, M., Bejarano-Alcázar, J., Rodríguez-Jurado, D., Giménez-Jaime, A., García Jiménez, J., And Armengol, J. 2006. Genetic And Virulence Diversity In *Verticillium Dahliae* Populations Infecting Artichoke In Easterncentral Spain. *Phytopathology* 96:288-298.
- 174 Mercado-Blanco, J., Rodríguez-Jurado, D., Parrilla-Araujo, S., And Jiménez-Díaz, R. M. 2003. Simultaneous Detection Of The Defoliating And Nondefoliating *Verticillium Dahliae* Pathotypes In Infected Olive Plants By Duplex, Nested Polymerase Chain Reaction. *Plant Dis.* 87:1487-1494.
- 175 Pérez-Artés, E., García-Pedrajas, M. D., Bejarano-Alcázar, J., And Jiménez-Díaz, R. M. 2000. Differentiation Of Cotton-Defoliating And Nondefoliating Pathotypes Of *Verticillium Dahliae* By Rapd And Specific Pcr Analyses. *Eur. J. Plant Pathol.* 106:507-517.
- 176 Leslie, J. F. 1993. Fungal Vegetative Compatibility. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31:127-150.
- 177 Hastie, A. C. 1981. The Genetics Of Conidial Fungi. Pages 511-543 In: *Biology Of Conidial Fungi*, Vol. 2. G. T. Cole And W. B. Kendrick, Eds. Academic Press, New York.
- 178 Bell, A. A. 1994. Mechanisms Of Disease Resistance In *Gossypium* Species And Variation In *Verticillium Dahliae*. Pages 225-235 In: *Proc. World Cotton Res. Conf.1* G. A. Constable And N. W Forrester, Eds. Csiro, Melbourne, Australia.
- 179 Bhat, R. G., Smith, R. F., Koike, S. T., Wu, B. M., And Subbarao, K. V. 2003. Characterization Of *Verticillium Dahliae* Isolates And Wilt Epidemics Of Pepper. *Plant Dis.* 87:789-797.
- 180 Chen, W. 1994. Vegetative Compatibility Groups Of *Verticillium Dahliae* From Ornamental Woody Plants. *Phytopathology* 84:214-219.
- 181 Joaquim, T. R., And Rowe, R. C. 1990. Reassessment Of Vegetative Compatibility Relationships Among Strains Of *Verticillium Dahliae* Using Nitrate– Nonutilizing Mutants. *Phytopathology* 80:1160-1166.
- 182 Strausbaugh, C. A., Schroth, M. N., Weinhold, A. R., And Hancock, J. G. 1992. *Assessment Of Vegetative Compatibility Of Verticillium Dahliae Tester Strains*

*And Isolates From California Potatoes. Phytopathology 82:61-68.*

- 183** Strausbaugh, C. A. 1993. Assessment Of Vegetative Compatibility And Virulence Of *Verticillium Dahliae* Isolates From Idaho Potatoes And Tester Strains. *Phytopathology 83:1253-1258.*
- 184** Collado-Romero, M., Mercado-Blanco, J., Olivares-García, C., Valverdecorredor, A., And Jiménez-Díaz, R. M. 2006. Molecular Variability Within And Among *Verticillium Dahliae* Vegetative Compatibility Groups Determined By Fluorescent Amplified Fragment Length Polymorphism And Polymerase Chain Reaction Markers. *Phytopathology 96:485-495.*
- 185** Cirulli M., Bubici G., Amenduni M., Armengol J., Berbegal M., Jiménez-Gasco M., Jiménez-Díaz R.M. 2010. *Verticillium* Wilt: A Threat To Artichoke Production. *Plant Disease / Vol. 94 No. 10*
- 186** Berbegal, M., Garzón, C., Ortega, A., Armengol, J., Jiménez-Díaz, R. M., And Jiménez-Gasco, M. M. 2010. Development And Application Of New Molecular Markers For The Analysis Of Genetic Diversity In *Verticillium Dahliae* Populations. *Plant Pathol. In Press.*
- 187** Goud, J. C., Termorshuizen, A. J., And Gams, W. 2003. Morphology Of *Verticillium Dahliae* And *V. Tricorpus* On Semi-Selective Media Used For The Detection Of *V. Dahliae* In Soil. *Mycol. Res. 107:822-830*
- 188** 188. Bell, A.A. (1992b) Biology And Ecology Of *Verticillium Dahliae*. In: Lyda, S.D. (Ed.) *Comparative Pathology Of Sclerotial-Forming Plant Pathogens: A Phymatotrichum Omnivorum Symposium.* Texas A & M University Press, College Station, Texas.
- 189** Brinkerhoff, L.A. (1973) Effects Of Environment On The Pathogen And The Disease. *Verticillium Wilt Of Cotton. Proceedings Of A Work Conference Of The National Cotton Pathology Research Laboratory.* College Station, Texas 1971, Ars-S19. Pp. 98–104.
- 190** Jones, J.P., Overman, A.J. And Geraldson, C.M. (1971) Fumigants For The Control Of *Verticillium* Wilt Of Tomato. *Plant Disease Reporter 55, 26–30.*
- 191** Foy, C.D., Webb, H.W. And Jones, J.E. (1981) Adaptation Of Cotton Genotypes To An Acid Manganese Toxic Soil. *Agronomy Journal 73, 107–110.*
- 192** 192. Shao, F.M. And Foy, C.D. (1982) Interaction Of Soil Manganese And Reaction Of Cotton To *Verticillium* Wilt And *Rhizoctonia* Root Rot. *Commun. Soil Science Plant Analysis 1, 21–38.*
- 193** Orellana, R.G., Foy, C.D. And Fleming, A.L. (1975) Effect Of Soluble Aluminium On Growth And Pathogenicity Of *Verticillium Albo-Atrum* And *Whetzelinia Sclerotiorum* From Sunflower. *Phytopathology 65, 202–205.*
- 194** Babaev, F.A. And Bagirov, M. (1967) [On The Control Of *Verticillium* Wilt Of Cotton]. *Zashchita Rastenii Moscow 12, 21–22.*
- 195** Chlumská, J. And Krátká, J. (1984) [Changes In Ph In Lucerne Plants After Inoculation With *Verticillium Albo-Atrum* And *Corynebacterium Michiganense*

Pv. Insidiosum]. Sbornik-Uvtiz, Ochrana Rostlin 1984 20, 189–194.

- 196** Cook J. R., Theresa C. C. Li, (1973), Influence Of Culture Ph On Chloroplast Structure In Euglena Gracilis, The Journal Of Protozoology volume 20, Issue 5, Pages 652-653
- 197** Besri, M. (1990) Effect Of Salinity On The Development Of Tomato Verticillium Wilt In Morocco. Proceedings Of The Fifth International Verticillium Symposium. Leningrad. P. 61
- 198** 198. Livescu, L., Kaufman, Z. And Nachmias, A. (1990) The Effect Of Salinity On Verticillium Wilt Of Potato. Proceedings Of The Fifth International Verticillium Symposium. Leningrad, P. 9.
- 199** 199. Nachmias, A., Kaufman, Z., Livescu, L., Tsrer, L., Meiri, A. And Caligari, P.D.S. (1993) Effects Of Salinity And Its Interactions With Disease Incidence On Potatoes Grown In Hot Climates. Phytoparasitica 21(3), 245–255
- 200** Imrani N, Chahdi Oa, Chliyeh M, Touati J, Touhami Oa, Benkirane R , Et Douira A. 2014. Effet In Vitro De Différents Niveaux Npk Sur La Croissance Mycélienne Et La Sporulation De Cinq Pathogènes Foliaires Du Riz : Helminthosporium Sp. Et Curvularialunata. Université Ibn Tofaïl, Faculté Des Sciences, Laboratoire De Botanique Et De Protection Des Plantes, B.P. 133, Kenitra, Maroc. Pp7250.
- 201** Deacon, J. W., 2006. Fungal Biology. 4<sup>th</sup> Edition. Institute Of Cell And Molecular Biology, University Of Edinburgh, Blackwell Publishing, U. K., 371 Pages.
- 202** Whitaker, A., 1976. Amino Acid Transport In Fungi : An Essay. Trans. Brit. Mycol. Soc. 67 : 365-376.
- 203** Shipton, W. A., 1977. Some Nutritional Factors Regulating Formation Of Fertile Perithecia Of Calonectria Camelliae. Trans. Brit. Mycol. Soc. 69 : 59-62.
- 204** Davis, J.R. And Everson, D.O. (1986) Relation Of Verticillium Dahliae In Soil And Potato Tissue, Irrigation Method, And N-Fertility To Verticillium Wilt Of Potato. Phytopathology 76, 730–736.
- 205** Hervieux, V., 2000. Stratégies De Lutte Contre La Tache Argentée De La Pomme De Terre: Traitements Fongicides De La Semence Et Application Post-&Colte De Sels Organiques Et Inorganiques. Mémoire De Maîtrise, Faculté Des Sciences De L'agriculture Et De L'alimentation, Université Laval, 125 Page
- 206** Huber, D.M. And Watson, R.D. (1970) Effect Of Organic Amendment On Soil-Borne Plant Pathogens. Phytopathology 60, 22–26.
- 207** Dimond, A.E. (1955) Pathogenesis In The Wilt Diseases. Annual Review Of Plant Physiology 6, 329–350.
- 208** Dimond, A.E. (1970) Biophysics And Biochemistry In The Vascular Wilt Syndrome. Annual Review Of Phytopathology 8, 301–322.
- 209** Pegg, G.F. (1981a) Biochemistry And Physiology Of Pathogenesis. In: Mace, M.E., Bell, A.A. And Beckman, C.H. (Eds) Fungal Wilt Diseases Of Plants.

Academic Press, New York, Pp. 193–253

- 210** Pegg, G.F. (1981b) The Impact Of Verticillium Diseases On Agriculture. Abstracts Of The 3rd International Verticillium Symposium. University Of Bari, Italy, P. 50.
- 211** Pegg, G.F. (1985) Life In A Black Hole – The Micro-Environment Of The Vascular Pathogen. Transactions Of The British Mycological Society 85, 1–20.
- 212** Beckman, C.H. (1987) Nature Of Wilt Diseases Of Plants. American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota.
- 213** Heale, J.B. (1988) Verticillium Spp., The Cause Of Vascular Wilts In Many Species. Advances In Plant Pathology 6, 291–312.
- 214** Cooper, R.M. And Wood, R.K.S. (1975) Regulation Of Synthesis Of Cell-Wall Degrading Enzymes By Verticillium Albo-Atrum And Fusarium Oxysporum F. Sp Lycopersici. Physiological Plant Pathology 5, 135–156.
- 215** Keen, N.T., Long, M. And Malca, I. (1970) Induction And Repression Of B-Galactosidase Synthesis By Verticillium Albo-Atrum. Physiologia Plantarum 23, 691–696.
- 216** Mussell, H.W. And Strouse, B. (1971) Proteolytic Enzyme Production By Verticillium Alboatrum. Phytopathology 61, 904.
- 217** Pegg, G.F. And Vessey, J.C. (1973) Chitinase Activity In Lycopersicon Esculentum And Its Relation To The In Vivo Lysis Of Verticillium Albo-Atrum Mycelium. Physiological Plant Pathology 3, 207–222.
- 218** Pegg, G.F. And Young, D.H. (1982) Purification And Characterization Of Chitinase Enzymes From Healthy And Verticillium Albo-Atrum-Infected Tomato Plants, And From V. Albo-Atrum. Physiological Plant Pathology 21, 389–409.
- 219** Adylbekov, M.T., Sattarova, R.S., Mubarakova, F.Kh., Umarova, G.K. And Khalmuradov, A.G. (1991) -1,3-Glucanase Of Verticillium Dahliae. Proceedings Of The Fifth International Verticillium Symposium, Leningrad, P. 47.
- 220** Bakhali, A.H. (1991) Production Of Xylanase By Verticillium Dahliae. Microbiologica 14, 363–366.
- 221** Bakhali, A.H. (1989a) Specificities Of Pectolytic Enzymes Produced By Verticillium Tricorpus. Transactions Of The Mycological Society Of Japan 30, 161–167.
- 222** Bakhali, A.H. (1989b) Comparative Studies On Cellulolytic Activities Of Species Of Verticillium. Phytion Buenos Aires 50, 25–29.
- 223** Bakhali, A.H. (1987) Degradation Of Date Palm (Phoenix Dactylifera L.) Cell Walls By Extracellular Pectolytic Enzymes Produced By Verticillium Albo-Atrum And Verticillium Dahliae. International Journal Of Tropical Plant Diseases 5, 165–172.
- 224** Talboys, P.W. And Busch, L.V. (1970) Pectic Enzymes Produced By Verticillium Wilt Species. Transactions Of The British Mycological Society 55,

367–381.

- 225** Talboys, P.W. (1958a) Degradation Of Cellulose By *Verticillium Albo-Atrum*. Transactions Of The British Mycological Society 41, 242–248.
- 226** Keen, N.T. And Erwin, D.C. (1971) Endopolygalacturonase – Evidence Against Involvement In *Verticillium* Wilt Of Cotton. *Phytopathology* 61, 198–203.
- 227** Selvaraj, J.C. And Meyer, J.A. (1974) Electrophoretic Protein And Enzyme Patterns And Antigenic Structure In *Verticillium Dahliae* And *V. Albo-Atrum*. *Mycopathologia Et Mycologia Applicata* 54, 549–558.
- 228** Bell, A.A., Simpson, M.E., Marsh, P.B. And Howell, C.R. (1971) Proceedings Of The Beltwide Cotton Production Research Conference. National Cotton Council, Memphis, Tennessee, P. 84.
- 229** Heale, J.B. And Gupta, D.P. (1970) The Utilization Of Cellobiose By *Verticillium Albo-Atrum*. *Journal Of General Microbiology* 63, 175–181.
- 230** Bateman D.F., 1969. Some Characteristics Of The Cellulase System Produced By *Sclerotium Rolfii* Sacc. *Phytopathology* 59: 37-42.
- 232** Saksirirat & Hoppe (1991).
- 233** Howell, C. R. 1970. Differential Enzyme Synthesis By Haploid And Diploid Forms Of *Verticillium Albo-Atrum*. *Phytopathology* 60:488-490.
- 234** Le Cam, B., Massiot, P., And Rouxel, F. 1994. Cell Wall Polysaccharide-Degrading Enzymes Produced By Isolates Of *Mycocentrospora Acerina* Differing In Aggressiveness On Carrot. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44:187-198.
- 235** Barkai-Golan, R., And Karadavid, R. 1991. Cellulolytic Activity Of *Penicillium Digitatum* And *P. Italicum* Related To Fungal Growth And To Pathogenesis In Citrus Fruits. *J. Phytopathol.* 131:65-72.
- 236** Gough, C. L., Dow, J. M., Barber, C. E., And Daniels, M. J. 1988. Cloning Of Two Endoglucanase Genes Of *Xanthomonas Campestris* Pv *Campestris*: Analysis Of The Role Of The Major Endoglucanase In Pathogenesis. *Mol. Plant- Microbe Interact.* 1:275 281.
- 237** Mench Michel, 1985. Influence Des Exsudats Racinaires Solubles Sur La Dynamique Des Metaux Dans La Rhizospher Du Mais, *Zea Mays* L.Ed Grenoble,P 109.
- 238** Schroth Mn, Hildenbrand Dc (1964) Influence Of Plant Exsudates On Root-Infecting Fungi. *Annu Rev Phytopathol* 2, 101-132
- 239** Baetz U. Et Martinoia E. 2013 ; Root Exudates: The Hidden Part Of Plant Defense. *Trends In Plant Science.* 10(1120): 1-9

## ANNEXES 1

### Composition des milieux de culture

#### Milieux PDA (Rapilly 1968)

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

Peler, laver, couper en tranches minces les pommes de terre. Cuire 15 à 20 minutes dans 200 ml d'eau distillée, filtré sur mousseline et presser. Ajouter le glucose au filtrat, compléter le volume à 1000 ml, ajouter l'agar, le dissoudre. Autoclaver 30 min à 120°C

#### Milieu Czapeck-Dox (Rapilly 1968) Modifié par Novo (2006) CzDM

Élément	Quantité
NaNO <sub>3</sub>	3 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1 g
KCl	0,5 g
MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
FeSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,01 g
CMC	5 g
Eau distillée q.s.p	1000

#### Composition du réactif de Bradford (Bradford M.,1976.)

- Bleu brillant de Coomassie (BBC) G250 (Merck1544) .....100 mg.
- Éthanol (Sigma-Aldrich) à 95% .....50 ml.

*Après agitation pendant 2 heures à l'abri de la lumière on ajoute :*

- Acide ortho phosphorique (Sigma-Aldrich) à 85% .....100 ml.
- Eau distillée q.s.p .....1000 ml.

## L'eau gélosé

Agar	20 g
Eau distillée q.s.p	1000 ml

Autoclaver 30 min à 120°C

## Milieu Singh (1968)

Cop	
Saccharose	30
NaNO <sub>3</sub>	2
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,5
KCl	0,5
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,01
Acide citrique anhydre	4,6 mg
ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	5 mg
CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0,391 mg
MnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0,05 mg
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,05 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	0,05 mg
Vitamine B1 (Thiamine)	500 µg ajoutée stérilement après autoclavage
pH	6,8
Agar	15

## ANNEXE 3

### ANALYSES STATISTIQUES

- AUDPC

Souche	Sous-ensemble pour alpha = 0.05			
	1	2	3	4
36	142,09			
34	179,79	179,79		
33	195,09	195,09	195,09	
32	201,88	201,88	201,88	
30	209,69	209,69	209,69	
9	243,30	243,30	243,30	243,30
19	249,40	249,40	249,40	249,40
31	252,83	252,83	252,83	252,83
18	270,83	270,83	270,83	270,83
1	286,00	286,00	286,00	286,00
10	300,00	300,00	300,00	300,00
12	300,00	300,00	300,00	300,00
13	300,00	300,00	300,00	300,00
14	300,00	300,00	300,00	300,00
15	300,00	300,00	300,00	300,00
16	300,00	300,00	300,00	300,00
17	300,00	300,00	300,00	300,00
35	328,25	328,25	328,25	328,25
5	376,96	376,96	376,96	376,96
28	386,11	386,11	386,11	386,11
29	394,44	394,44	394,44	394,44
20	400,00	400,00	400,00	400,00
21	400,00	400,00	400,00	400,00
22	400,00	400,00	400,00	400,00
23	400,00	400,00	400,00	400,00
24	400,00	400,00	400,00	400,00
25	400,00	400,00	400,00	400,00
26	400,00	400,00	400,00	400,00
27	400,00	400,00	400,00	400,00
7	422,05	422,05	422,05	422,05
37	422,32	422,32	422,32	422,32
6		456,86	456,86	456,86
3		461,51	461,51	461,51
2			491,07	491,07
4			496,96	496,96
8			498,65	498,65
11				520,31
Signification	0,17	0,16	0,06	0,20

- ANOVA pH

ANOVA à 1 facteur V11

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	6658,20	2,00	3329,10	1,41	0,31
	Intra-groupes	14124,31	6,00	2354,05		
	Total	20782,51	8,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	269,39	2,00	134,70	254,15	0,00
	Intra-groupes	3,18	6,00	0,53		
	Total	272,57	8,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	8,67	2,00	4,34	0,01	0,99
	Intra-groupes	2277,64	6,00	379,61		
	Total	2286,32	8,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,35	2,00	0,18	1,46	0,31
	Intra-groupes	0,73	6,00	0,12		
	Total	1,08	8,00			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	3236,24	2,00	1618,12	1,41	0,32
	Intra-groupes	6901,43	6,00	1150,24		
	Total	10137,68	8,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	18,14	2,00	9,07	1,79	0,25
	Intra-groupes	30,35	6,00	5,06		
	Total	48,49	8,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	5038,72	2,00	2519,36	78,33	0,00
	Intra-groupes	192,97	6,00	32,16		
	Total	5231,70	8,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,79	2,00	0,40	1,38	0,32
	Intra-groupes	1,72	6,00	0,29		
	Total	2,52	8,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	6658,20	2,00	3329,10	1,41	0,31
	Intra-groupes	14124,31	6,00	2354,05		
	Total	20782,51	8,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	323,33	2,00	161,67	282,36	0,00
	Intra-groupes	3,44	6,00	0,57		
	Total	326,77	8,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	8,67	2,00	4,34	0,01	0,99
	Intra-groupes	2277,64	6,00	379,61		
	Total	2286,32	8,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,35	2,00	0,18	1,46	0,31
	Intra-groupes	0,73	6,00	0,12		
	Total	1,08	8,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 4A**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	3490,51	2,00	1745,25	1,52	0,29
	Intra-groupes	6881,43	6,00	1146,91		
	Total	10371,94	8,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	18,14	2,00	9,07	1,79	0,25
	Intra-groupes	30,35	6,00	5,06		
	Total	48,49	8,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	5038,72	2,00	2519,36	78,33	0,00
	Intra-groupes	192,97	6,00	32,16		
	Total	5231,70	8,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,79	2,00	0,40	1,38	0,32
	Intra-groupes	1,72	6,00	0,29		
	Total	2,52	8,00			

**ANOVA à 1 facteur V11**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	1053,39	2,00	526,70	121,54	0,00
	Intra-groupes	26,00	6,00	4,33		
	Total	1079,39	8,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	132522658,67	2,00	66261329,33	48,46	0,00
	Intra-groupes	8203571,33	6,00	1367261,89		
	Total	140726230,00	8,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	173755,56	2,00	86877,78	3,25	0,11
	Intra-groupes	160533,33	6,00	26755,56		
	Total	334288,89	8,00			
Pourcentage de viabilité (%)	Inter-groupes	147,72	2,00	73,86	116,54	0,00
	Intra-groupes	3,80	6,00	0,63		
	Total	151,52	8,00			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	28,79	2,00	14,40	1,00	0,42
	Intra-groupes	86,37	6,00	14,40		
	Total	115,17	8,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	43975714,89	2,00	21987857,44	3,26	0,11
	Intra-groupes	40506420,00	6,00	6751070,00		
	Total	84482134,89	8,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	45600,00	2,00	22800,00	2,69	0,15
	Intra-groupes	50800,00	6,00	8466,67		
	Total	96400,00	8,00			
Pourcentage de viabilité (%)	Inter-groupes	3,55	2,00	1,77	2,12	0,20
	Intra-groupes	5,02	6,00	0,84		
	Total	8,57	8,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	1053,39	2,00	526,70	121,54	0,00
	Intra-groupes	26,00	6,00	4,33		
	Total	1079,39	8,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	132522658,67	2,00	66261329,33	48,46	0,00
	Intra-groupes	8203571,33	6,00	1367261,89		
	Total	140726230,00	8,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	173755,56	2,00	86877,78	3,25	0,11
	Intra-groupes	160533,33	6,00	26755,56		
	Total	334288,89	8,00			
Pourcentage de viabilité (%)	Inter-groupes	144,82	2,00	72,41	115,03	0,00
	Intra-groupes	3,78	6,00	0,63		
	Total	148,59	8,00			

## ANOVA à 1 facteur VCG 4A

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	28,79	2,00	14,40	1,00	0,42
	Intra-groupes	86,37	6,00	14,40		
	Total	115,17	8,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	43975714,89	2,00	21987857,44	3,26	0,11
	Intra-groupes	40506420,00	6,00	6751070,00		
	Total	84482134,89	8,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	45600,00	2,00	22800,00	2,69	0,15
	Intra-groupes	50800,00	6,00	8466,67		
	Total	96400,00	8,00			
Pourcentage de viabilité (%)	Inter-groupes	3,59	2,00	1,80	2,11	0,20
	Intra-groupes	5,10	6,00	0,85		
	Total	8,69	8,00			

- ANOVA NaCl

ANOVA à 1 facteur V11

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	1426,59	3,00	475,53	0,55	0,66
	Intra-groupes	6948,26	8,00	868,53		
	Total	8374,85	11,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	0,30	3,00	0,10	0,03	0,99
	Intra-groupes	26,00	8,00	3,25		
	Total	26,30	11,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	4903,24	3,00	1634,41	6,15	0,02
	Intra-groupes	2125,01	8,00	265,63		
	Total	7028,25	11,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,22	3,00	0,07	0,33	0,80
	Intra-groupes	1,75	8,00	0,22		
	Total	1,97	11,00			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	775,28	3,00	258,43	0,26	0,85
	Intra-groupes	8040,61	8,00	1005,08		
	Total	8815,90	11,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	5,36	3,00	1,79	0,19	0,90
	Intra-groupes	76,79	8,00	9,60		
	Total	82,15	11,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	16708,13	3,00	5569,38	61,37	0,00
	Intra-groupes	726,06	8,00	90,76		
	Total	17434,19	11,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,09	3,00	0,03	2,44	0,14
	Intra-groupes	0,10	8,00	0,01		
	Total	0,18	11,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	1484,223	3	494,741	,548	,664
	Intra-groupes	7228,970	8	903,621		
	Total	8713,193	11			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	,309	3	,103	,030	,992
	Intra-groupes	27,053	8	3,382		
	Total	27,362	11			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	5101,273	3	1700,424	6,153	,018
	Intra-groupes	2210,823	8	276,353		
	Total	7312,096	11			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	,227	3	,076	,332	,803
	Intra-groupes	1,822	8	,228		
	Total	2,049	11			

**ANOVA à 1 facteur VCG 4A**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	806,60	3,00	268,87	0,26	0,85
	Intra-groupes	8365,45	8,00	1045,68		
	Total	9172,06	11,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol/min eq.glucose)	Inter-groupes	5,57	3,00	1,86	0,19	0,90
	Intra-groupes	79,89	8,00	9,99		
	Total	85,46	11,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	17383,19	3,00	5794,40	61,36	0,00
	Intra-groupes	755,42	8,00	94,43		
	Total	18138,61	11,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,09	3,00	0,03	2,45	0,14
	Intra-groupes	0,10	8,00	0,01		
	Total	0,19	11,00			

**ANOVA à 1 facteur V11**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	3258,0582	3	1086,0194	150,8002	2,2278E-07
	Intra-groupes	57,6136803	8	7,20171		
	Total	3315,67188	11			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	2812179407	3	937393136	74,95684	3,38025E-06
	Intra-groupes	100046171	8	12505771		
	Total	2912225578	11			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	3092,25	3	1030,75	81,91391	2,40074E-06
	Intra-groupes	100,666667	8	12,583333		
	Total	3192,91667	11			
Viabilité	Inter-groupes	0,22656338	3	0,0755211	49,2494	1,67746E-05
	Intra-groupes	0,01226754	8	0,0015334		
	Total	0,23883092	11			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm²)	Inter-groupes	444,93	3,00	148,31	24,38	0,00
	Intra-groupes	48,66	8,00	6,08		
	Total	493,58	11,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm²)	Inter-groupes	784958351,58	3,00	261652783,86	140,71	0,00
	Intra-groupes	14875621,33	8,00	1859452,67		
	Total	799833972,92	11,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	87,58	3,00	29,19	5,15	0,03
	Intra-groupes	45,33	8,00	5,67		
	Total	132,92	11,00			
Viabilité	Inter-groupes	0,04	3,00	0,01	28,66	0,00
	Intra-groupes	0,00	8,00	0,00		
	Total	0,04	11,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm²)	Inter-groupes	3458,32	3,00	1152,77	160,00	0,00
	Intra-groupes	57,64	8,00	7,20		
	Total	3515,96	11,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm²)	Inter-groupes	2481673908,92	3,00	827224636,31	144,70	0,00
	Intra-groupes	45733397,33	8,00	5716674,67		
	Total	2527407306,25	11,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	3118,33	3,00	1039,44	74,69	0,00
	Intra-groupes	111,33	8,00	13,92		
	Total	3229,67	11,00			
Viabilité	Inter-groupes	0,20	3,00	0,07	54,98	0,00
	Intra-groupes	0,01	8,00	0,00		
	Total	0,21	11,00			

## ANOVA à 1 facteur VCG 4A

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	444,98	3,00	148,33	24,38	0,00
	Intra-groupes	48,66	8,00	6,08		
	Total	493,64	11,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	235054837,58	3,00	78351612,53	4,46	0,04
	Intra-groupes	140548796,67	8,00	17568599,58		
	Total	375603634,25	11,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	116,92	3,00	38,97	7,79	0,01
	Intra-groupes	40,00	8,00	5,00		
	Total	156,92	11,00			
Viabilité	Inter-groupes	0,02	3,00	0,01	32,73	0,00
	Intra-groupes	0,00	8,00	0,00		
	Total	0,02	11,00			

- ANOVA éléments minéraux

ANOVA à 1 facteur VCG 4A

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance Inter-diamétrale mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	444,98	3,00	148,33	24,38	0,00
	Intra-groupes	48,66	8,00	6,08		
	Total	493,64	11,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	235054837,58	3,00	78351612,53	4,46	0,04
	Intra-groupes	140548796,67	8,00	17568599,58		
	Total	375603634,25	11,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	116,92	3,00	38,97	7,79	0,01
	Intra-groupes	40,00	8,00	5,00		
	Total	156,92	11,00			
Viabilité	Inter-groupes	0,02	3,00	0,01	32,73	0,00
	Intra-groupes	0,00	8,00	0,00		
	Total	0,02	11,00			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	53048,83	8,00	6631,10	62,37	0,00
	Intra-groupes	2657,79	25,00	106,31		
	Total	55706,63	33,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	0,16	8,00	0,02	9,11	0,00
	Intra-groupes	0,04	19,00	0,00		
	Total	0,20	27,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	70,20	8,00	8,77	129,96	0,00
	Intra-groupes	1,22	18,00	0,07		
	Total	71,41	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,01	8,00	0,00	33,20	0,00
	Intra-groupes	0,00	21,00	0,00		
	Total	0,01	29,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	11785,83	8,00	1473,23	41,20	0,00
	Intra-groupes	679,39	19,00	35,76		
	Total	12465,22	27,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	3,64	8,00	0,46	130,62	0,00
	Intra-groupes	0,08	24,00	0,00		
	Total	3,72	32,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	71,59	8,00	8,95	78,58	0,00
	Intra-groupes	2,05	18,00	0,11		
	Total	73,64	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,07	8,00	0,01	27,26	0,00
	Intra-groupes	0,01	22,00	0,00		
	Total	0,07	30,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 4A**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	55191,11	8,00	6898,89	62,38	0,00
	Intra-groupes	2764,92	25,00	110,60		
	Total	57956,02	33,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	0,17	8,00	0,02	9,08	0,00
	Intra-groupes	0,04	19,00	0,00		
	Total	0,21	27,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	73,03	8,00	9,13	130,00	0,00
	Intra-groupes	1,26	18,00	0,07		
	Total	74,29	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,01	8,00	0,00	33,23	0,00
	Intra-groupes	0,00	21,00	0,00		
	Total	0,01	29,00			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	22386,40	8,00	2798,30	77,95	0,00
	Intra-groupes	1830,72	51,00	35,90		
	Total	24217,12	59,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	31068474583,33	8,00	3883559322,92	7,71	0,00
	Intra-groupes	7554115000,00	15,00	503607666,67		
	Total	38622589583,33	23,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	720372,33	8,00	90046,54	2,83	0,04
	Intra-groupes	477639,50	15,00	31842,63		
	Total	1198011,83	23,00			
Viabilité	Inter-groupes	218,83	8,00	27,35	123,43	0,00
	Intra-groupes	3,32	15,00	0,22		
	Total	222,16	23,00			

**ANOVA à 1 facteur V11**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Croissance mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	18132,98	8,00	2266,62	77,95	0,00
	Intra-groupes	1482,88	51,00	29,08		
	Total	19615,87	59,00			
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	25337385245,83	8,00	3167173155,73	7,76	0,00
	Intra-groupes	6125033150,00	15,00	408335543,33		
	Total	31462418395,83	23,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	679748,12	8,00	84968,52	3,46	0,02
	Intra-groupes	368736,00	15,00	24582,40		
	Total	1048484,12	23,00			
Viabilité	Inter-groupes	325,58	8,00	40,70	176,22	0,00
	Intra-groupes	3,46	15,00	0,23		
	Total	329,05	23,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	26324064593,10	8,00	3290508074,14	7,75	0,00
	Intra-groupes	6369169689,26	15,00	424611312,62		
	Total	32693234282,36	23,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	670113,63	8,00	83764,20	3,08	0,03
	Intra-groupes	407498,63	15,00	27166,58		
	Total	1077612,26	23,00			
Croissance mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	18865,56	8,00	2358,19	77,95	0,00
	Intra-groupes	1542,79	51,00	30,25		
	Total	20408,35	59,00			
Viabilité	Inter-groupes	223,20	8,00	27,90	103,07	0,00
	Intra-groupes	4,06	15,00	0,27		
	Total	227,26	23,00			

## ANOVA à 1 facteur VCG 4A

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Nombre de conidies produites (UFC/cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	32688109456,50	8,00	4086013682,06	7,77	0,00
	Intra-groupes	7886949246,00	15,00	525796616,40		
	Total	40575058702,50	23,00			
Nombre de conidies viables (UFC/ml)	Inter-groupes	561393,56	8,00	70174,19	3,39	0,02
	Intra-groupes	310220,56	15,00	20681,37		
	Total	871614,12	23,00			
Croissance mycélienne (cm <sup>2</sup> )	Inter-groupes	14687,72	8,00	1835,96	77,95	0,00
	Intra-groupes	1201,13	51,00	23,55		
	Total	15888,85	59,00			
Viabilité	Inter-groupes	191,59	8,00	23,95	162,93	0,00
	Intra-groupes	2,20	15,00	0,15		
	Total	193,80	23,00			

## ANOVA à 1 facteur V11

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	11328,17	8,00	1416,02	41,20	0,00
	Intra-groupes	653,01	19,00	34,37		
	Total	11981,18	27,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (μmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	3,50	8,00	0,44	130,51	0,00
	Intra-groupes	0,08	24,00	0,00		
	Total	3,58	32,00			
Activité B-1,4 glucosidase (μmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	68,80	8,00	8,60	78,55	0,00
	Intra-groupes	1,97	18,00	0,11		
	Total	70,78	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,06	8,00	0,01	27,28	0,00
	Intra-groupes	0,01	22,00	0,00		
	Total	0,07	30,00			

**ANOVA à 1 facteur V36**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	53048,83	8,00	6631,10	62,37	0,00
	Intra-groupes	2657,79	25,00	106,31		
	Total	55706,63	33,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	0,16	8,00	0,02	9,11	0,00
	Intra-groupes	0,04	19,00	0,00		
	Total	0,20	27,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	70,20	8,00	8,77	129,96	0,00
	Intra-groupes	1,22	18,00	0,07		
	Total	71,41	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,01	8,00	0,00	33,20	0,00
	Intra-groupes	0,00	21,00	0,00		
	Total	0,01	29,00			

**ANOVA à 1 facteur VCG 2B**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	11785,83	8,00	1473,23	41,20	0,00
	Intra-groupes	679,39	19,00	35,76		
	Total	12465,22	27,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	3,64	8,00	0,46	130,62	0,00
	Intra-groupes	0,08	24,00	0,00		
	Total	3,72	32,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	71,59	8,00	8,95	78,58	0,00
	Intra-groupes	2,05	18,00	0,11		
	Total	73,64	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,07	8,00	0,01	27,26	0,00
	Intra-groupes	0,01	22,00	0,00		
	Total	0,07	30,00			

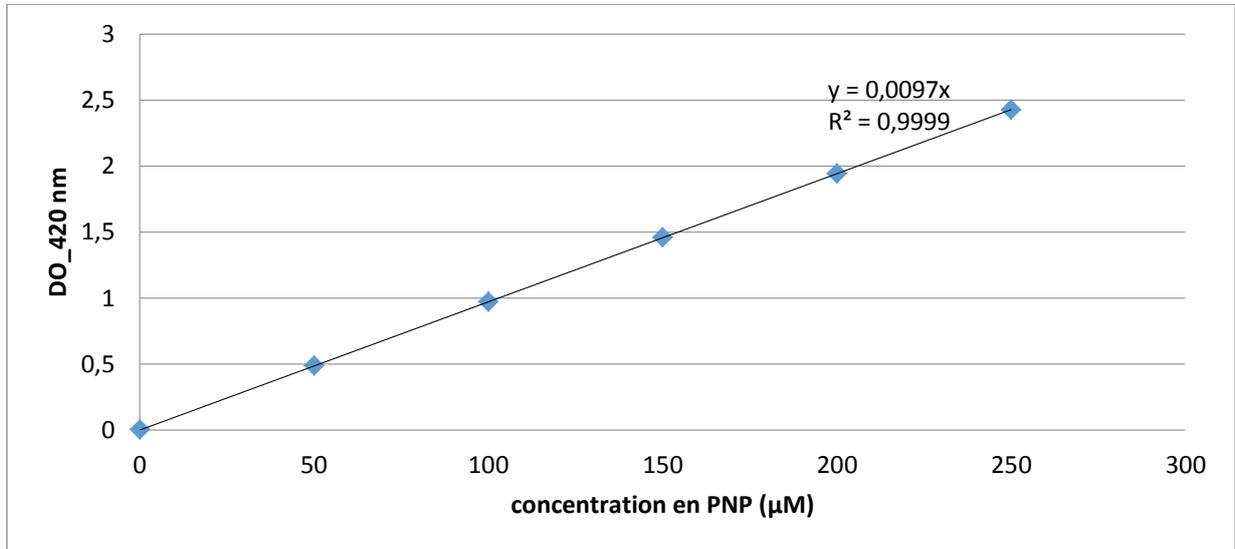
**ANOVA à 1 facteur VCG 4A**

		Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Poids mycélien (mg MS)	Inter-groupes	55191,11	8,00	6898,89	62,38	0,00
	Intra-groupes	2764,92	25,00	110,60		
	Total	57956,02	33,00			
Activité endo-B-1,4-glucanase (µmol /min eq.glucose)	Inter-groupes	0,17	8,00	0,02	9,08	0,00
	Intra-groupes	0,04	19,00	0,00		
	Total	0,21	27,00			
Activité B-1,4 glucosidase (µmol/min de p-nitrophényle)	Inter-groupes	73,03	8,00	9,13	130,00	0,00
	Intra-groupes	1,26	18,00	0,07		
	Total	74,29	26,00			
Teneur en Protéines (mg/g MS)	Inter-groupes	0,01	8,00	0,00	33,23	0,00
	Intra-groupes	0,00	21,00	0,00		
	Total	0,01	29,00			

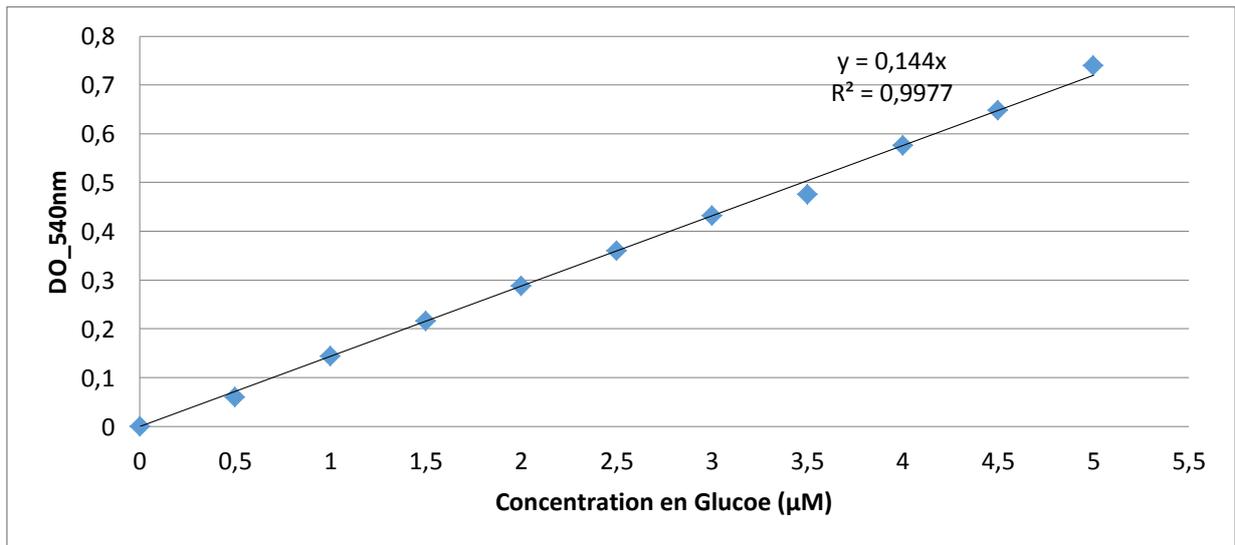
## ANNEXES 2

### COURBES ÉTALONS

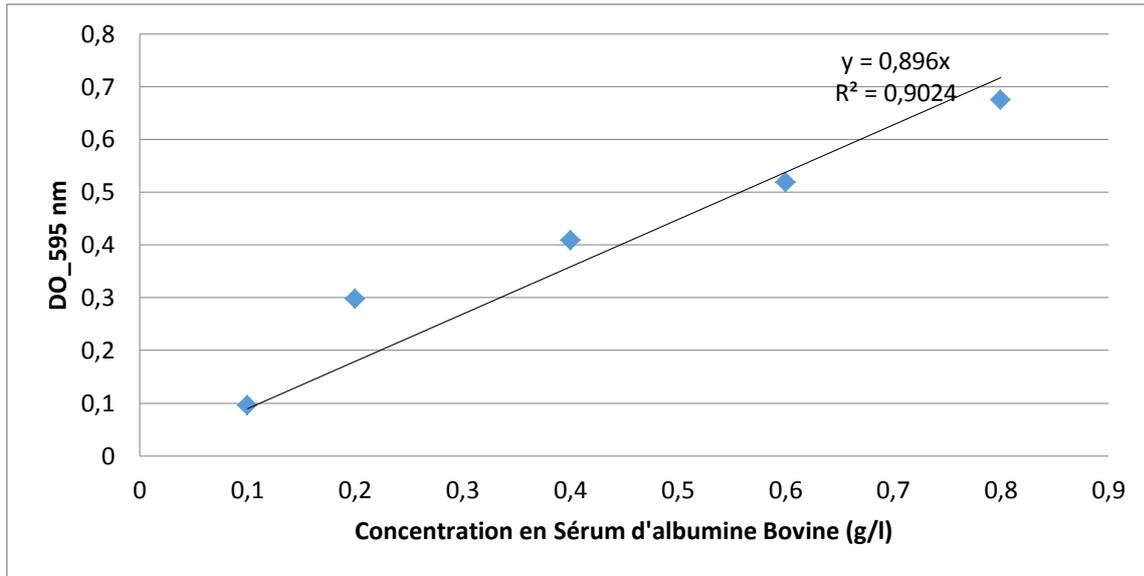
#### 1- Courbe étalon du p-nitrophenyle



#### 2- Courbe étalon du Glucose



### 3- Courbe étalon du sérum albumine bovine (SAB)



### 4- Courbe étalon de la L-leucine

