



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

N°...../SNV/2017

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{elle} OGAB Saliha
ET
M^{elle} ZOUDJI Fatima Zohra

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : PROTECTION DES CULTURES

THÈME

**Caractérisation morphologique, culturale et
pathogénique de *Verticillium dahliae* Kleb., agent
causal de la verticilliose de l'olivier (*Olea europea* L.)**

Soutenue publiquement le 14 /09/2017

DEVANT LE JURY

Président	Mr. LABDAOUI Djamel	M.C.B U.MOSTAGANEM
Encadreur	Mr. MAHIOUT Djamel	M.C.B U. MOSTAGANEM
Examinateur	M ^{me} BADAOU I Ikram	M.A.A U. MOSTAGANEM

Thème réalisé au Laboratoire de protection des végétaux.

Remerciement

*Au terme de cette étude, nous remercions avant tout, Dieu tout puissant **ALLAH** qui nous a guidés sur le chemin de la science et nous a permis la réalisation de ce présent travail., il nous a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.*

*Nos profond remerciements pour **Mr. LABDAOU DJAMAL** et **Mm. BADAOU Ikr**am d'avoir eu l'amabilité d'accepter volontairement et aimablement de critiquer et de juger ce travail, pour ses remarques judicieuses et son otique enrichissante qui vont valoriser notre recherche.*

*C'est avec beaucoup de reconnaissance que nous adressons nos sincères remerciements à l'égard de notre promoteur **Mr. MAHOUT DJAMAL** qui a bien voulu, par son aimable bienveillance, diriger notre étude, qui a fait preuve d'une grande patience. Ses conseils, ses orientations ainsi que, son confiance et sincérité et surtout ses qualités humaines et ses intérêts portés pour mon sujet de recherche. Son encadrement était des plus exemplaires.*

Nous remercions également tous nos enseignants(es) du département d'agronomie de Mostaganem et spécialement ceux de notre spécialité protection des cultures qui ont contribuées à notre formation.

Dédicace

Nous Dédions ce travail :

A nos deux familles

A nos parents

...pour leurs sacrifices et leurs efforts consentis, qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde affection.

A Nos Frères et sœurs

A Nos nièces et neveux

...pour leurs compréhensions et leurs encouragements, qu'ils trouvent ici l'expression de notre sincère fraternité.

A nos chers collègues et amis(es)

*Aziz, Mohamed (Hamou), Mounir, Mehdi, Oussama, Amina, Aya,
Souhila, Sarah,*

...pour leurs aides et leurs encouragements durant tout le temps de notre travail.

OGAB Salîha, ZOUDJI Fatîma

Liste des figures

Figure	Page
Figure 01: Un des plus anciens arbres d'olivier dans le monde retrouvé dans les Pouilles	03
Figure 02 : Fleur d'olivier	03
Figure 03 : fruit d'olivier	06
Figure 04: Cycle végétatif annuel d'olivier	06
Figure 05: Carte oléicole d'Algérie (Source : Institut Technique des Arbres Fruitiers)	08
Figure 06: Cycle de développement de <i>V. dahliae</i>	13
Figure 07 : Obtention des plantules de tomate âgées de trois semaines	19
Figure 08 : les étapes d'inoculation végétale	21
Figure 09: Aspect macroscopique de <i>Verticillium dahliae</i> :A, sur milieu PDA ; B, sur milieu V8	23
Figure10: Aspect microscopique de <i>V.dahliae</i> ,(A): les phialides, (B): les conidies, (C): les microsclérotés en ama	24
Figure 11 : Représentation des isolats selon la taille des conidies	25
Figure 12 : Influence du milieu de cultures sur la croissance des cinq isolats de <i>V. dahliae</i> pendant 21 jours d'incubation(S1=S1/P1 ;S2=S2/P1 ;S3=S3/P1 ;S4=S4/P1 ;S5=S5/P1)	26
Figure 13 : Influence de milieux de culture sur la croissance des isolats de <i>V.dahliae</i> après 21 jours d'incubation	26
Figure 14: Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur milieu PDA après 21jours A, S1/P1 ; B, S2/P1 ; C, S3/P1 ; D, S4/P1 ; E, S5/P1	27
Figure 15 : Aspect des Colonies de <i>V. dahliae</i> sur milieu V8 après 21 jours d'incubation A, S1/P1 ; B, S2/P1 ; C, S3/P1 ; D, S4/P1 ; E, S5/P1	27
Figure 16 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur milieu petit pois, après de 21 jours d'incubation :A, S1/P1 ; B, S2/P1 ; C, S3/P1 ; D, S4/P1 ; E, S5/P1	28
Figure 17 : Influence des milieux de culture sur la sporulation de <i>V. dahliae</i>	28
Figure 18: Influence de température sur la croissance mycélienne des cinq isolats de <i>V. dahliae</i> , pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1).	29

Figure 19: Influence de température sur la croissance de <i>V.dahliae</i> après 21 jours d'incubation sur milieu PDA	30
Figure 20 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 20°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	30
Figure 21 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 22°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	31
Figure 22 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 25°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	31
Figure 23 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 30°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	31
Figure 24: Influence de température sur la sporulation des cinq isolats de <i>V. dahlia</i> pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA	32
Figure 25 : Influence de pH sur la croissance mycélienne de <i>V. dahliae</i> pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1)	32
Figure 26: Effet de pH sur la croissance mycélienne de <i>V. dahliae</i> après 21 jours d'inoculation	32
Figure 27 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur PDA, à pH 4,5: A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1; D , S4/P1 ; E , S5/P1.	34
Figure 28 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur PDA, à pH 5,5: A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1; D , S4/P1 ; E , S5/P1.	34
Figure 29 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur PDA, à pH 6,5: A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1; D , S4/P1 ; E , S5/P1	35
Figure 30 : Effet de pH sur la sporulation des isolats de <i>V. dahliae</i> .	35
Figure 31 : symptômes de verticilliose sur tomate notés selon l'échelle de Béye et Lafay(1989)	36
Figure 32: Evolution des symptômes de la verticilliose, 45 jours après inoculation	36
Figure 33: Evaluation des indices d'altération foliaire pendant 45 jours suivant l'inoculation	37
Figure 34: Moyenne d'indice d'altération foliaire (pour l'ensemble des notations) de trois isolats de <i>V. dahliae</i> sur chaque variété de tomate	38

Liste des tableaux

Tableau 01: Les superficies oléicoles cultivées durant l'année 2003 **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 02: Origine et date de collecte des isolats de *V. dahliae* étudiées. **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 03: Fiche technique des variétés de tomate utilisées pour le test de pathogénicité **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 04 : Longueur et largeur moyennes des conidies des cinq isolats de *V. dahliae* **Erreur ! Signet non défini.**

Liste des figures

Figure 01: Un des plus anciens arbres d'olivier dans le monde retrouvé dans les Pouilles.....	3
Figure 02 : Fleur d'olivier	5
Figure 03 : fruit d'olivier.....	6
Figure 04: Cycle végétatif annuel d'olivier	6
Figure 05: Carte oléicole d'Algérie (Source : Institut Technique des Arbres Fruitiers).....	8
Figure 06: Cycle de développement de <i>V. dahliae</i>)	13
Figure 07 : Obtention des plantules de tomate âgées de trois semaines	19
Figure 08 : les étapes d'inoculation végétale	21
Figure 09: Aspect macroscopique de <i>Verticillium dahliae</i> : A , sur milieu PDA ; B , sur milieu V8.....	23
Figure10: Aspect microscopique de <i>V.dahliae</i> , (A) : les phialides, (B) : les conidies, (C) : les microsclérotés en amas.....	24
Figure 11 : Représentation des isolats selon la taille des conidies.....	25
Figure 12 : Influence du milieu de cultures sur la croissance des cinq isolats de <i>V. dahliae</i> pendant 21 jours d'incubation(S1=S1/P1 ;S2=S2/P1 ;S3=S3/P1 ;S4=S4/P1 ;S5=S5/P1).....	26
Figure 13 : Influence de milieux de culture sur la croissance des isolats de <i>V.dahliae</i> après 21 jours d'incubation.....	26
Figure 14: Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur milieu PDA après 21jours A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	27
Figure 15 : Aspect des Colonies de <i>V. dahliae</i> sur milieu V8 après 21 jours d'incubation : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1.....	27
Figure 16 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur milieu petit pois, après de 21 jours d'incubation : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	28
Figure 17 : Influence des milieux de culture sur la sporulation de <i>V. dahliae</i>	28
Figure 18: Influence de température sur la croissance mycélienne des cinq isolats de <i>V. dahliae</i> , pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1).	29

Figure 19: Influence de température sur la croissance de <i>V.dahliae</i> après 21 jours d'incubation sur milieu PDA.....	30
Figure 20 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 20°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	30
Figure 21 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 22°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	31
Figure 22 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 25°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	31
Figure 23 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> , à 30°C, sur PDA : A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1 ; D , S4/P1 ; E , S5/P1	31
Figure 24: Influence de température sur la sporulation des cinq isolats de <i>V. dahlia</i> pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA.....	32
Figure 25 : Influence de pH sur la croissance mycélienne de <i>V. dahliae</i> pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1)	32
Figure 26: Effet de pH sur la croissance mycélienne de <i>V. dahliae</i> après 21 jours d'incubation.....	32
Figure 27 : : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur PDA, à pH 4,5: A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1; D , S4/P1 ; E , S5/P1.	34
Figure 28 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur PDA, à pH 5,5: A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1; D , S4/P1 ; E , S5/P1.	34
Figure 29 : Aspect des colonies de <i>V. dahliae</i> sur PDA, à pH 6,5: A , S1/P1 ; B , S2/P1 ; C , S3/P1; D , S4/P1 ; E , S5/P1.	35
Figure 30 : Effet de pH sur la sporulation des isolats de <i>V. dahliae</i>	35
Figure 31 : symptômes de verticilliose sur tomate notés selon l'échelle de Béye et Lafay (1985).	36

Figure 32: Evolution des symptômes de la verticilliose, 45 jours après inoculation.	36
Figure 33: Evaluation des indices d'altération foliaire pendant 45 jours suivant l'inoculation	37
Figure 34: Moyenne d'indice d'altération foliaire (pour l'ensemble des notations) de trois isolats de <i>V. dahliae</i> sur chaque variété de tomate.....	35

Liste des abréviations

% : pourcentage

°C : Celsius

cm : centimètre

ml : millilitre

F.A.O : Food Agriculture Organization.

g : gramme

J-C: Jésus-Christ

Kleb: Klebahn

L : Linné

P.D.A : potato dextrose agar

V.dahliae : *verticillium dahlia*

I.A.F: Indice d'altération foliaires

Résumé

Verticillium dahliae Kleb., champignon tellurique, responsable de la verticilliose de l'olivier (*Olea europea* L.), est responsable d'importants dégâts sur l'arbre et touche actuellement de nombreuses régions oléicoles en Algérie. Selon les premières estimations, l'incidence actuelle de la maladie atteint 35 %.

Cinq isolats du parasite issus Sidi Bel Abbes (S1/P1, S2/P1) et de Mostaganem (S3/P1, S4/P1, S5/P1) sont identifiés et caractérisés sur le plan morphologique et cultural, testés sur une gamme de pH et de températures, au cours de la croissance de leurs colonies sur milieux de culture PDA, V8 agar et Milieu petit pois, ensuite sur le plan pathogénique grâce à l'étude de la réaction d'une autre plante hôte, la tomate (*Solanum lycopersicum*).

Les différents milieux de cultures et la variation du pH influencent la croissance et l'aspect cultural du champignon. Les isolats de *Verticillium dahliae* présentent une croissance et une sporulation optimale sur milieu V8 agar, à pH de 6,5 et à température de 22°C.

Le pouvoir pathogène de trois isolats de *V. dahliae* testé par inoculation artificielle de trois variétés de tomate, à raison de 10 plantules par variété et par isolat, ont permis d'estimer l'I.A.F (indice d'altération foliaire). Les symptômes observés (flétrissement du feuillage, jaunissement et chute des feuilles) ont mis en évidence l'important pouvoir pathogène de l'isolat S3/P1 issu de site de Bouguirat (Mostaganem).

Mots clés : *Olea europea* L., *Verticillium dahliae* Kleb., Caractérisation morphologique et culturale, pouvoir pathogène, inoculation artificielle, I.A.F.

Abstract :

Verticillium dahliae Kleb, fungus responsible of *verticillium* of the olive tree causes important damages on the tree and now touches many olive growing regions in Algeria. For the first estimates, the actual impact of the disease reaches 35 %.

Five isolates of the parasite from Sidi Belabes (S1/P1,S2/P1) and from Mostaganem (S3/P1,S4/P1, S5/P1) are identified and characterized morphologically and culturally, tested on temperature and pH range, During the growing of their settlements on cultural field PDA, V8 Agar and middle pea, Then pathogenic due to the study of the reaction on another plant, tomato (*Solanum lycopersicum*).

The different field of cultural and the variation of the pH affect on the growing and the aspect of fungal cultural. The isolates of *verticillium dahliae* present a growing and optimal sporulation on field V8 agar at pH 6.5 and temperature of 22°C.

The pathogenicity of three isolates of *V. dahliae* tested by artificial inoculation on three tomato varieties, at the rate of 10 seedling by isolate and variety gave to estimate the (F.A.I) Foliar Alteration Index. The observed symptoms (leaf foliage, yellowing and dropping leaves) gave evidence of the important power of the isolate pathogenic S3/P1 from the region of Bouguirat (Mostaganem).

Keywords : *Olea europea* L., *Verticillium dahliae* Kleb., characterization morphologic and cultural, power pathogenic, artificial inoculation, F.A.I.

Sommaire

Remerciement
Dédicace
Liste des figures
Liste des tableaux
Liste des abréviations

Introduction 1

Chapitre I: Revue bibliographique

I.	L'olivier.....	Erreur ! Signet non défini.
I.1	Historique, origine et aire d'expansion.....	Erreur ! Signet non défini.
I.2	Longévité de l'olivier	Erreur ! Signet non défini.
I.3	Caractères taxonomiques et morphologiques de l'olivier ..	Erreur ! Signet non défini.
I.3.1	Classification botanique	Erreur ! Signet non défini.
I.3.2	Description de la plante.....	Erreur ! Signet non défini.
I.4	Le cycle végétatif de l'olivier	Erreur ! Signet non défini.
I.5	Répartition d'oléiculture dans le monde.....	Erreur ! Signet non défini.
I.6	L'oléiculture en Algérie.....	Erreur ! Signet non défini.
I.7	Principales variétés d'olivier algériennes	Erreur ! Signet non défini.
I.8	Principales maladies de l'olivier.....	Erreur ! Signet non défini.
II.	La verticilliose de l'olivier	Erreur ! Signet non défini.
II.1	Définition et nomenclature	Erreur ! Signet non défini.
II.2	Classification et caractéristique morphologique.....	Erreur ! Signet non défini.
II.3	Description de l'agent causal.....	Erreur ! Signet non défini.
II.4	Symptômes de la maladie	Erreur ! Signet non défini.
II.4.1	Le dépérissement rapide ou « apoplexie »	Erreur ! Signet non défini.
II.4.2	Le dépérissement lent.....	Erreur ! Signet non défini.
II.5	Cycle de développement de <i>V. dahliae</i>	Erreur ! Signet non défini.
II.6	Facteurs influençant la maladie	Erreur ! Signet non défini.
II.7	Stratégies et méthodes de lutte	Erreur ! Signet non défini.
II.7.1	La lutte chimique.....	Erreur ! Signet non défini.
II.7.2	La lutte biologique	Erreur ! Signet non défini.
II.7.3	La lutte génétique	Erreur ! Signet non défini.

II.7.4 La lutte intégrée..... **Erreur ! Signet non défini.**

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I, Matériels **Erreur ! Signet non défini.**

Aucune entrée de table des matières n'a été trouvée.

Introduction

L'olivier représente un patrimoine national important car il constitue dans le domaine écologique une plante adaptée à toutes les conditions, jouant un rôle dans la protection des sols contre l'érosion. Il assure également un rôle économique et pharmaceutique. Il constitue même une importante source pour l'alimentation humaine.

Etant donné les avantages qu'elle procure à l'Homme, une attention particulière doit être accordée à cette plante en recherchant d'autres moyens de son développement et de préservation afin de la rentabiliser.

La culture est soumise à de nombreuses contraintes qui freinent son développement. Nous pouvons citer comme exemple le Sirocco qui cause la chute des fleurs ou les périodes de gel qui causent des dégâts au niveau du bois.

Il existe aussi des contraintes biotiques provoquées par de nombreuses maladies d'origine fongique, bactérienne ou virale.

La verticilliose est une maladie vasculaire causée par un champignon tellurique et hémibiotrophe appelé *Verticillium dahliae* Kleb. Le champignon est présent dans de nombreux sols, où il infecte aussi de nombreuses plantes hôtes appartenant à diverses familles botaniques, et forme des structures de survie appelées microsclérotés qui persistent pendant des années dans le sol. Par conséquent, la lutte contre cette maladie est difficile en raison de la biologie du champignon.

Plusieurs moyens de lutte ont été préconisées contre la maladie comme la solarisation (Tjamos et al. 1991), certaines pratiques culturales comme le travail du sol (Hiemstra et Harris, 1998) et chimiques. Mais, comme la verticilliose est une maladie vasculaire, aucune méthode de lutte n'est suffisamment efficace. La lutte contre *Verticillium dahliae* passe par la parfaite connaissance de ce dernier notamment sa biologie, sa symptomatologie et son pouvoir pathogène. Notre travail se veut ainsi une contribution à l'étude de ce champignon dans la région ouest de l'Algérie. Il se base sur la caractérisation du parasite sur le plan morphologique, cultural et pathogénique, en vue d'apporter des connaissances sur la biologie et le comportement du parasite.

I. L'olivier

I.1 Historique, origine et aire d'expansion

Les premières traces sauvages de l'olivier ont été retrouvées en Asie mineure. Des fouilles sur des sites préhistoriques ont permis de retrouver des feuilles fossilisées datant du paléolithique ou du néolithique ainsi que des traces de charbon et de pollens, en bordure du Sahara datant d'environ 12000 ans avant J-C. On ne connaît pas avec certitude le lieu où l'homme a commencé à cultiver l'olivier, mais on s'accorde à reconnaître que 3500 ans avant J-C, elle se serait faite en Syrie (Loumou, 2003).

L'extension de la culture des oliviers à l'âge de bronze améliora l'équilibre diététique des Grecs et facilita leurs éclairages. L'olivier était devenu un élément fondamental de la civilisation grecque. Lorsque les grecques, au VIIe et VIIIe siècle av J.C, fondent des cités sur tout le pourtour de la Méditerranée, ils apportent avec eux le goût de cette culture qui se développe. C'est ainsi que l'olivier s'étend en Italie, en France plus précisément en Provence par l'intermédiaire des Phocéens, qui en 600 av. J .C fondent Marseille (Moreaux, 1997).

Sur les cotes sud de la Méditerranée, l'olivier progresse par l'intermédiaire des Phéniciens qui l'introduisent dans leur colonie de Carthage (Moreaux, 1997).

De la Grèce à l'Espagne en passant par l'Égypte, l'Italie, la Tunisie, le Maroc et la France, l'olivier va s'implanter durablement sur tout le pourtour méditerranéen jusqu'au XIXe siècle. Avec la période des grandes découvertes puis de la colonisation, il traverse même le détroit de Gibraltar pour voyager vers des pays plus "exotiques" comme la Californie, le Mexique, le Chili, l'Afrique du Sud, l'Australie (Moreaux, 1997).

I.2 Longévité de l'olivier

L'olivier est un arbre de longue vie et à feuillage persistant, qui peut atteindre à taille adulte un maximum de 15 mètres et une propagation de 9 mètres (Himour, 2006). Il a une longévité qui dépasse de très loin celle du cèdre, sa durée de vie dépasse généralement plus de 500 ans (Fig. 01), certains arbres âgés de plus de 2.000 ans ont été enregistrés (Bartolini et *al.*, 1999).



Figure 01: Un des plus anciens arbres d'olivier dans le monde retrouvé dans les Pouilles (Italie) (Baldoni et Belaj, 2009).

I.3 Caractères taxonomiques et morphologiques de l'olivier

Sa nomenclature vulgaire dérive de deux souche méditerranéennes : d'une part le non grec : *oleum* d'origine égéenne passe directement au latin *olea* et, d'autre part, le nom hébreux *Zait* ou *Sait* est passé dans l'arabe *Zaitun* (Pagnol, 1975 ; in Bellahcene, 2004).

I.3.1 Classification botanique

L'olivier est classé par Maillard (1975) comme suit :

Embranchement :	<i>Phanérogames</i>
Sous Embranchement :	<i>Angiospermes</i>
Classe :	<i>Dicotylédones</i>
Famille :	<i>Oléacées</i>
Tribu :	<i>Oléinées</i>
Genre :	<i>Olea</i>
Espèce:	<i>Olea europea</i> L.

La famille des *Oléacées* comporte 25 genres, le genre *Olea* serait lui même composé de 30 espèces différentes parmi lesquelles on trouve *Olea europea* L. avec deux sous espèces :

- *Olea oleaster* (oléastre) : qui se présente sous une forme spontanée comme un buisson épineux et à fruit ordinairement petit.

- *Olea sativa* (olivier cultivé) : constitué par un grand nombre de variétés améliorées, multipliées par bouturage ou par greffage (Calado et Fausto, 1987).

I.3.2 Description de la plante

- **Le tronc**

Chez les jeunes arbres le tronc est lisse, circulaire et gris-vert à sa dixième année, il devient noueux, crevassé, fendu et élargi à la base. Il prend un teint gris foncé. Cet organe parfois énorme, est un véritable accumulateur de réserves d'où sortent chaque année des rejets (Rugini et *al.*, 1999). Dans un environnement sec, le tronc développe une couche subéreuse assez épaisse, alors que chez les arbres irrigués, l'écorce est mince et les tissus sont souvent viables (Rugini et *al.*, 2006).

- **Le système racinaire**

Il est puissant et fasciculé, se prolonge à une profondeur de 5 à 7 m. Le réseau de racines forme une couche ligneuse, appelée la matre, dans laquelle s'accumulent des réserves et qui va permettre de puiser une très grande quantité d'eau dans le sol (Himour, 2006). Dans les sols très imperméables et aérés, le système racinaire est pivotant. En revanche, dans les sols lourds, peu ou non aérés, le système racinaire est fasciculé et profond (Saad, 2009; Meddad, 2010).

- **Les rameaux**

Leur taille est de quelques dizaines de centimètres suivant la vigueur et la variété de l'arbre, ils sont délimités à leur base par un entre-nœud marquant l'arrêt de la croissance hivernale. Ces rameaux peuvent être:

- des gourmands vigoureux et verticaux: qu'on distingue à leur longueur très importante.
- des rameaux de prolongement des branches et de charpentes, se terminant par un bouquet de pousses (Leva et *al.*, 2002).

- **Les feuilles**

Les feuilles sont épaisses, lancéolées, simples, opposées et de couleur verte. Leur taille varie de 3 à 5 cm de long sur 1 à 1.5 de large (Bartolozzi et Fontanazza, 1999). Le feuillage est persistant. Les feuilles vivent au moyenne 3 ans, puis jaunissent et tombent principalement en été (Cresti et *al.*, 1996). Le limbe coriace présente une face supérieure gris-verte, lisse et brillante. La face inférieure est recouverte d'un duvet qui lui donne un aspect argenté.

I.3.2.1 Les fleurs

Les fleurs sont petites, ovales, blanches et odorantes. Elles sont disposées en grappes (Fig. 02) (en moyenne de 10 à 40) dressées à l'aisselle des feuilles (Fabbri et Benelli, 2000).

L'olivier n'est pas mellifère, la fécondation ne dépend pas des insectes mais des vents et des courants d'air qui permette au pollen d'être échangé entre les fleurs. Seulement 5% des fleurs donneront des fruits (Diaz et *al.*, 2006).



Figure 02 : Fleur d'olivier.

▪ Les fruits

L'olive est une drupe charnue, ovoïde, verte au début puis devient noire à maturité complète (Terral et *al.*, 1996), de dimensions variables selon les variétés (Saad, 2009). Le fruit est composé de trois éléments (Rotondi et *al.*, 2003; Lumaret et *al.*, 2004):

- L'épicarpe (peau) recouverte d'une matière cireuse imperméable à l'eau (la pruine).

Le changement de couleur est dû à une oxydation effectuée par des phénol- oxydases.

-Le mésocarpe (pulpe) charnue et riche en matière grasse stockée durant la lipogenèse. Le mésocarpe est constitué d'huile (22%), de l'eau (50%), de protéines (1,6%), de glucides (19,1%), de la cellulose (5,8%) et des minéraux (1,5%).

- Le noyau dur, osseux, formé d'une enveloppe (endocarpe) et contient une amande avec deux ovaires (Fig.03), dont l'un est généralement stérile et non fonctionnel. La graine produit un embryon, qui donnera un nouvel olivier lorsque les conditions sont favorables.

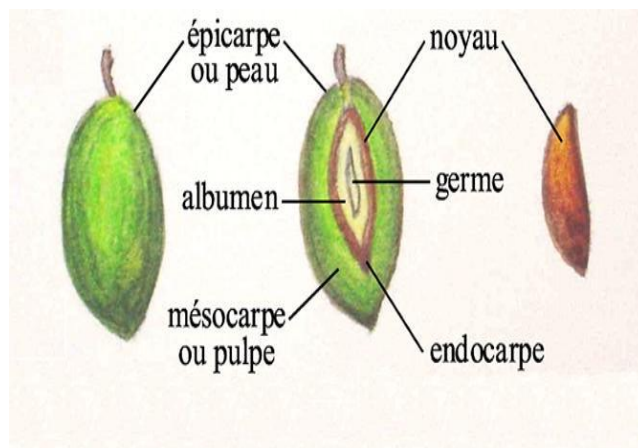


Figure 03 : fruit d'olivier (Rossini, 1999).

Les fruits n'apparaissent qu'après la septième année. Ensuite, sa production augmente avec constance entre la septième et la trente-cinquième année. A cet âge, il parvient à maturité et produit de manière régulière jusqu'à ses cent cinquante ans, stade où il entre peu à peu dans sa période de sénescence (Avenard, 2008; Turan, 2011).

I.4 Le cycle végétatif de l'olivier

L'olivier se développe dans le climat méditerranéen. Le déroulement annuel de son cycle est en étroite relation avec son aire d'adaptation (Loussert et Brousse, 1978) (Fig. 04).

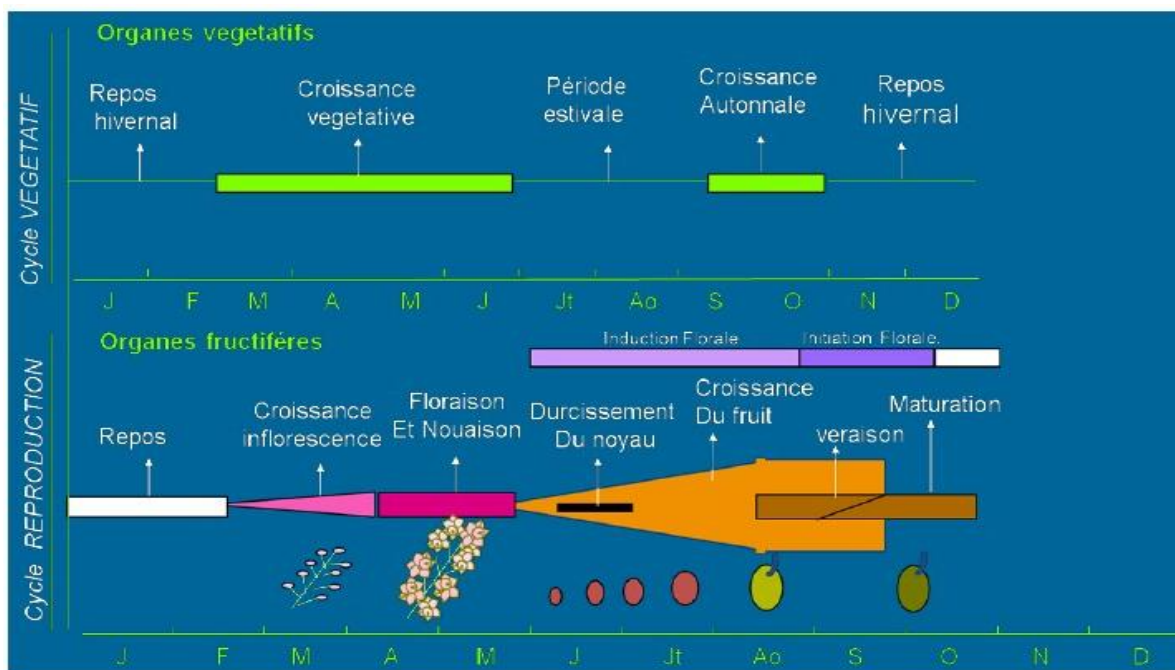


Figure 04: Cycle végétatif annuel d'olivier (Rallo, 1998 ; Girona, 2001).

I.5 Répartition d'oléiculture dans le monde

La culture de l'olivier occupe dans le monde une superficie de 8,6 millions d'hectares en 2003 pour une production de 17,3 millions de tonnes d'olives.

Le patrimoine mondial est évalué à 900 millions d'arbres avec des densités qui varient entre 17 à 400 arbres/ha (C.O.I., 2005).

Les principaux pays producteurs sont: l'Espagne, l'Italie, la Grèce et la Turquie qui représentent à elles seules 80% de la production mondiale d'olives (Tab. 1). Les pays producteurs sont situés particulièrement dans la zone méditerranéenne (F.A.O., 2003).

Tableau 01: Les superficies oléicoles cultivées durant l'année 2003

	Superficies cultivées (ha)	Pourcentage (%)
Espagne	2400000	27,91
Italie	1140685	13 ,26
Grèce	765000	8,89
Turquie	594000	6,90
Tunisie	1500000	17,44
Maroc	550000	6,39
Egypte	49888	0,58
Algérie	178000	2,07
Portugal	430000	5,00
France	17000	0,19
Monde	8597064	-

(Source: F.A.O., 2003)

I.6 L'oléiculture en Algérie

L'oléiculture algérienne dispose d'un patrimoine de 175.000 ha d'oliviers à huile ou mixtes, sur lesquels sont plantés 20 millions d'arbres.

En 1989, on prévoyait 3.000 hectares de nouvelles plantations ; à l'heure actuelle, près de 2.500 ont effectivement été plantés (Carlos Tió et *al.*, 1997).

L'Algérie a mis en place un programme de développement de l'oléiculture et de modernisation de l'industrie oléicole, dans le cadre d'une « stratégie de développement de l'oléiculture jusqu'en l'an 2000 » (Carlos Tió et *al.*, 1997).

L'olivier est localisé dans le nord (Fig. 05).

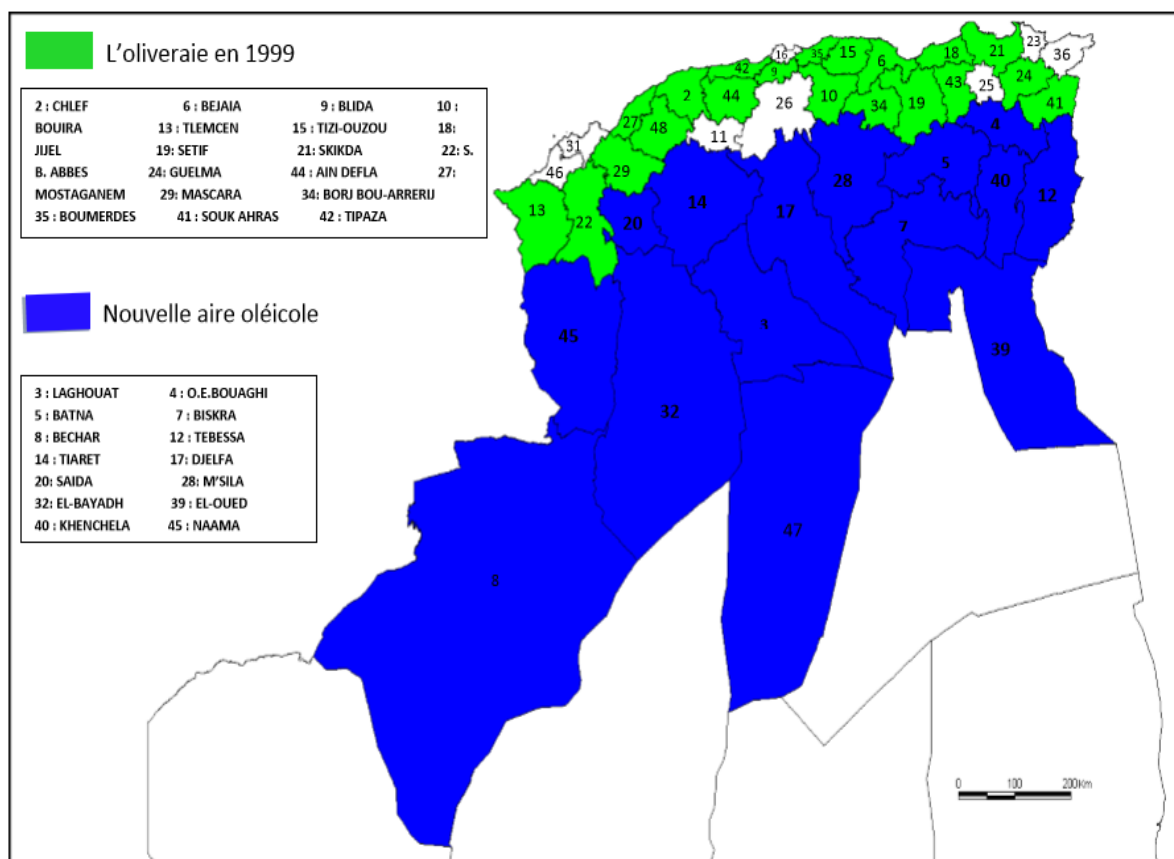


Figure 05: Carte oléicole d'Algérie (Source : Institut Technique des Arbres Fruitiers, ITAF, 2008).

I.7 Principales variétés d'olivier algériennes

L'Algérie dispose d'un patrimoine constitué de 164 cultivars autochtones et introduits de toute la méditerranée et même d'outre Atlantique. Les travaux de caractérisation entamés par Mendil et Sebaï (2006) ont permis de répertorier 72 variétés autochtones dont 36 sont homologuées, le reste est en court de réalisation. Les variétés nationales les mieux connues sont recommandées dans les régions d'origine.

- **Azeradj :** Petite Kabylie (oued Soummam), occupe 10% de la surface oléicole nationale. Arbre rustique et résistant à la sécheresse, utilisé pour la production d'huile et olive de table.
- **Blanquette de Guelma :** Originaire de Guelma; assez répandue dans le Nord-est constantinois, Skikda et Guelma. Sa rigueur est moyenne, résistant au froid et moyennement à la sécheresse.
- **Bouricha, olive d'El-Ar rouch:** de El-Harrouch, Skikda. Arbre rustique, résistant au froid et à la sécheresse

- **Sigoise:** cette variété est localisée au niveau des plaines de l'Ouest, et plus exactement dans la plaine de Sig dont elle porte le nom Sigoise. Elle dérive de la variété picholine française.

Selon l'utilisation il existe des :

- **Variétés à huile :** Abelout, Chemlal, Faneya, Haimel, Limli.
- **Variétés à double aptitude ou double fin :** Adzeradj, Blanquette de Guelma, Boechout de la Soummam, Bouchouk Lafayette, Sigoise (Giuseppe Fontanazza et al., 1997)

I.8 Principales maladies de l'olivier

L'oléiculture est confrontée à plusieurs problèmes en particulier les attaques causées par des micro-organismes (bactéries, champignons) ou des virus.

- **Œil de paon** (*Cycloconium oleaginum* Cast.): ses dégâts se présentent comme tâches foliaires circulaires s'accroissant depuis le point de pénétration du champignon. IL s'ensuit une chute massive des feuilles, l'affaiblissement des arbres et des pertes de récoltes (Guechi et Girre, 2002).
- **Verticilliose** (*Verticillium dahliae* Kleb): Dessèchement rougeâtre des rameaux. Sortie importante de rejets. Perte d'une charpentière ou de l'arbre (Matallah boutiba, 1998; Bellahcene et al., 2005).
- **Bactériose** (*Pseudomonas Savastanoi* Smith): Tumeurs, nodules sur le bois. Eclatement de l'écorce, baisse de vigueur et de production (Assawah et Ayat, 1985).
- **Bactériose** (*Xylella fastidiosa*): C'est un organisme de quarantaine, signalé actuellement dans plusieurs pays dont l'Italie. Il cause brûlure et dessèchement des feuilles. La périphérie des feuilles passe ainsi du jaune au brun foncé, puis le brunissement se propage vers l'intérieur de la feuille pour finalement aboutir à la dessiccation. les feuilles desséchées et les drupes flétries restent attachées (Jean-Louis Thillier, 2013).
- **Maladies d'origine virale :** la plupart des virus sont associés à des dégâts plus ou moins graves aux plantes qu'ils parasitent qui se traduisent par des pertes quantitatives et/ou qualitatives de la récolte (Clara et al. 1997). La variété Manzanillo, cultivée en Palestine a été affectée par un virus Spherosis (Lavee et Tanne, 1984). En Italie, Savino et Gallitelli (1983) ont montré qu'un virus attaquant les cerises cause également l'enroulement des feuilles chez les oliviers. D'autres auteurs ont signalé des symptômes viraux dans des cultures d'olivier en Grèce (Barba, 1993; Kyriakopoulos, 1993).

II. La verticilliose de l'olivier

II.1 Définition et nomenclature

La verticilliose causée par un champignon tellurique, *verticillium dahliae*, est une maladie vasculaire connue dans de nombreuses régions du monde (Harrington et al., 2000), ce pathogène est très répandu puisqu'il attaque un grand nombre d'espèces, aussi bien ligneuses qu'herbacées. Sur l'olivier, le champignon a été décrit pour la première fois en Italie (Ruggieri, 1946) puis signalé dans différents pays du bassin Méditerranéen, Espagne, France, Syrie (Civantos, 1999).

La maladie a été aussi signalée en Algérie depuis le début des années 1990 (Benchabane, 1990) et depuis ne cesse de s'étendre sur de nombreuses oliveraies en Algérie (Alia, 1991; Abderhamani, 1992; Bellahcene et al. 2000; Benadjal, 2007). Ces études ont montré l'importance des dégâts de cette trachéomycose et les conséquences néfastes sur l'arbre, souvent irréversibles.

Il est connu sous le nom vulgaire de *vericilosis del olivo* en Espagnol, *verticillium wilt* en anglais, verticilliose de l'olivier en français et *tracheoverticilloso* en italien.

II.2 Classification et caractéristique morphologique

Le genre *Verticillium* a été mis en évidence pour la première fois en 1816 par Nées Von Esenbeck. Basé sur la morphologie de ses conidiophores (Heffer, 1995).

L'agent infectieux *V. dahliae* est un champignon imparfait, haploïde et dimorphe (Pegg Et Brady, 2002 ; Kosterman et al. 2009), les données bibliographiques (Fradin et Thomma, 2006; Lopez-Escudero et Mercado-Blanco, 2010; Martin-Lappier, 2011) le classent comme suit :

Régne :	<i>Fungi</i>
Phylum :	<i>Ascomycota</i>
Sub-phylum :	<i>Pezizomycotina</i>
Classe :	<i>Sordariomycètes</i>
Sous classe :	<i>Incertaedis</i>
Ordre :	<i>Phyllachorales</i>
Famille :	<i>Plectosphaerellacea</i>
Genre :	<i>Verticillium</i>
Espèce :	<i>Verticillium dahliae</i> (Kleb.)

II.3 Description de l'agent causal

Le genre *Verticillium* a été classé en fonction de ses caractéristiques morphologiques distinctives et ses conidiophores verticillés. Morphologiquement *V. dahliae* présente un mycélium végétatif hyalin, cloisonné et multinuclé. Les conidies sont hyalines, ovoïdes ou ellipsoïdes, et habituellement unicellulaires. Elles mesurent 3-6 x 1.5-2 µm. Elles peuvent être trouvées individuellement ou en groupe. Elles sont portées sur des phialides disposées en verticille sur des conidiophores (Fradin et Thomma, 2006).

II.4 Symptômes de la maladie

Le *V. dahliae* affecte en premier temps les racines de jeunes plantes, colonise les cellules du xylème et du phloème, puis les tiges ainsi que les feuilles par le flux de la sève.

Cela provoque des lésions vasculaires avec des perturbations circulatoires qui se traduisent par deux types de symptômes (Jabnoun-Khiareddine et *al.*, 2007): Le dépérissement rapide, aigu «apoplexie» et le dépérissement lent, chronique :

II.4.1 Le dépérissement rapide ou « apoplexie »

Ce syndrome se caractérise par un dessèchement rapide des feuilles, impliquant un flétrissement sévère des branches principales et secondaires, qui se produit principalement de la fin de l'hiver au début du printemps. Les premières feuilles deviennent chlorotiques, puis tournent au brun clair, et subissent dans certains cas des enroulements vers l'intérieur, tout en restant attachées aux branches.

Ce dépérissement arrivera à toucher à la fin les branches et les rameaux. Chez les jeunes arbres (âgés de 5 à 15 ans), il est très fréquent de constater la mort de l'arbre entier lorsque l'apoplexie atteint les jeunes plants.

Toutefois la défoliation partielle de l'arbre peut se produire avant la mort de celui-ci. Dans d'autres cas, chez les arbres jeunes ou adultes, les feuilles séchées peuvent rester attachées aux pousses et aux branches (López- Escudero et Blanco López, 2001; Bellahcene, 2004).

II.4.2 Le dépérissement lent

Il se caractérise par une nécrose des inflorescences. Les fleurs se momifient et restent attachées à l'arbre. Les feuilles sur les pousses affectées prennent la couleur vert terne et tombent avant le flétrissement, sauf pour celles qui se trouvent à l'extrémité distale des pousses. Habituellement, les symptômes des inflorescences se développent avant que les symptômes foliaires apparaissent. Enfin il s'en suivra la nécrose des pousses. L'écorce des pousses

affectées, devient brun rougeâtre, et les tissus vasculaires intérieurs montrent une coloration brun foncé. Les symptômes apparaissent au printemps et progressent lentement jusqu'au début de l'été (Jabnoun Khiareddine et *al.*, 2007; Colella et *al.*, 2008).

Les branches affectées ainsi que le tronc principal de l'arbre, montrent souvent une teinte pourpre avec des lésions nécrotiques assez importantes situées dans l'axe présenter un seul ou plusieurs symptômes cités et cela en fonction de la durée de la période propice de la maladie (Vallad et Subbarao, 2008). Plusieurs auteurs ont observé des vaisseaux obturés de thyllés, et de gommés au niveau des zones infectées. Ces substances sont sécrétées par les cellules de l'hôte en réaction à l'effet de divers enzymes de *V. dahliae* (Boukenadel, 2002). La guérison est un phénomène naturel communément associée à des mécanismes qui permettent aux arbres de surmonter les blessures, et peut être activée après les infections causées par des pathogènes vasculaires tel que *V. dahliae*. Par ailleurs, ce rétablissement naturel a été particulièrement observé chez l'olivier (Mercado-Blanco et *al.* 2001; Markakis et *al.* 2009).

II.5 Cycle de développement de *V. dahliae*

Verticillium dahliae peut survivre dans le sol durant plusieurs années, jusqu'à 20 ans, sous forme de microsclérotés (amas de cellules de 0.1 à 0.5 mm) libres ou dans des tissus infectés (Civantos, 1999; Julien, 2005). Parasite facultatif, son cycle de développement se déroule en 2 phases, une phase saprophytique qui comprend une période d'activité et une phase parasitaire qui se déroule dans la plante-hôte (Fig. 06) (Hiemstra, 1998).

Pendant la phase saprophytique, le champignon pérennise, sous forme de microsclérotés, plus de 14 ans dans le sol, aux dépens des débris végétaux et des matériaux organiques (Triki et *al.*, 2006). C'est ainsi qu'il se dissémine par le mouvement des sols infectés, les débris végétaux infectés, l'eau d'irrigation, l'équipement agricole, le vent, les insectes telluriques, prédateurs, pollinisateurs...etc. (Civantos, 1999; Klosterman et *al.*, 2009; Chawla et *al.* 2012). Il résiste aussi bien au froid qu'à la chaleur et supporte des écarts thermiques allant de 30°C à 55°C (Schnathorst et Mathre, 1966). Le saprophyte s'active et redevient agressif au rétablissement des bonnes conditions de température et d'humidité du sol.

La phase parasitaire du champignon débute par la germination des microsclérotés en réponse aux exsudats racinaires de l'olivier. Il en résulte une émission des hyphes qui colonisent le cortex des racines. Le mycélium s'introduit par l'extrémité ou par les cellules épidermiques (Garber, 1966) et gagne ensuite via la sève les vaisseaux du xylème, c'est l'infection primaire (Fradin et Thomma, 2006 ; Vallad et Subbarao, 2008).

Le parasite se reproduit asexuellement dans les vaisseaux, à l'intérieur desquels il progresse, grâce aux transports des conidies par le flux de la sève ascendante aux pièces aériennes de l'arbre (Vallad et Subbarao, 2008), où elles constituent des foyers secondaires d'infection ; c'est l'infection secondaire (Garber, 1966).

La poursuite ainsi de l'infection du système vasculaire conjugué aux toxines émises par le parasite, font que la plante produise des dépôts gommeux qui obstruent les vaisseaux conducteurs y entravant ainsi le transport d'eau (Klosterman *et al.*, 2009) et donne des symptômes de flétrissement qui se déclenchent sur les parties aériennes atteintes (Tombesi *et al.*, 2007 ; Laoune *et al.*, 2011).

A la fin du cycle d'infection, le champignon forme des microsclérotés dans les parties mortes de l'arbre. Cela permet le retour du champignon au sol et la reprise éventuelle d'un nouveau cycle infectieux (Fradin et Thomma, 2006 ; Klosterman *et al.* 2009).

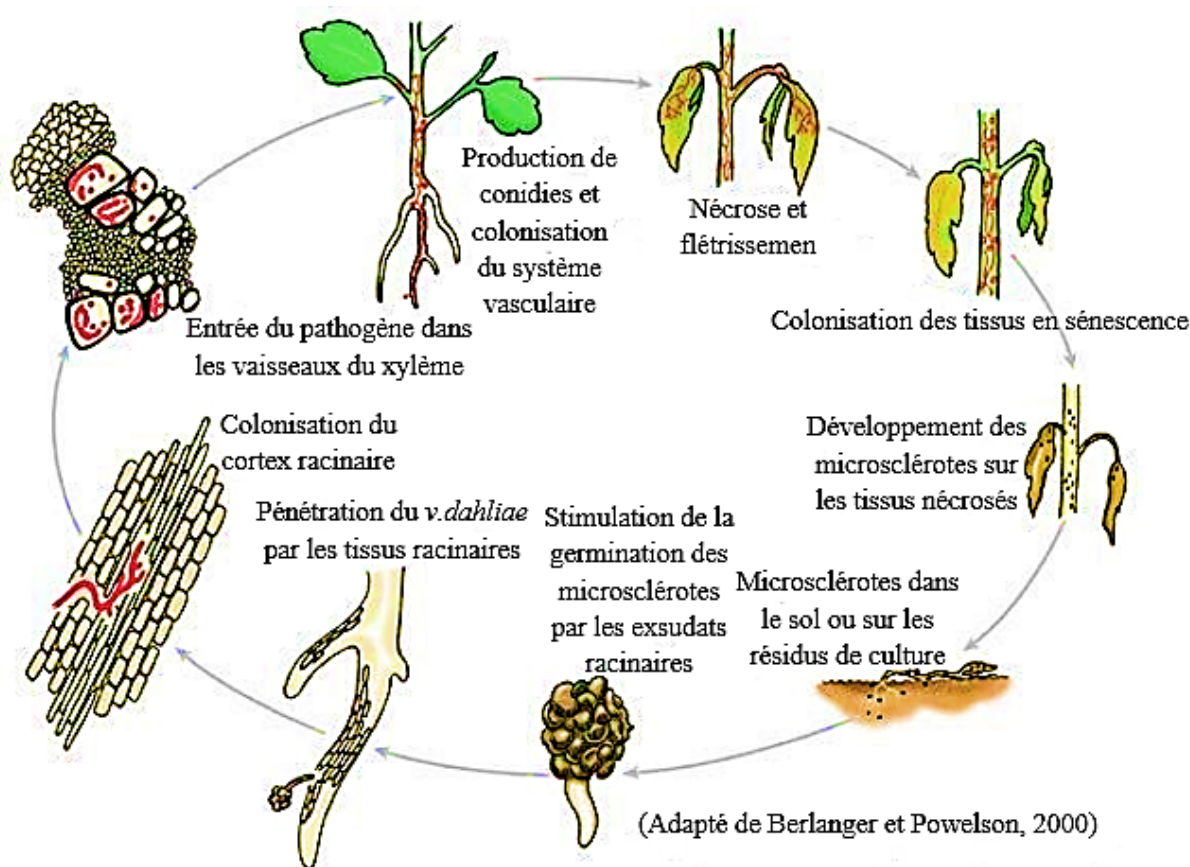


Figure 06: Cycle de développement de *V. dahliae* (Berlangier et Powelson, 2000).

II.6 Facteurs influençant la maladie

L'incidence de la maladie est plus grande dans les oliveraies irriguées (Civantos, 1999). Bien que la température soit l'une des plus importantes variables dans les études épidémiologiques, son influence dans l'apparition et le développement de *V. dahliae* a été à peine étudiée. Température optimale pour *V. dahliae* variait entre 22 et 25 °C qui coïncide avec la température la plus favorable pour le développement de beaucoup de champignons (Garber et Presley, 1971). La gravité des attaques du champignon est favorisée par la température de l'air (20 à 25° C) pendant les jours de printemps, suivis des étés avec une amplitude thermique plus large mais avec des pics de jour ne dépassant pas 30-35 °C (Wilhelm et Taylor 1965; López-Escudero et Blanco-López 2001).

La plantation d'oliviers sur les terres ou ont été cultivées préalablement d'autres plantes sensibles telles que le cotonnier ou des cultures horticoles comme l'aubergine ou le piment favorise la maladie (Civantos, 1999).

II.7 Stratégies et méthodes de lutte

Compte tenu de la longévité des microsclérotés dans le sol, les pratiques culturales classiques comme la rotation des cultures (Stevens et *al.*, 1994), la destruction des débris végétaux contaminés et des mauvaises herbes (Henni, 1982), l'enfouissement des engrais verts et des amendements organiques avant la plantation, s'avèrent souvent difficiles et sans grand effet (Wilhelm, 1951). Quant aux méthodes de lutte physique, telles que la stérilisation à la vapeur ou la solarisation, elles sont très coûteuses (Katan, 1981; Saremi et *al.*, 2010).

II.7.1 La lutte chimique

En pratique, la lutte chimique constitue et de loin le type de méthode le plus utilisé pour la gestion de la verticilliose (Yangui et *al.*, 2010; Alfano et *al.*, 2011). Elle se fait par stérilisation du sol à l'aide de fumigants chimiques (le bromure méthylique) (Fravel et Larkin, 2000 ; Martin- Lapierre, 2011) ou l'utilisation de fongicides systémiques (méthyl-thiophanate, thiabendazole, bénomyl et carbendazime) (Henni, 1982; Boukenadel, 2001; Kumar et *al.*, 2012). Ce recours aux produits chimiques, toujours valables dans certaines situations, engendrent cependant des coûts élevés et des impacts sur l'environnement (Nannipieri et *al.* 1990). Actuellement aucun traitement curatif n'a prouvé son efficacité (Arslan et Dervis, 2010).

II.7.2 La lutte biologique

Dans un contexte d'oléiculture durable, la lutte biologique peut offrir de nombreuses méthodes de lutte alternative au traitement chimique (Uppal et *al.*, 2008). Ce moyen de lutte met en œuvre différents organismes vivants, appelés auxiliaires, ou leurs produits, pour prévenir ou réduire les dégâts. Il s'agit d'utiliser surtout les microorganismes tels que *Pseudomonas* sp. et *Bacillus* sp. (Mercado-Blanco et *al.*, 2004; Bounoua, 2008; Lang et *al.*, 2012), *Streptomyces plicatus*, *Frankia* sp. (Bonjar et Aghighi, 2005), *Serratia plymuthica* (Müller et *al.*, 2007), *Glomus mosseae*, *G. intraradices*, *G. claroideum* (Karajeh et Al-Raddad, 1999 ; Porras-Soriano et *al.*, 2006 ; Kapulnik et *al.*, 2010) et *Trichoderma virens* (Hanson, 2000). Ce moyen de lutte a malheureusement dévoilé un succès limité contre la verticilliose (Sanei et *al.*, 2010).

II.7.3 La lutte génétique

La lutte génétique par l'utilisation des variétés résistantes demeurerait le moyen économiquement le plus efficace pour combattre ce fléau. (Liu et *al.*, 2012). Cependant, *V. dahliae* présente une diversité génétique importante qui lui confère une grande variabilité de pouvoir pathogène (Cherrab et *al.*, 2002). Ainsi, la variété Oblanga réputée résistante en Californie en faisant ses preuves pendant plusieurs années (Hartmann et *al.*, 1971 ; Wilhelm, 1981) s'est révélée sensible en Grèce, avec l'apparition de nouvelle race de *V. dahliae* (Besri et *al.*, 1984 ; Tjamos, 1984).

Des variétés résistantes à la race 1 de *Verticillium* a fait ses preuves pendant plusieurs années. Néanmoins, son efficacité a diminué avec l'apparition d'une nouvelle race, la race 2 (Besri et *al.*, 1984 ; Tjamos, 1984), à laquelle aucune variété ne présente une résistance satisfaisante.

II.7.4 La lutte intégrée

La prise en conscience des limites des méthodes chimiques, biologiques et génétiques contre cette trachéomyose a incité les chercheurs à s'orienter vers le développement de la lutte intégrée. Cette lutte consiste dans l'emploi combiné et raisonné de toutes les méthodes (culturelle, physique, chimique, biologique et génétique), pour réduire l'inoculum du champignon de façon efficace et maintenir les dégâts à un seuil économiquement tolérables, tout en respectant l'environnement (López-Escudero et Mercado-Blanco, 2010; Bubici et Cirulli, 2011).

I. Matériels

I.1 Matériel fongique

Nous avons utilisé cinq isolats de *verticillium dahliae* dans notre étude. Ils appartiennent à la collection du laboratoire de Protection des végétaux (Laboratoire de Recherche, Université de Mostaganem).

Tableau 02: Origine et date de collecte des isolats de *V. dahliae* étudiées.

Codification	Site de prélèvement	Wilaya	Date d'isolement
S1/P1	Sfizef	Sidi Bel Abbes	01/06/2015
S2/P1	Sfizef	Sidi Bel Abbes	01/06/2015
S3/P1	Bouguirat	Mostaganem	01/06/2015
S4/P1	Hassi Mamèche	Mostaganem	20/12/1015
S5/P1	Hassi Mamèche	Mostaganem	20/12/1015

I.2 Matériel végétal

Des plants de tomate (*Solanum lycopersicum*) appartenant à la famille des Solanacées sont utilisés dans cette étude. La plante présente l'avantage d'être sensible à de nombreuses maladies cryptogamiques, notamment la verticilliose (Beye et Lafay, 1988). Cette plante a un cycle plus ou moins court ce qui permet d'obtenir rapidement des symptômes.

Nous avons choisis trois variétés différentes de tomate (Tab. 03).

Tableau 03: Fiche technique des variétés de tomate utilisées pour le test de pathogénicité

Variété	Type de croissance	Culture	Résistance aux maladies	Société
Tiger (trés tôt)	Indéterminée	Printemps, Automne	TOMV/Vd/F0-1	Yuksel Seeds
Baghera (précoce)	Déterminée	Printemps froid	Fol: 1,2	Clause Vegetable Seeds
Bobcat(semi-précoce)	Déterminée	Printemps	Fol: 1,2	Syngenta Seeds

Source: <http://www.ecoplantgalati.ro/ocart/seminte-tomate-baghera>,
<https://www.marcoser.ro/produse/seminte-de-legume/tomate/tomate-de-camp/bobcat-f1.html>,
<http://www.agrifarmbh.ro/seminte-profesionale-de-legume/seminte-de-tomate/seminte-tomate-cherry/tiger-f1-detail>.

II. Méthodes

II.1 Caractérisation morphologique et culturale des cinq isolats de *Verticillium dahliae*

II.1.1 Mesure de la taille des conidies

La mensuration des conidies est réalisée sur des cultures du champignon âgées de 10 jours et poussant sur milieu PDA, à une température de 22°C.

Cette étude a porté sur la longueur et la largeur de 100 conidies par isolat ; elle est réalisée à l'aide d'un microscope photonique préalablement étalonné. La suspension de spores a été réalisée dans un liquide neutre : l'eau.

Le mode opératoire consiste à déposer entre lame et lamelle une goutte de suspension conidienne qu'on observe au grossissement (4×100).

II.2 Etude de l'influence de quelques facteurs abiotiques sur la croissance et la sporulation du *Verticillium dahliae* " *in vitro* "

Parmi les facteurs physiologiques qui influencent la croissance fongique et la sporulation, nous avons étudié l'influence de la composition du milieu, la température et le pH.

II.2.1 Influence du milieu de culture sur la croissance et la sporulation du *V. dahliae*

Dans cette étude, nous avons utilisé trois différents milieux culture :

- Milieu PDA
- Milieu petit pois
- Milieu V8

La composition de ces milieux de culture est donnée en annexe 01.

Les isolats fongiques sont ensemencés sur les différents milieux de culture en boîtes de Pétri en plaçant un disque de 5 mm de diamètre prélevé à l'emporte pièce, à la périphérie d'une culture jeune (âgée de 7 jours) sur milieu PDA. Trois boîtes de Pétri ont été ensemencées par milieu de culture pour chaque isolat. L'influence du milieu est étudiée sur un seul niveau de température (22°C).

II.2.2 Influence la température sur la croissance et la sporulation du *V. dahliae*

Le but de cette étude est de déterminer la température optimale de la croissance mycélienne des cinq isolats fongiques qui sont ensemencés dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. Pour ce test quatre niveaux de température sont étudiés (20, 22, 25 et 30 °C). Pour chaque isolat et pour chaque température, trois répétitions sont utilisées.

II.2.3 Influence du pH sur la croissance et la sporulation du *V. dahliae*

Pour cette étude, nous avons utilisé le milieu PDA que nous avons réparti dans des erlenmeyers de 100 ml, où nous avons ajouté des quantités de HCl (4N) et NaOH (4N) (Annexe 02) à l'aide d'un pH mètre pour obtenir une gamme de pH varie de 4.5 à 6.5 selon la méthode décrite par Solomen (1951) in Loubelo (1992). Après autoclavage les milieux ainsi acidifiés sont coulés en boîtes de Pétri. Pour chaque isolat et pour chaque niveau de pH, trois répétitions sont utilisées.

II.3 Méthode de mesure de la croissance et de la sporulation du parasite

II.3.1 Évaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne des cinq isolats est évaluée par la mesure de la croissance linéaire et diamétrale des colonies (Kaiser, 1973), à l'aide d'une règle graduée, en mesurant la moyenne de deux diamètres perpendiculaires des colonies. Les mesures sont réalisées toutes les 72 heures.

La croissance mycélienne des colonies est déterminée selon la formule suivante :

$$L = \frac{D-d}{2} \quad (\text{Rapilly, 1968})$$

L : Croissance mycélienne (mm)

D : diamètre moyen de la colonie (mm)

d : diamètre du disque mycélien initial (mm).

II.3.2 Mesure de la sporulation

Elle a été évaluée à partir d'une culture âgée de 10 jours. La technique consiste à verser 10 ml d'eau distillée stérile sur la surface de la boîte de Pétri contenant le champignon. Après 15 minutes de contact avec l'eau, afin de libérer toutes les conidies du champignon, la colonie est grattée superficiellement avec une lame de bistouri. La suspension ainsi obtenue est filtrée à travers une mousseline.

A partir de chaque suspension conidienne ainsi préparée, un échantillon de 100 µl est prélevé. Il est examiné à l'aide d'une lame de malassez sous un microscope optique (x400). On compte le nombre de conidies pour chaque échantillon (Hanounik et Maliha, 1984).

NB: La sporulation est estimée dans tous les cas : test de milieu, de pH et de température pour les 5 isolats après 21 jours de culture.

II.4 Test de la pathogénicité de *Verticillium dahliae* sur tomate (*Solanum lycopersicum*)

Le test de pathogénicité sur olivier demande du temps pour l'apparition des symptômes, à cause de la longue période d'incubation du champignon au niveau de cette plante. La tomate (*Solanum lycopersicum*) étant aussi une plante hôte pour le *Verticillium dahliae*, l'expression des symptômes sur cette plante y est plus rapide, nous avons donc utilisé cette plante pour déterminer la pathogénicité de chaque isolat.

Trois isolats de *V. dahliae* ont servi pour ce test : S1/P1 (Sidi Bel-Abbes) et S5/P1, S3/P1 de Mostaganem (Tab.1, page. 16).

II.4.1 Obtention des plants

Les graines de tomate sont désinfectées par trempage dans de l'eau de javel pendant 2 minutes afin d'éliminer toute contamination superficielle, elles sont alors rincées quatre fois à l'eau distillée stérile, séchées sur papier filtre stérile.

Les graines sont semées dans des pots en plastique contenant du terreau stérile. Ces pots ont été préalablement désinfectés à l'eau de javel. Pour faciliter le drainage lors des arrosages, quelques petits trous sont réalisés sur le fond de chaque pot.

Les plants sont exposés en serre (20 à 25°C). Ils sont arrosés deux fois par semaine à l'eau de robinet jusqu'au stade requis pour l'inoculation (stade de 2 à 3 feuilles) (Fig. 7,8).



Figure 07 : Obtention des plantules de tomate âgées de trois semaines.

II.4.2 Préparation de l'inoculum fongique

L'inoculum fongique a été préparé selon la méthode de Blanco-López et *al.* (1989). Les cinq isolats de *V. dahliae* sont cultivés sur milieu PDA, à l'obscurité et à 25° C.

Après dix jours de culture, les isolats n'ont produit aucun microsclérote, par la suite une suspension sporale a été obtenue en mélangeant du mycélium, des conidies, et 17,5 ml d'eau distillé stérile par boîte. Elle est préparée par grattage de la surface à l'aide d'une lame de bistouri puis filtrée à travers une mousseline.

La suspension est recueillie puis ajustée à $5,5 \times 10^6$ spores/ml par estimation de la densité sur lame Malassez.

A fin de fixer l'inoculum sur les racines de la tomate, dix boîtes Pétri contenant l'agar ont été ajoutées à la suspension sporale obtenue puis mélangé tous le contenu à l'aide d'un mélangeur à main et en obtenant une masse de fluide semi-solide (fig. 08).

II.4.3 Inoculation

Les racines des plantes ont été lavées avec de l'eau pour éliminer le substrat de croissance, le système racinaire nu de chaque plante a été immergé pendant une minute dans l'inoculum jusqu'à ce que la racine soit imprégnée bien avec une masse de fluide semi-solide. Environ 30 ml de la masse semi-solide ont été nécessaires par plante pour endommager complètement toutes les racines (Blanco-López et *al.* 1989).

Les plantes ont ensuite été transplantées individuellement dans des pots en plastique stériles, contenant du sol stérile (fig. 08).

Les plantes témoins non inoculées ont été soumises au même procédé décrit ci-dessus, mais la masse fluide comprenait un mélange d'eau distillée stérile et de plaques de PDA sans agent pathogène.

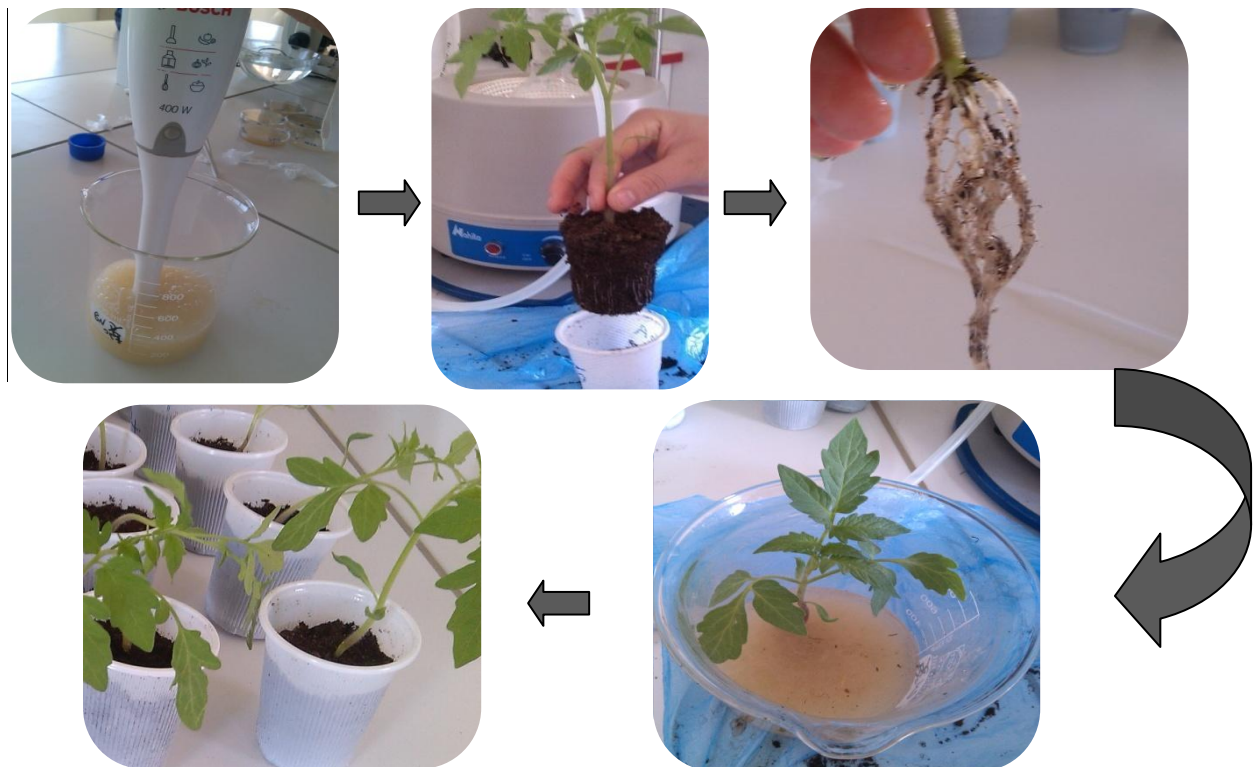


Figure 08 : les étapes d'inoculation végétale selon Blanco-López et *al.* (1989).

II.4.4 Notation de la maladie

Après 20 jours d'incubation les plantes sont observées chaque cinq jour et l'on note l'apparition du 1^{er} signe foliaire de verticilliose : épinastie, chlorose ou flétrissement suivant les cas. Les plantes qui n'ont manifesté aucun symptôme au bout d'un mois sont considérées comme saines.

Nous avons utilisé l'indice d'altération foliaire (I.A.F) qui permet d'exprimer l'intensité des dégâts foliaires provoqué par le champignon. Les symptômes sont progressifs. Ils commencent par le flétrissement puis chlorose et chute des feuilles

Un indice de maladie variant entre 0 et 4 est attribué à chaque plante suivant une échelle bien définie selon Béye et lafay (1985).

Une note est attribuée à chaque plante :

- 0 : plante d'aspect saine.
- 1 : épinastie ou feuille flétrie sans chlorose.
- 2 : une ou plusieurs plages légèrement chlorotiques sur une ou plusieurs folioles.
- 3 : Plages chlorotiques sur toute la surface d'un ou plusieurs folioles ou plage chlorotique à centre nécrose sur une ou plusieurs folioles.
- 4 : Nécrose complète de plusieurs folioles ou feuille morte.

Un indice d'altération foliaire est ensuite établi pour chaque plante.

$$\text{I. A. F} = \frac{\text{somme des notes}}{\text{maximum possible}} \times 100$$

Le maximum possible est égal à 4 fois le nombre de feuilles bien développées portées par la plante.

II.5 Analyse statistique

Le traitement de toutes les données "*in vitro*" et "*in vivo*" a été réalisé à l'aide de Microsoft Office Excel pour le classement des données brutes et pour l'élaboration des graphes. L'analyse de variance et la comparaison des moyennes (test de Newman-Keuls et *Annova*) ont été effectuées par l'utilisation du logiciel Stat box version 6.40.

Somm

I.1	Matériel fongique	16
I.2	Matériel végétal	16
II.	Méthodes	17
II.1	Caractérisation morphologique et culturale des cinq isolats de <i>Verticillium dahliae</i>	17
II.1.1	Mesure de la taille des conidies	17
II.2	Etude de l'influence de quelques facteurs abiotiques sur la croissance et la sporulation du <i>Verticillium dahliae</i> " in vitro "	17
II.2.1	Influence du milieu de culture sur la croissance et la sporulation du <i>V. dahliae</i>	17
II.2.2	Influence la température sur la croissance et la sporulation du <i>V. dahliae</i>	17
II.2.3	Influence du pH sur la croissance et la sporulation du <i>V. dahliae</i>	18
II.3	Méthode de mesure de la croissance et de la sporulation du parasite	18
II.3.1	Évaluation de la croissance mycélienne	18
II.3.2	Mesure de la sporulation	18
II.4	Test de la pathogénicité de <i>Verticillium dahliae</i> sur tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>).....	19
II.4.1	Obtention des plants	19
II.4.2	Préparation de l'inoculum fongique	20
II.4.3	Inoculation.....	20
II.4.4	Notation de la maladie.....	21
II.5	Analyse statistique.....	22

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le champignon a n'a pas révélé de variabilité entre les isolats au niveau de la pigmentation de la colonie et la production des microsclérotos.

Les caractéristiques culturales effectuées notés en laboratoire font apparaitre un changement d'aspect morphologique du champignon d'un milieu de culture à l'autre, d'une valeur du pH à l'autre.

Il existe une différence entre les isolats au niveau de la sporulation, de la croissance mycélienne et de la taille des conidies.

Verticillium dahliae se développe mieux sur milieu V8 agar, comparativement au milieu PDA et au milieu petit pois.

Le pH optimum pour la croissance et la sporulation du champignon est à 6,5. Les valeurs de pH de 4,5 et 5,5 provoquent un ralentissement de la croissance, un changement de l'aspect cultural de la colonie (couleur et forme) et une inhibition partielle de la sporulation.

La température optimale de croissance de *V. dahliae* est à 22°C.

Sur le plan pathogénique, les isolats ne montrent pas le même degré d'agressivité, certains sont plus agressifs que d'autres.

Ce travail préliminaire mériterait d'être poursuivi et cibler des populations du champignon plus importantes, en vue de confirmer les résultats auxquels nous avons abouti.

A l'avenir, l'étude doit s'intéresser à l'identification des pathotypes et à la recherche des cultivars résistants locaux, car jusqu'à présent les cultivars algériens ne sont pas caractérisés.

Nous devons aussi caractériser les populations du pathogène grâce aux marqueurs moléculaires tels que SSR, RADP, RFLP... etc

Au niveau de la lutte, il est souhaitable d'axer la recherche sur la rhizosphère. Les mycorhizes ainsi que les phénomènes d'antibiose et de parasitisme entre microorganismes (bactéries et champignons) sont une voie à prospecter.

En attendant,

La lutte intégrée doit être privilégiée.

I. Caractéristiques morphologiques et culturelles des isolats de *Verticillium dahliae*

I.1 Aspect macroscopique

Après 6 à 7 jours de culture sur milieu P.D.A, les colonies de *verticillium dahliae* présentent un mycélium blanc et dense plus ou moins cotonneux (fig. 9A).

Mais sur le milieu V8 le mycélium apparaît blanc cotonneux puis devient noir après 15 jours de culture en raison d'une abondante production de micro-sclérotés (fig. 9 B).

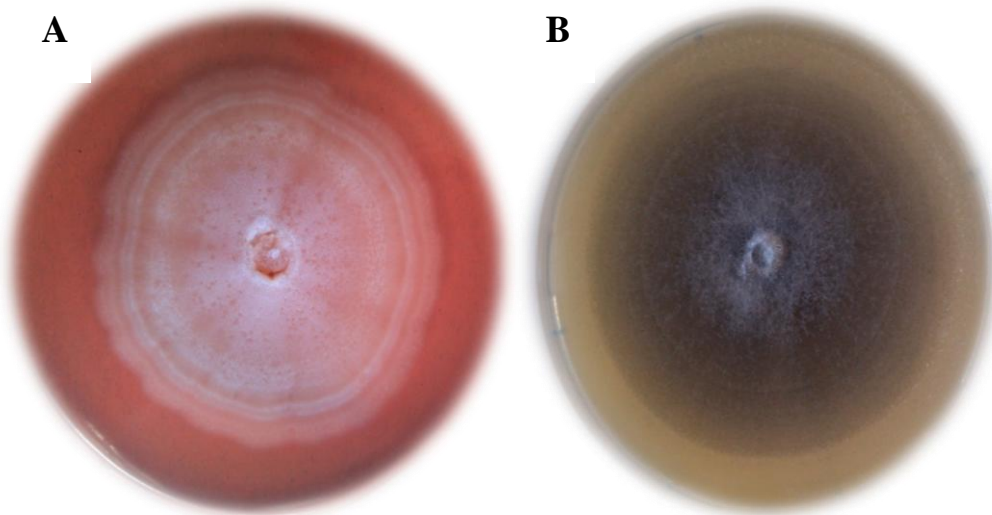


Figure 9 : Aspect macroscopique de *Verticillium dahliae* :
A, sur milieu PDA ; B, sur milieu V8.

I.2 Aspect microscopique

Les cinq isolats produisent des conidies plus ou moins allongées et des microsclérotés en grande quantité. L'identification du genre *Verticillium* est réalisée en se référant au manuel de Barnett et Hunter (1972). Elle est basée sur les caractéristiques morphologiques des hyphes et des organes de reproduction asexuée. Les observations microscopiques montrent la présence d'hyphes mycéliens ramifiées et des conidiophores portant des phialides verticillées, à leur extrémité desquelles se distinguent des conidies plus ou moins arrondies (fig.10). Des amas de micro-sclérotés sont observés. L'identification de l'espèce est réalisée selon les critères décrits par de nombreux auteurs (Jabnoun-Khiearddine *et al.*, 2010 ; Lola *et al.*, 2011 ; Kumar *et al.*, 2012).

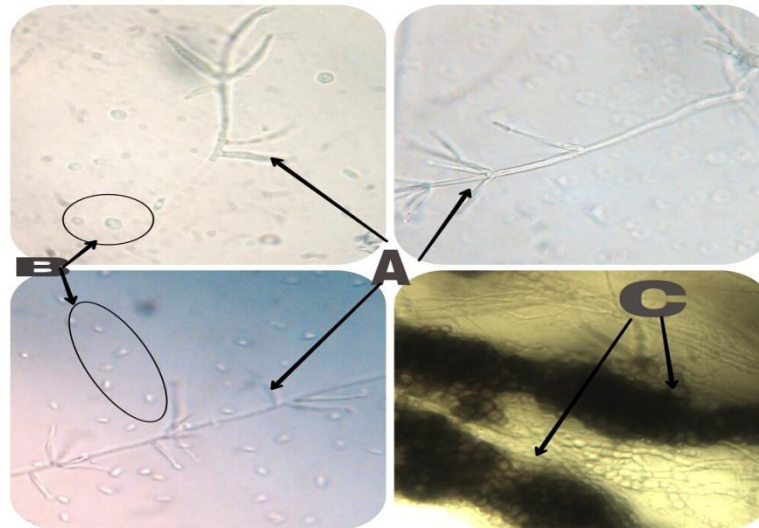


Figure 10: Aspect microscopique de *V.dahliae*, (A): phialides, (B): conidies, (C): microsclérotés (Gx400) (Originale 2017).

I.3 Dimension des conidies

La mensuration des conidies des cinq isolats de *V. dahliae* révèle une légère variabilité de la longueur et de la largeur. L'histogramme de la figure 11, illustre les variations de la taille des conidies.

Les isolats présentent une longueur et largeur qui varie faiblement d'un isolat à un autre, soit respectivement entre 3,38 μm à 9,88 μm et 1,3 μm à 6,5 μm .

Les observations révèlent des spores de petite taille, hyalines, de forme ovoïde.

Le tableau 04 donne les limites supérieures et inférieures de la taille des conidies, ainsi que la largeur et la longueur moyennes des conidies de chaque isolat.

Tableau 04: Longueur et largeur moyennes des conidies des cinq isolats de *V. dahliae*.

Isolat	longueur moyenne (μm)	Largeur moyenne (μm)	Intervalle de la taille (μm)
S1/P1	6,34 \pm 0,49	3,37 \pm 0,37	(3,9-9,84) (2,34 -6,5)
S2/P1	5,99 \pm 0,4	2,82 \pm 0,18	(3,38-8,32) (1,3-4,42)
S3/P1	6,52 \pm 0,46	3,04 \pm 0,31	(4,16-9,88) (1,3-6,5)
S4/P1	6,31 \pm 0,47	2,92 \pm 0,28	(3,9-8,56) (1,3-5,46)
S5/P1	6,26 \pm 0,46	3,06 \pm 0,29	(3,9-8,32) (1,3- 5,46)

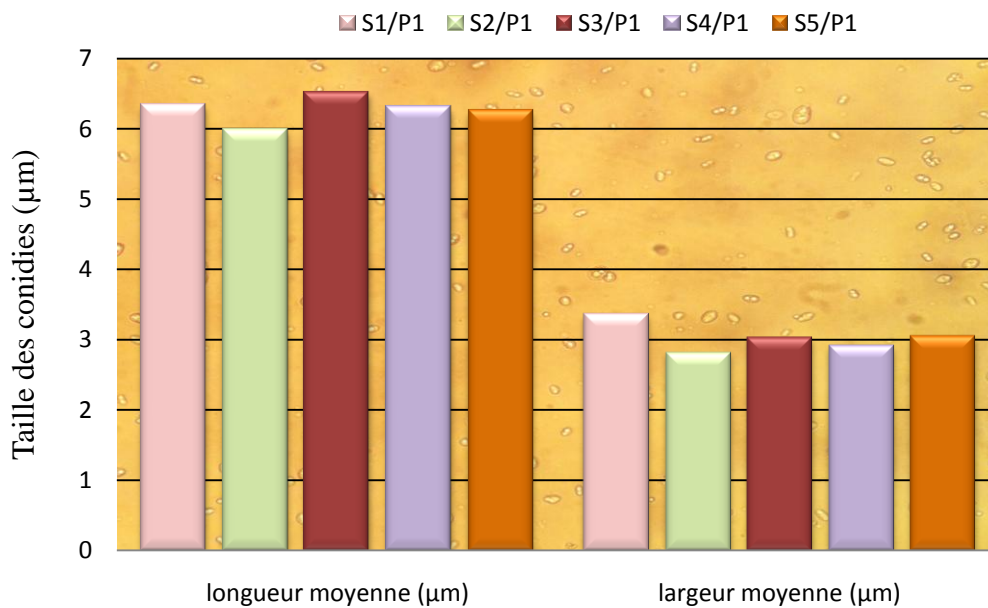


Figure 11: Représentation des isolats selon la taille des conidies.

Sur la base de ces mensurations, les analyses statistiques à deux critères de classification, ont mis en comparaison la longueur et la largeur des conidies pour les cinq isolats étudiés.

L'analyse de la variance montre une différence hautement significative entre les différents isolats.

Le test Newman et Keuls au seuil de 5%, a permis de classer les isolats selon les dimensions des conidies en 3 groupes homogènes.

Ces groupes statistiquement différents sont arrangés par ordre décroissant comme suit : S1/P1 > S3/P1 > S5/P1 > S4/P1 > S2/P1.

Cependant, il faut noter que les quatre premiers isolats appartiennent au même groupe et donc les différences observées ne sont pas significatives.

II. Influence de quelques facteurs abiotiques sur le comportement « *in vitro* » de cinq isolats de *Verticillium dahliae*

II.1 Influence de la composition du milieu de culture

Les résultats obtenus « *in vitro* » montrent que *V. dahliae* se développe assez bien sur les trois milieux de cultures utilisés.

II.1.1 Effet de des milieux de culture sur la croissance mycélienne des isolats de *V. dahliae*

Le milieu V8 agar semble plus favorable à la croissance, après 21 jours de culture la croissance linéaire du *V. dahliae* atteint 4 cm de rayon sur la boîte Pétri, contre 3,46 cm sur le milieu PDA et 1,65 cm sur milieu Petit pois (fig. 13). Pourtant certains travaux ont montré que le milieu PDA était favorable à la croissance de *V. dahliae* (Metoui et Zarrouk, 2006 ; Malik, 2008).

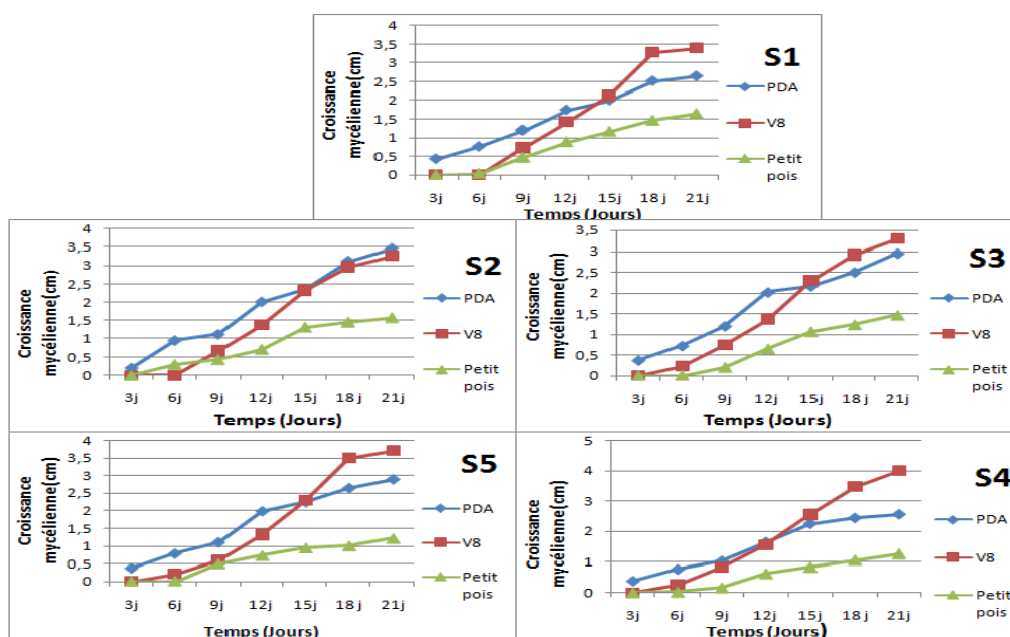


Figure 12 : Influence du milieu de culture sur la croissance des cinq isolats de *V. dahliae* pendant 21 jours d'incubation (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1 ; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1).

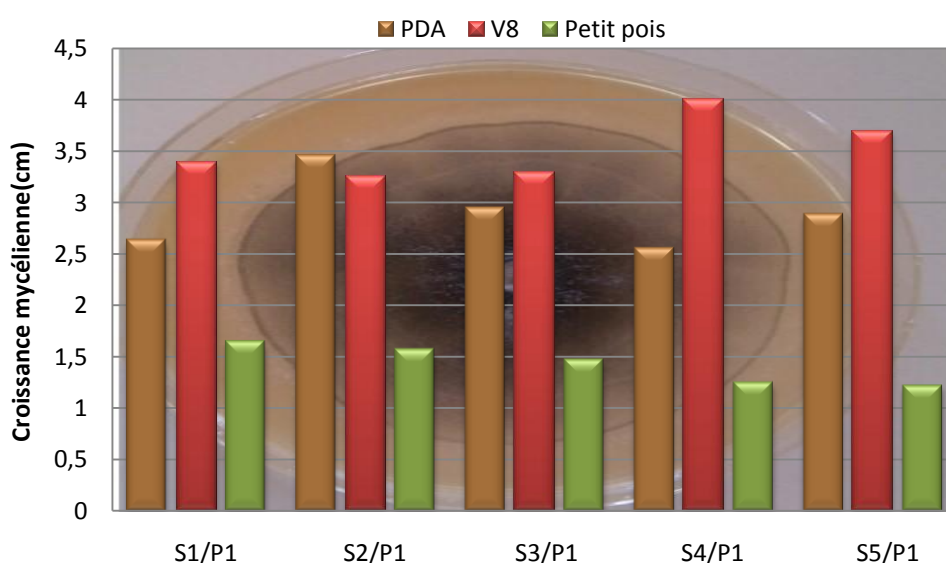


Figure 13 : Influence de milieux de culture sur la croissance des isolats de *V. dahliae* après 21 jours d'incubation.

Chapitre III: Résultats et discussions

L'analyse de variance ($p < 0,05$) montre que la croissance mycélienne diffère significativement entre les milieux de culture et entre les isolats (annexe 03).

Le test de Newman-Keuls au seuil de 5% permet de classer les milieux en 2 groupes homogènes, ces groupes statistiquement différents sont classés par ordre décroissant :

PDA > V8 > Petit pois.

Le milieu PDA et le milieu V8 appartiennent au même groupe, ce qu'ils ne présentent pas de différence significative.

On remarque que l'aspect des colonies diffère d'un milieu à l'autre, sur PDA le mycélium est presque transparent, plus ou moins blanc et cotonneux (fig. 14).

En revanche, sur milieu V8, la colonie est recouverte de microsclérotés ce qui lui confère une coloration noire (fig. 15). Sur milieu petit pois, la colonie est plus petite et cotonneuse, recouverte de microsclérotés (fig. 16). En outre, l'aspect des colonies change en fonction du milieu et ce pour les cinq isolats étudiés.

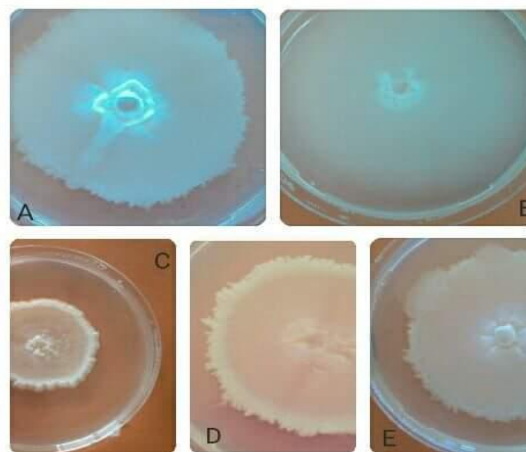


Figure 14: Aspect des colonies de *V. dahliae* sur milieu PDA après 21 jours d'incubation : **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1 ; **E**, S5/P1.

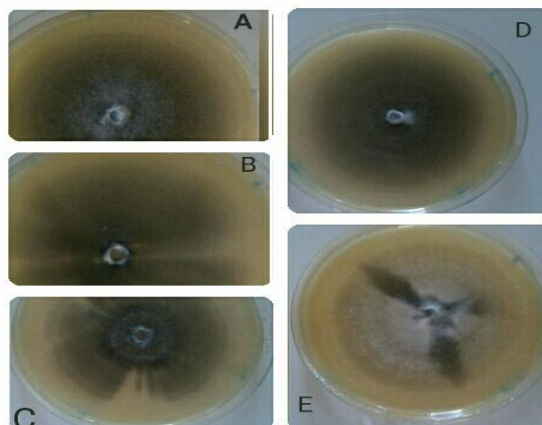


Figure 15 : Aspect des Colonies de *V. dahliae* sur milieu V8 après 21 jours d'incubation : **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1 ; **E**, S5/P1.

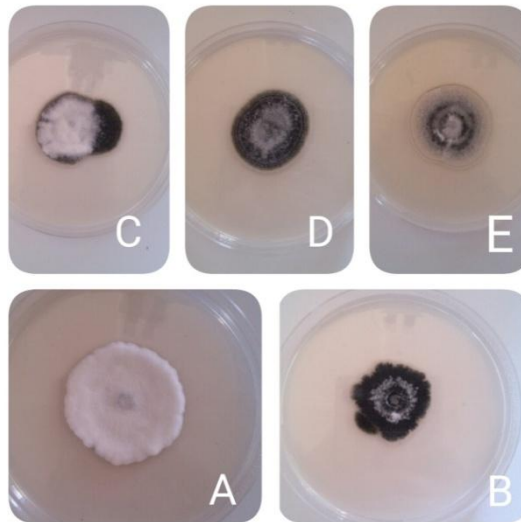


Figure 16 : Aspect des colonies de *V. dahliae* sur milieu petit pois, après de 21 jours d'incubation : **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1 ; **E**, S5/P1.

II.1.2 Effet des milieux de culture sur la sporulation des isolats de *V.dahliae*

Les résultats de la sporulation sont représentés sur figure 17. Ils révèlent que l'ensemble des milieux ont permis une sporulation du pathogène. Celle-ci est cependant variable selon le milieu.

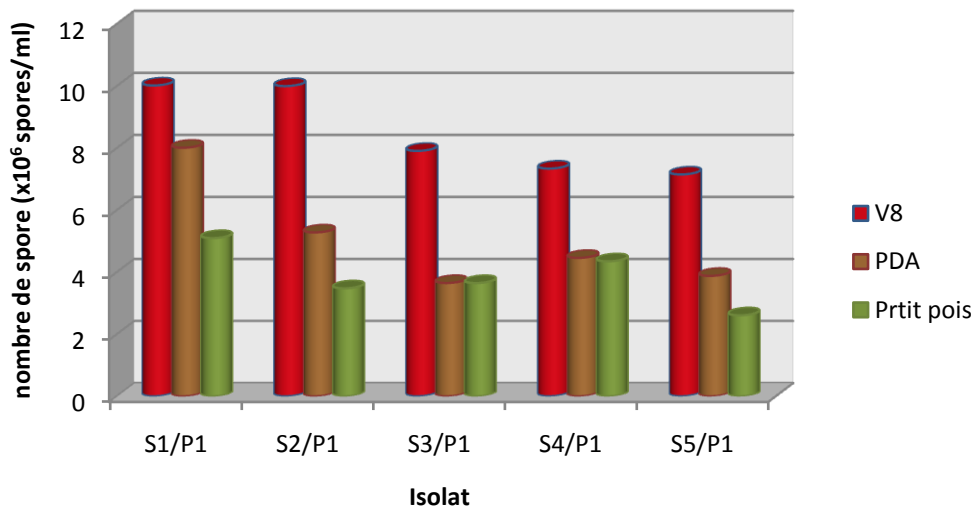


Figure 17 : Influence des milieux de culture sur la sporulation de *V. dahliae*.

Le milieu V8 semble plus favorable à la sporulation du parasite.

Les résultats de l'analyse de variance ($p < 0,05$) montrent que la sporulation diffère significativement entre les isolats et entre les milieux de culture.

En considérant les trois milieux ensembles, le test de Newman-Keuls au seuil de 5%, permet de classer les isolats en 2 groupes homogènes, avec sporulation variant de $4,54 \cdot 10^6$ à $7,71 \cdot 10^6$ spores/ml.

Le classement par ordre décroissant s'établit comme suit :

L'isolat S1/P1 dans le groupe A, S2/P1 dans le groupe AB, et S3/P1, S4/P1, S5/P1 dans le groupe B.

Quant aux milieux de culture, ils se répartissent en 2 groupes homogènes, sur lesquels la sporulation varie entre 3,83 à 8,48 spores/ml.

Le classement et le suivant : V8> PDA>Petit pois.

II.2 Influence de la température

II.2.1 Effet de température sur la croissance mycélienne des isolats de *V. dahliae*

Les résultats de l'effet de la température sur la croissance mycélienne de cinq isolats sont représentés sur figure 19.

On remarque que les températures 22°C et 25°C favorisent mieux la croissance mycélienne. En revanche la même croissance des isolats est ralentie pour les températures de 20°C et 30°C (fig. 18).

D'après la figure 19, l'optimum de croissance mycélienne de *Verticillium dahliae* est enregistré à 22°C.

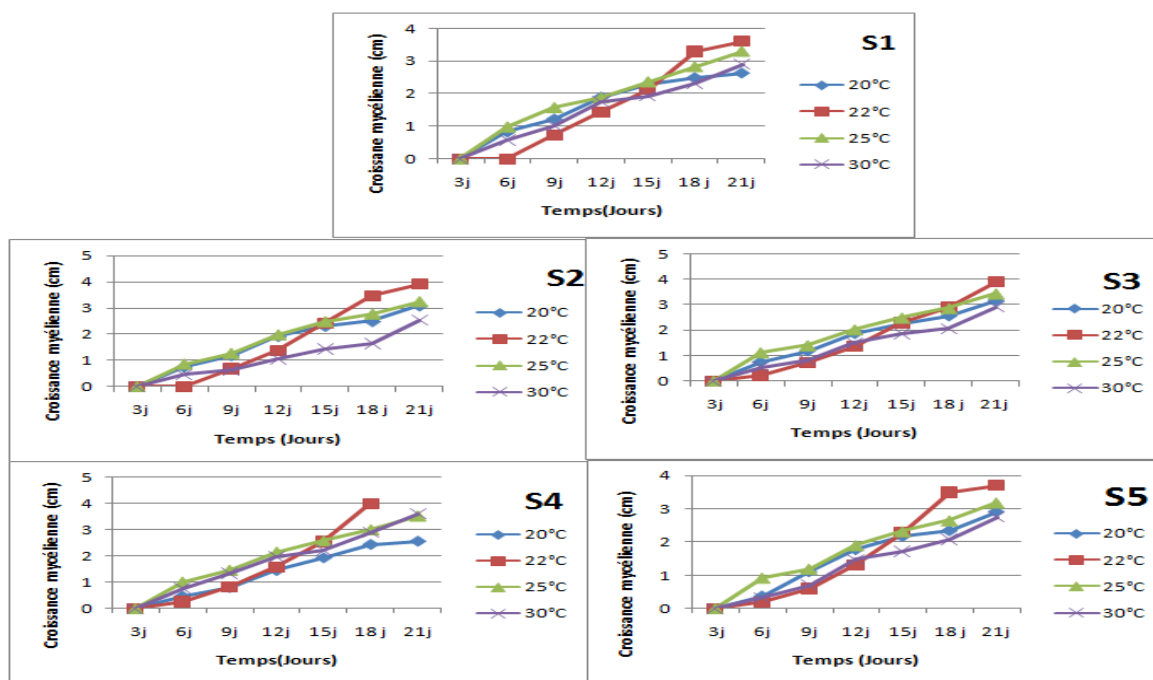


Figure 18: Influence de température sur la croissance mycélienne des cinq isolats de *V. dahliae*, pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1).

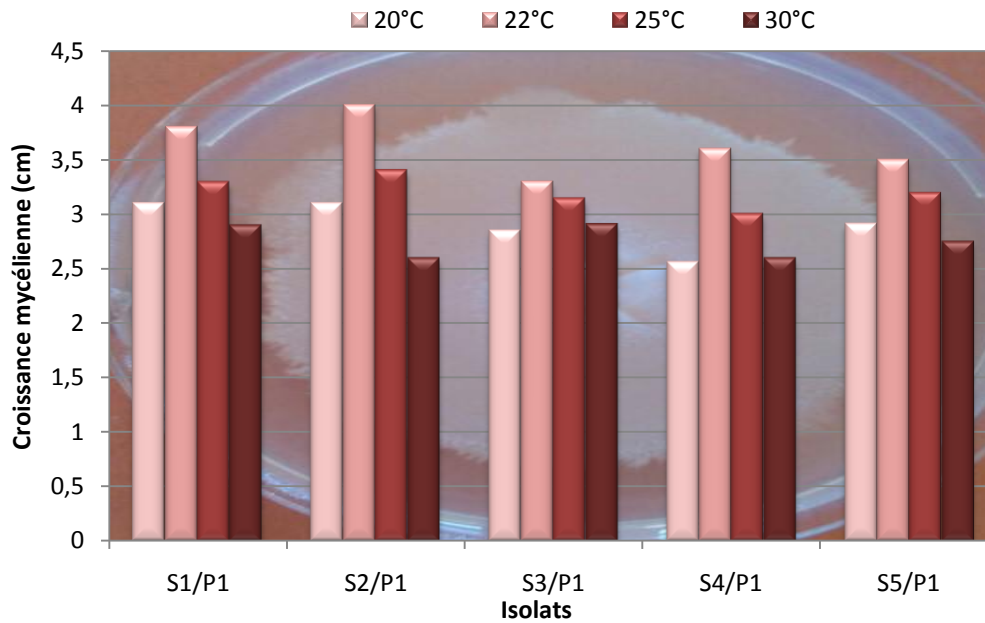


Figure 19: Influence de la température sur la croissance de *V. dahliae* après 21 jours d'incubation sur milieu PDA.

L'analyse *Annova* au seuil de 5 % montre que des différences entre les isolats sont hautement significatives. Le test de Newman-Keuls au seuil de 5 % permet de classer les isolats en trois groupes homogènes S4/P1 dans le groupe A, S3/P1 ET S1.P1 dans le groupe B, S2/P1 dans le groupe BC et S5.P1 dans le groupe C, et les températures en quatre groupes homogènes, selon l'ordre suivant : 22 °C > 25°C > 20°C > 30°C (annexe 03).

Nous remarquons aussi que l'aspect des colonies change en fonction de la température et ce pour les cinq isolats étudiés.

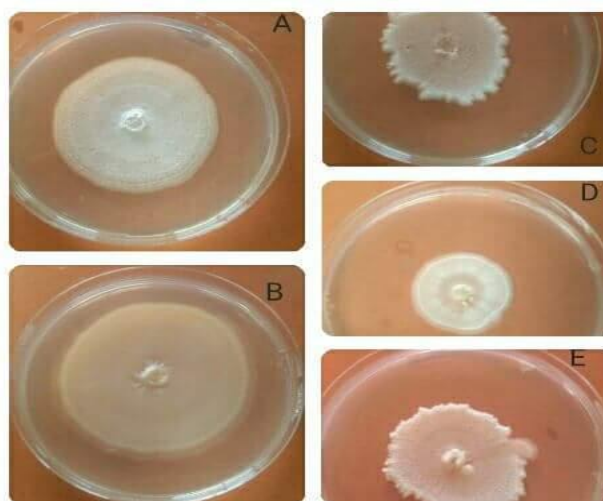


Figure 20 : Aspect des colonies de *V. dahliae*, à 20°C, sur PDA : A, S1/P1 ; B, S2/P1 ; C, S3/P1 ; D, S4/P1 ; E, S5/P1

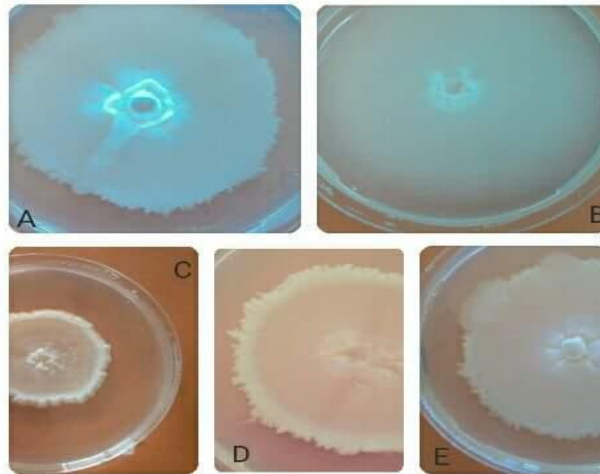


Figure 21 :Aspect des colonies de *V. dahliae*, à 22°C, sur PDA: **A**, S1/P1; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1 ; **E**, S5/P1.

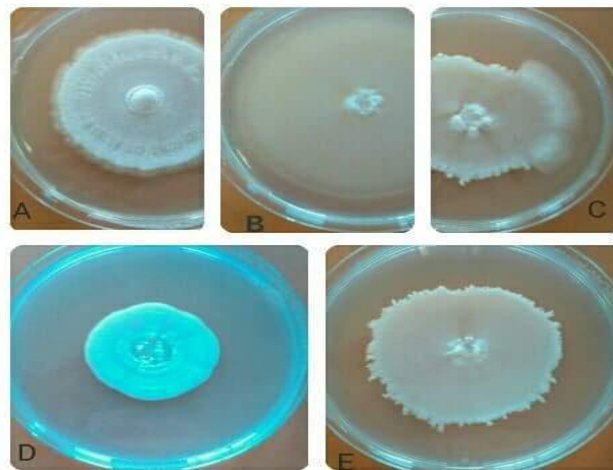


Figure 22 : Aspect des colonies de *V. dahliae*, à 25°C, sur PDA: **A**, S1/P1, **B**, S2/P1, **C**, S3/P1, **D**, S4/P1, **E**, S5/P1

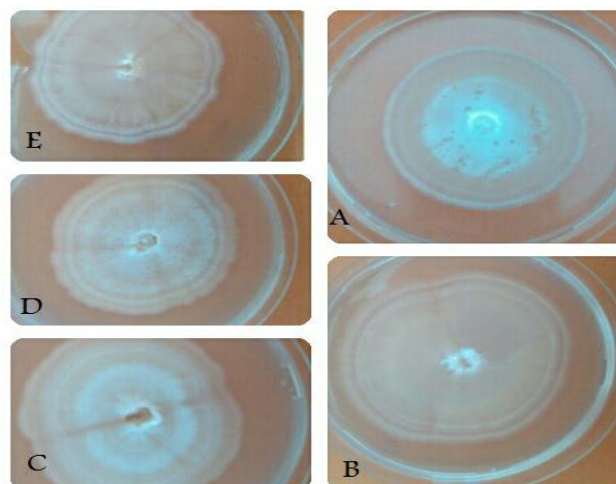


Figure 23: Aspect des colonies de *V. dahliae*, à 30°C, sur PDA: **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1, **E**, S5/P1.

II.2.2 Effet de la température sur la sporulation des isolats de *V. dahliae*

La température optimale pour la sporulation est 22°C, en revanche la température de 30°C est défavorable à celle-ci (fig. 24).

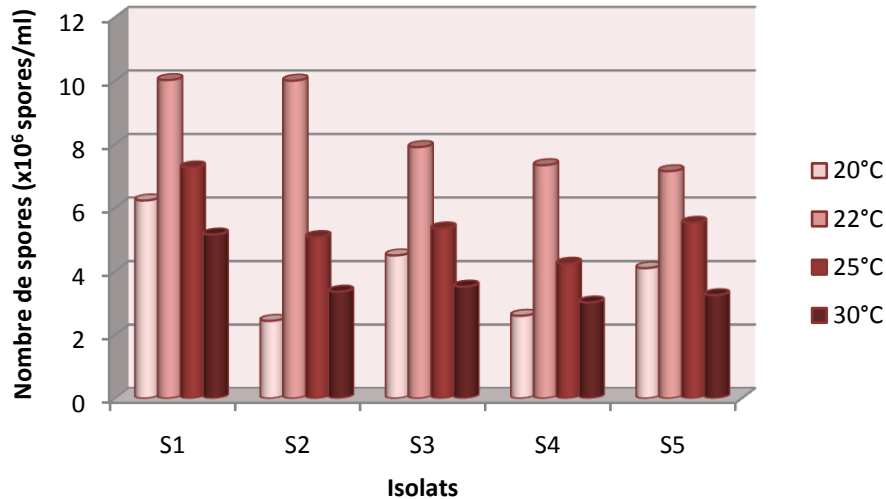


Figure 24: Influence de température sur la sporulation des cinq isolats de *V. dahliae* pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA.

Les résultats de test *Annova* ($p < 0,05$) montrent une différence hautement significative entre les quatre températures.

Les test de Newman-Keuls, au seuil de 5%, permet de classer les températures en 2 groupes homogènes avec une concentration variant de $3,65 \cdot 10^6$ à $6,77 \cdot 10^6$ spores/ml.

Le classement s'établit comme suit : $22^\circ\text{C} > 25^\circ\text{C} > 20^\circ\text{C} > 30^\circ\text{C}$,

La température 22°C dans le groupe A, 20°C, 25°C, et 30°C dans le groupe B (annexe 03).

II.3 Influence de pH

II.3.1 Effet de pH sur croissance mycélienne de *V.dahliae*

Les résultats obtenus montrent que le pH a un effet sur la croissance de *V. dahliae*. Le parasite semble mieux se développer sur des milieux à pH neutre ou proches de la neutralité (5,5-6,5) que sur milieu à pH acide (4,5) (fig. 25).

Divers travaux ont montré que le pH optimal de *V. dahliae* sur milieu PDA se situe entre 6.0 et 8.0 (Pegg et Brady, 2002 ; Malik, 2008) ou à $\text{pH} < 6$ (Sedra, 2002).

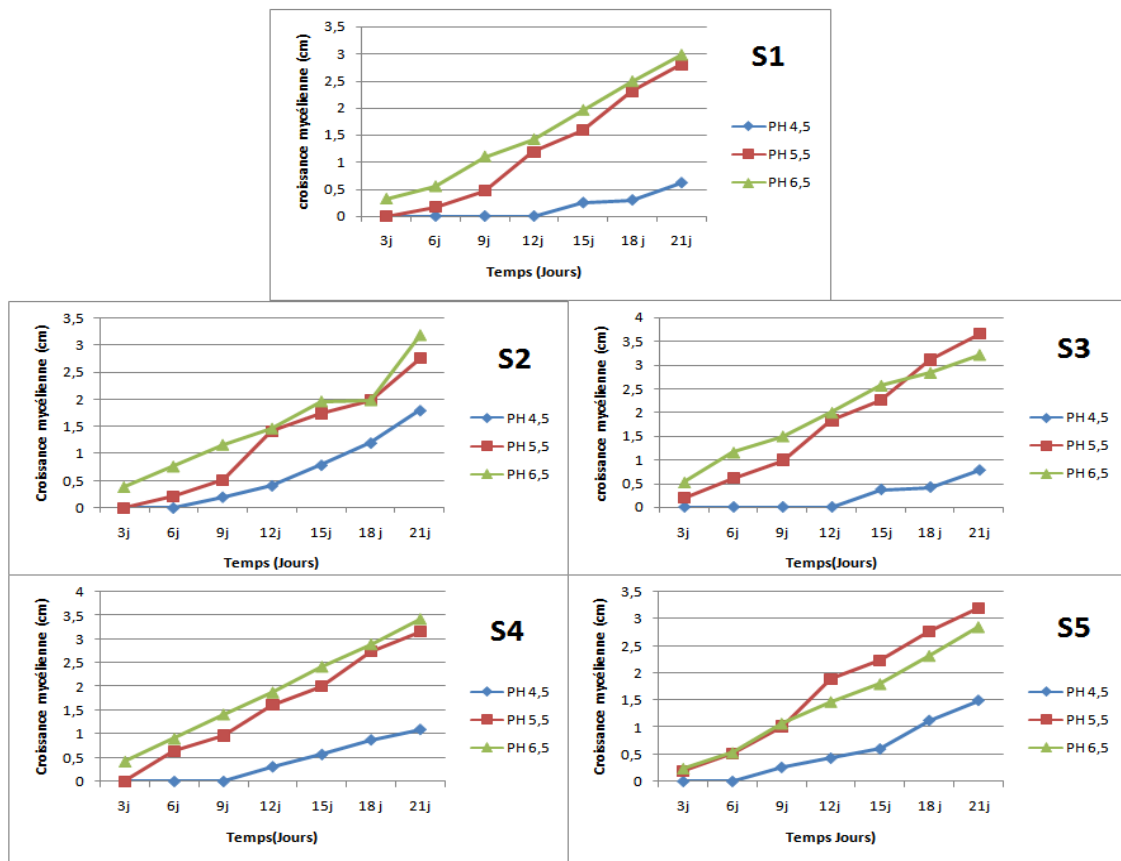


Figure 25 : Influence de pH sur la croissance mycélienne de *V. dahliae* pendant 21 jours d'incubation sur milieu PDA (S1= S1/P1 ; S2=S2/P1; S3=S3/P1 ; S4=S4/P1 ; S5=S5/P1).

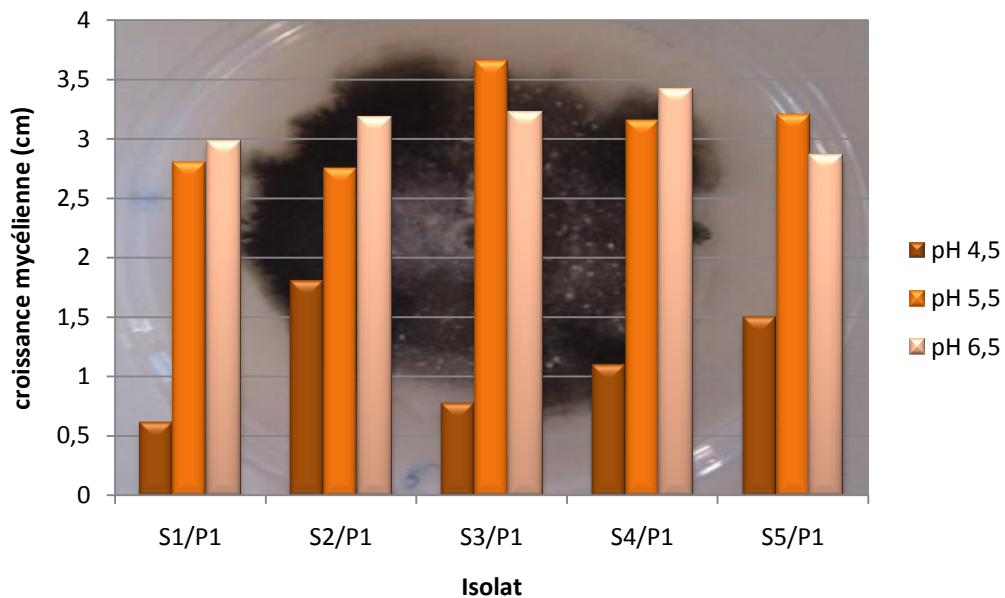


Figure 26: Effet de pH sur la croissance mycélienne de *V. dahliae* après 21 jours d'incubation.

Chapitre III: Résultats et discussions

Chez certains champignons phytopathogènes, le pH est important car il est considéré comme un des facteurs principaux qui détermine l'agressivité des maladies vasculaires (Lemanceau et al., 1989).

Nos résultats montrent que l'influence du pH sur la croissance de *V. dahliae* est importante. L'analyse de variance ($p < 0,05$) montre des différences hautement significatives entre la croissance radiale des cinq isolats étudiés. Ces résultats révèlent que la croissance mycélienne des cinq isolats est affectée par le pH.

Le test newman-keuls, au seuil de 5%, montre que les différents pH sont classés, selon la croissance mycélienne, en trois groupes homogènes: pH 6,5 > pH 5,5 > pH 4,5 (annexe 03).

Nous avons noté que l'aspect des colonies change en fonction du pH et ce pour les cinq isolats étudiés.

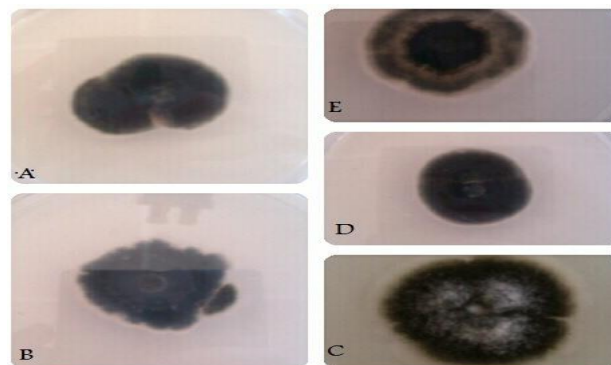


Figure 27 : Aspect des colonies de *V. dahliae* sur PDA, à pH 4,5: **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1; **D**, S4/P1 ; **E**, S5/P1.

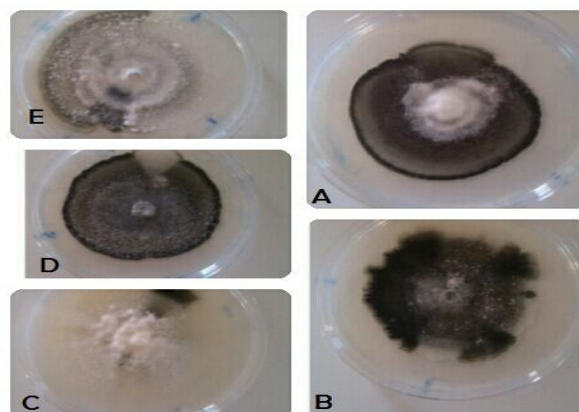


Figure 28 : Aspect des colonies de *V. dahliae* sur PDA, à pH 5,5: **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1 ; **E**, S5/P1.

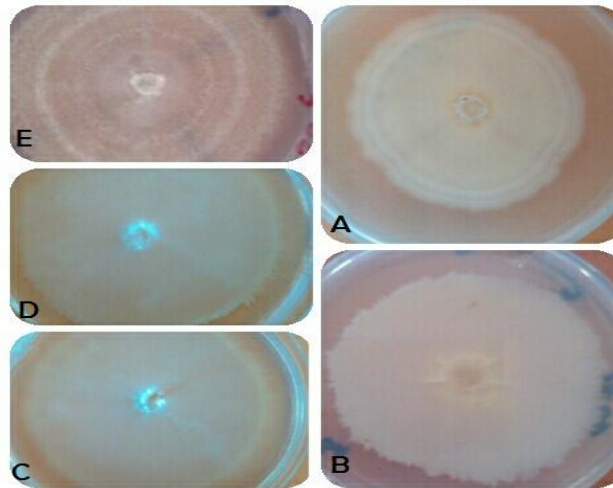


Figure 29 : Aspect des colonies de *V. dahliae* sur PDA, à pH 6,5: **A**, S1/P1 ; **B**, S2/P1 ; **C**, S3/P1 ; **D**, S4/P1, **E**, S5/P1.

II.3.2 Effet de pH sur la sporulation des isolats de *V. dahliae*

Les résultats obtenus permettent de noter que le pH 6,5 est plus favorable à la sporulation du pathogène et atteint même $10,7 \cdot 10^6$ spores/ml pour l'isolat S1/P1.

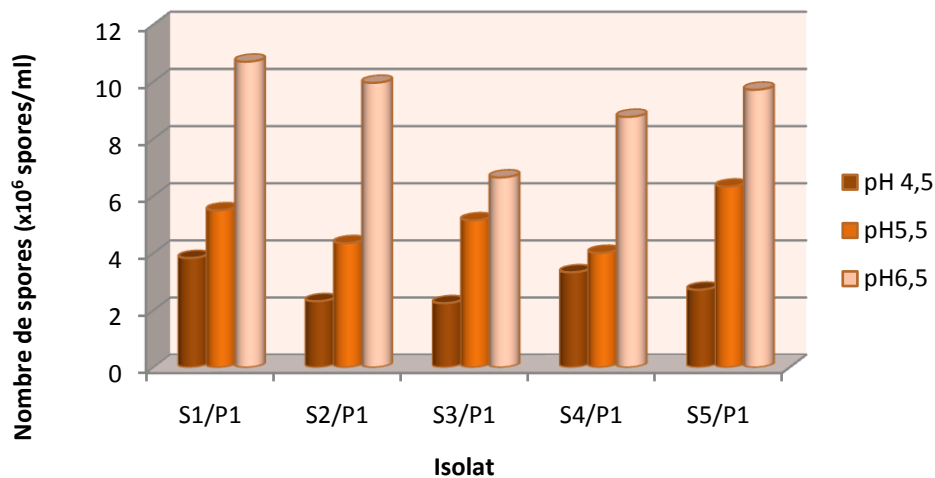


Figure 30 : Effet de pH sur la sporulation des isolats de *V. dahliae*.

L'analyse de variance par test *annova* ($p < 0,05$) montre des différences hautement significatives entre les différentes valeurs de pH.

Le test de Newman-keuls au seuil de 5% permet de classer les différents pH en trois groupes homogène, ces derniers sont arrangés comme suit : pH 6,5 > pH 5,5 > pH 4,5 et chaque'un de ces pH appartient à un groupe différent ce qui signifie qu'ils diffèrent significativement entre eux.

III. Test de la pathogénicité de *Verticillium dahliae* sur tomate (*Solanum lycopersicum*)

Le pouvoir pathogène est estimé par l'indice d'altération foliaire. Celui-ci permet de quantifier l'agressivité des trois isolats de *V.dahliae* sur les trois variétés de tomate inoculées. Dans nos conditions expérimentales, tous les isolats ont permis l'obtention des symptômes typiques de la verticilliose, après une durée d'incubation moyenne de 20 jours.



Figure 31 : symptômes de verticilliose sur tomate notés selon l'échelle de Béye et Lafay (1985).

III.1 Evolution des symptômes

Sur la partie aérienne, on observe un flétrissement puis jaunissement progressif des feuilles suivi de leur dessèchement et de leur chute (fig. 32). Des symptômes pareils apparaissent sur les jeunes feuilles qui prennent une coloration jaune et brune, se dessèchent et tombent au moindre contact (Boukenadel, 2001 ; Jabnoun-Khiareddine et al., 2006 ; Malik, 2008 ; Harir, 2010).



Figure 32: Evolution des symptômes de la verticilliose, 45 jours après inoculation.

III.2 Indice d'altération foliaire

Les I.A.F varient sensiblement selon les isolats fongiques, le plus élevé est obtenu avec S3/P1 (16,06 %) sur la variété Tiger et le plus faible avec S1/P1 (9.19 %) sur la variété Bobcat après 45 dpi (fig. 33).

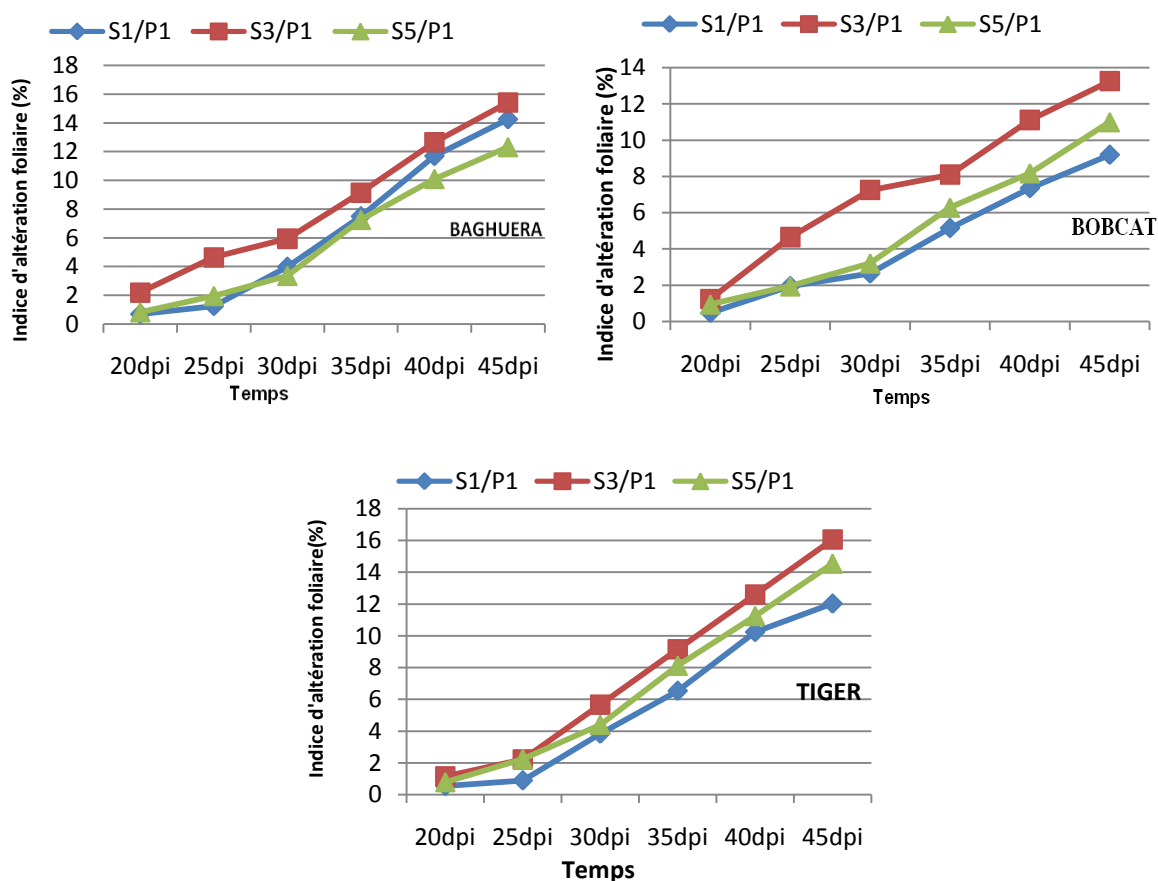


Figure 33: Evaluation des indices d'altération foliaire pendant 45 jours suivant l'inoculation.

L'estimation des I.A.F moyens montrent que la tomate est sensible au champignon selon l'évaluation de ces indices (fig. 34), bien que les altérations foliaires provoquées par les trois isolats de *V. dahliae* soient moins importantes comparativement aux résultats de certains travaux (Lahlou et Boisson, 1984 ; Boisson, 1988 ; Daayf, 1993; Jabnoun-Khiareddine et al., 2005).

Selon de nombreux auteurs, l'apparition des symptômes chez les plantes inoculées par *V. dahliae* est une réaction de la plante à l'infection qui s'expliquerait par la présence de certains métabolites toxiques libérés par le champignon dans les tissus de l'hôte telles que des toxines phénoliques (Pegg, 1965), des toxines de structure protéique ou oligosaccharide (Kenn et al., 1972) ou certains facteurs de croissance (l'acide 3-Indol acétique et les gibbérellines) qui induisent le jaunissement et la flétrissure du feuillage, ou encore des

lipopolysaccharides (LPS) qui provoquent la défoliation des plants infectés (Kenn et al., 1972 ; Beye et Lafy, 1985). En réponse à l'infection de *V. dahliae*, la tomate, en contre partie, élabore aussi de la tomatine (Langcake et al., 1972; Hammerschlag et Mace, 1975), des composés phénoliques (Matta et al., 1969; Ravisé et Tanguy, 1971; Glazener, 1982) et des sesquiterpènes (Tjamos et Smith, 1975; Elgersma, 1980).

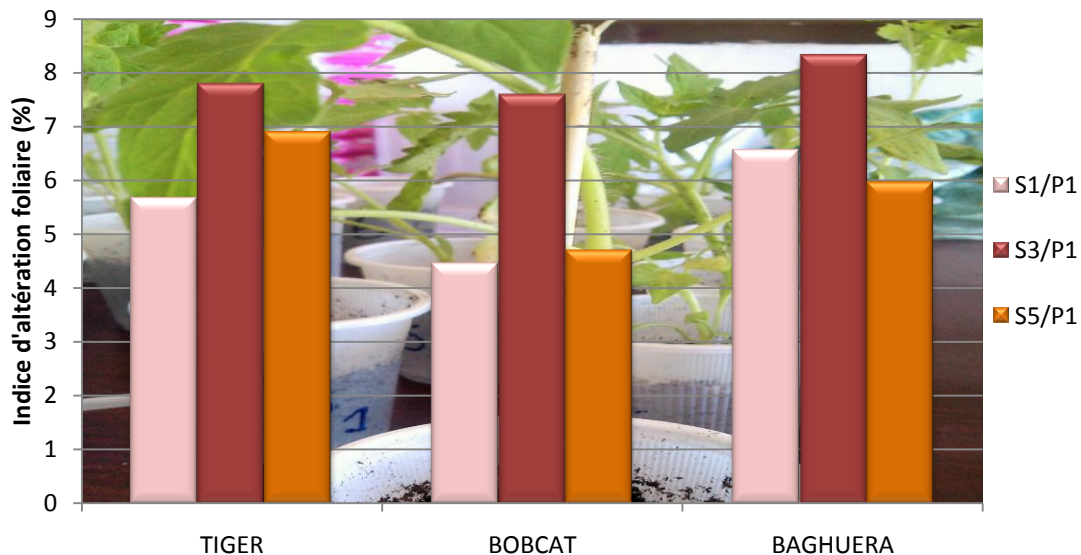


Figure 34: Moyenne d'indice d'altération foliaire (pour l'ensemble des notations) de trois isolats de *V. dahliae* sur chaque variété de tomate.

Les résultats de l'analyse de variance par le test *Annova* ($p < 0,05$) révèlent une différence hautement significative des I.A.F enregistrées selon l'isolat. Ainsi, le pouvoir d'altération foliaire des isolats semblerait être affecté par la provenance des isolats.

Le test de Newman-Keuls au seuil de 5%, permet de classer les variétés de tomate selon les altérations foliaires en deux groupes homogènes, ces groupes sont arrangées par ordre décroissant comme suit : les variétés Tiger et Baghuera appartiennent au groupe A, et Bobcat dans le groupe B.

Les isolats sont classés en trois groupes homogènes, comme suit : $S3/P1 > S5/P1 > S1/P1$.

D'après ces résultats on distingue que l'isolat le plus agressif c'est le S3/P1 originaire de Bouguirat (Mostaganem).

Cette étude montre aussi que les trois variétés de tomate utilisées sont sensibles à tous les isolats de *Verticillium dahliae* utilisés.

○ **A**

Abderrahmani, F. 1992. Etude du comportement variétal de l'olivier vis-à-vis de *Verticillium dahliae* et dynamique saisonnière des populations de microsclérotés dans la station oléicole de Cap-Djinet. Mémoire Ingénieur d'état. INES Blida. 77 p.

Alfano G., Lustrato G., Lima G., Vitullo D., Ranalli G., 2011 . Characterization of composted olive mill wastes to predict potential plant disease suppressiveness. *Boil, Control.*, 58: 199-207.

Alia, A. 1991. La verticilliose dans les oliveraies de la Kabylie: Estimation du taux d'infection, caractérisation de l'agent causal et analyse quantitative des microsclérotés dans le sol. Mémoire Ingénieur d'état. INES Blida. 60 p.

Arslan M., Dervis S. 2010. Antifungal activity of essential oils against three vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae*. *World J. microbial, Biotechnol.*, 26: 1813-1821

Assawah M.W., Ayat M., 1985. On certain diseases of olive trees at Oran area. Premières Journées Scientifiques de la Société Algérienne de Microbiologie. Avril, Institut Pasteur, Alger, Algérie, pp. 1-9.

Avenard V., 2008. L'olivier et les vertus thérapeutiques de ses feuilles. Thèse Doct. d'Etat, Univ.de Nantes, France, 104p.

○ **B**

Baldoni L., Belaj A., 2009. *Olive.J*, 13:397-421

Barba M., 1993. Virus like disease of olive. *Bull. OEPP/OPPO. Bull.*, 23: 493-498.

Barnett H.L., Barry Hunter B. 1972. Illustrated genera of imperfecti fungi. Third Edition. Burgess Publishing Company. 239p.

Bartolini G., Leva A.R., Benelli A., 1990. Advances in vitro culture of the olive: propagation of cv. Maurino. *Acta. Hort.*, 286: 41-44.

Bartolozzi F., Fontanazza G., 1999; Assessment of frost tolerance in olive (*Olea europaea* L.). *Sci. Hort.*, 81: 309-319.

Bellahcene M., 2004. La verticilliose de l'olivier : étude épidémiologique et diversité génétique de *Verticillium dahliae* *Kleb.*, Agent de la verticilliose. Thèse Doct. D'Etat. Univ. Oran (Algerie) 144pp.

Bellahcene M., Assigbetsé K., Fortas Z., Geiger J.P., Nicole M., Fernandez D. 2005. Genetic diversity of *Verticillium dahliae* isolates from olive trees in Algeria. *Phytopathol. Mediterr.*, 44: 266–274.

Bellahcene, M; Fortas, Z; Geiger, A; Matallah, A et Henni, D. 2000. La verticilliose de l'olivier en Algérie: Répartition géographique et importance de la maladie. *Olivae* n° 82.

Benadjal, M. 2007. Etude de la verticilliose de l'olivier: Epidémiologie et essais de lutte par la solarisation. Mémoire Ingénieur d'état. Département Agro. Blida. 57 p.

Benchabane, M. 1990. Observation des cas de verticilliose à Cap- Djionet et Sidi-Aich, I.T.A.F. 5p.

Benelli C., Fabbri A., Grassi S., Lambardi M., Rugini E., 2001. Histology of somatic embryogenesis in mature tissues of olive (*Olea europaea* L.). *J. Hort. Sci. Biotech.*, 76: 112-119.

Berlanger, I., Powelson M.L. 2000. Verticillium wilt. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-PHI-I-2000-0801-01.

Besri M., Zrouri M., beye I. 1984. Appartenance raciale et pathogénie comparée de quelques isolats de *Verticillium dahliae* (Kleb) obtenus à partir de tomates. *Phytopathology*, 109: 289-294.

Béye I. ; Lafay J-F., 1985, Etude de critères de sélection pour une résistance générale à la verticilliose chez la tomate. *Agronomie*, 5 (4), 305-311.

Blanco-López ,M.A. ,bejarano-alcazar,J. ,Melero-vara,J.M.,etJiménez-Diaz,R.M 1989.Current statusof verticillium wiltof cotton in southern Spain:Pathogen variation and population in soil ,(pp.123-132).In:E.C. Tjamos et.C.H.beckman(Eds.)*Vascular wilt diseases of plants* .NATO ASI Series H;cell biology,Vol.28.NewYork,NY:Springer-Verlag

Boisson C. 1988. Intéret des variants hyalins du *Verticillium dahliae* pour la selection des veriétés de tomates résistantes à la verticilliose. 2ème conférence internationale sur les maladies des plantes. Bordeaux Novembre : 1-8.

Bonjar G.H.S., Aghighi S. 2005. Chitinolytic and microsclerostatic activity of Iranian strains of streptomycetes *plicatus* and *Frankia* sp. On olive isolate of *Verticillium dahliae*. *Biotechnology*, 4:108–113.

Boukenadel F. 2001. Contribution à l'étude de *Verticillium dahliae* Kleb., agent de la verticilliose de l'olivier. Mém. Magister, Univ. Tlemcen (Algérie), 103p

Boukenadel F. 2001. Contribution à l'étude de *Verticillium dahliae* Kleb, agent de la Verticilliose de l'olivier. Mém. Magister, Univ. Tlemcen (Algérie), 103p.

Boukenadel F., 2002. Contribution à l'étude de *Verticillium dahlia* agent de la verticilliose de l'olivier. Mémoire de Magister, Univ. Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie, 103p

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. Mém. Magister, Univ. Oran (Algérie), 90p.

Bubici G., Cirulli M., 2011. Verticillium wilt of olives. In Schena L, Agosteo GE, Cacciola SO (eds) Olive diseases and disorders. Research Signpost, Kerala, (India), ISBN: 1-14.

o C

C.O.I ; 2003 : Statistique pour les olives de table et l'huile d'olive

Calado. F et Fausto. J, 1987 – l'olivier, Vol I, 1er Edit. Milan, 120 p.

Carlier J., D.De Waele et J. V. Escalant. 2003. Evaluation globale de la résistance des bananiers à la fusariose, aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaella* spp. Et aux nématodes. Evaluation de la performance (A. Vézina. Et C.Picq, eds). Guides techniques INIBAP7. Réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain, Montpellier, France. P57.

Carlos Tió et al., 1997. Chapitre 10: Aspects économiques et politique commerciale, in Encyclopédie Mondiale de l'olivier. Ed. Conseil Oléicole international. Espagne 479 p.

Chawla S., Woodward JE., Wheeler T.A, 2012. Influence of *Verticillium dahliae* Infested Peanut Residue on Wilt Development in Subsequent Cotton. International Journal of Agronomy, Volume 2012, 212075, 5 pages. Chromatography A., **1027** : 121-126.

Cherrab M., Zaouid D., Bennani A., Serrhini M.N. 2002. Étude du pouvoir pathogène des isolats de *Verticillium dahliae* Kleb. issus de l'olivier (picholine marocaine) au Maroc, Actes. Inst. Agron.Vet., 22 : (1) 31- 37.

Civantos L. 1999. Contrôle des parasites et des maladies de l'olivier. COI (Ed.), Madrid, Espagne, pp. 111-144.

Civantos L. 1999. Contrôle des parasites et des maladies de l'olivier. (eds.). Conseil Oleicole International, Madrid, (Espagne). 207p.

Clara M.I., Rei F.T., Félix M.R., Leitao F.A., Serrano J.F., Potes M.F., 1997. Les virus qui affectent *Olea europea* L. et les techniques de diagnostic. *Olivæ*, 66: 56-60.

Colella C., Miacola C., Amenduni M., D'Amico M., Bubici G., Cirulli M., 2008. Sources of verticillium wilt resistance in wild olive germplasm from the Mediterranean region. *Plant Pathol.*, 57: 533-539.

Cresti M., Linskens H. F., Mulcahy D. L., Bush S., Di Stilio V., Xu M.Y., Vignani R., Cimato A., 1996. Preliminary communication about the identification of DNA in leaves and olive oil of *Olea europaea*. *Adv. Hort. Sci.*, 10: 105-107

○ **D**

Daayf F. 1993. La verticilliose du cotonnier, pouvoir pathogene et diversité génétique de *Verticillium dahliae*. Réaction de la plante à l'infection. Doct. D'Etat Univ. Montpellier II, (France), 202 p..

Diaz A., Rallo P., De la Rosa R., 2006. Self- and cross-incompatibility mechanism: a strategy to ensure high variability in olive populations. *Olea*, 25: 29-35.

○ **.E**

Elgersmad M. 1980. Accumulation of rishitin in susceptible and resistant tomato plants after inoculation with *Verticillium albo-atrum*. *Physiol. Plant Pathol.* 16 : 149-153

○ **F**

Fabbri A., Benelli C., 2000. Flower bud induction and differentiation in olive. *J. Hort. Sci. Biotech.*, 75: 131-141.

Fradin E.F., Thomma B.P.H.J.2006. Physiology and molecular aspects of *Verticillium wilt* diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Mol. Plant. Pathol.*, 7: 71-86.

Fravel D.R., Larkin R.P., 2000. Effect of sublethal stresses on microsclerotia of *Verticillium dahliae*, In: Tjamos, E.C., Rowe, R.C., Heale, J.B., Fravel, D.R.(eds), *Advances in Verticillium Research and Disease Management*. American Phytopathological Society (APS) Press, St. Paul, MN, USA. 301-306.

○ **H**

Garber R.H., Houston B., 1966. Penetration and development of *Verticillium albo-atrum* in cotton plants. *J. Phytopathol.*, 56 : 1121-1126.

Girona J, Luna M, Arbone's A, Mata M, Rufat J, Marsal J (2001) Respuesta de olivos jóvenes (*Olea europaea*, cv. 'Arbequina') adiferentes cantidades de agua de riego. Determinación de las funciones de producción. *Fruticultura Prof* 120:29–34

Giuseppe Fontanazza et al.,1997. Chapitre 03 : Aspects Génétiques et techniques de la propagation pour une plantation intensive *in* Encyclopédie Mondiale de l'olivier. Ed. Conseil Oléicole international. Espagne 479 p.

Glazener J.A. 1982. Accumulation of phenolic compounds in cells and formation of lignin-like polymers in cell walls of young tomato fruits after inoculation with *Botrytis cinerea*. *Physiol. Plant Pathol.* 20 : 11-25.

Guechi A., Girre L. 2002. Recherche et analyse d'un effet mutagène des extraits de feuilles d'olivier parasitées par le champignon *Cycloconium oleaginum* Cast. *Sciences et Technologie*, Algerie, 18 :96-100.

Hammerschlag G., Macem E. 1975. Antifungal activity of extracts from *Fusarium wilt-*

susceptible and resistant tomato plants. *Phytopathology*, 65 : 93-94.

Hanounik, S.B et Maliha, M., 1984. Pathogenic and cultural variability in *Botrytis fabae*.

Fabis-Newletter, 30:21-24p.

Hanson L.E. 2000. Reduction of *Verticillium* wilt symptoms in cotton following seed treatment with *Trichoderma virens*. *J. Cotton. Sci.*, 4 : 224-231.

Harir M. 2010. Effet antagonistes entre les souches d'Actinomycetes et le *Verticillium dahliae* Kleb., agent de la verticilliose de l'olivier. *Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie)*. 77p.

Harrington M. A., Dobinson K. F., 2000. Influences of cropping practices on *Verticillium dahliae* populations in commercial processing tomato fields in Ontario. *Phytopathology*, 90: 1011-1017.

Hartmann H., Schnathorst W.C., Whisler J. 1971. Oblonga, a clonal olive rootstock resistant to *Verticillium* wilt. *Calif. Agr.* 25 : 12-25.

Heffer, V. and R. Regan. 1995. *Verticillium* wilt of ash. *The Digger*. June: 48-49

Henni J.E. 1982. Contribution à la lutte contre le Verticilliose : facteurs physico-chimiques et biologiques inhibant la germination des microsclerotes de *Verticillium dahliae* Klebahn. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Paris (France). 150pp.

Hiemsta J. A. 1998. Some generale features of *verticillium wilt* in Trees. In: A ompendium of verticillium wilt in trees species. Ed. CPRO-DLO/HRI. Ponsen andlooijen, Wageningen/West-Malling. The Natherlands, pp.8-11.

Hiemstra JA, Harris DC (eds) (1998) A compendium of *Verticillium* wilts in tree species. Ponsen & Looijen, Wageningen

Himour S., 2006. Etude comparée de régénération de plants par voie végétative en culture in vitro. Mémoire de Magister en en biologie et physiologie végétale, Univ. Mentouri, Constantine, 92p.

○ **J**

Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi M., Ayed F., Jebari H., El- Mahjoub M., 2007. Incidence of *Verticillium* wilt of melon in Tunisia. *Afr. J. Plant Sci. Biotechnol.*, 56: 726-726

Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi M., El Mahjoub M. 2005. Emergence en tunisie de nouveau pathotypes de *Verticillium tricorpus* pouvant attaquer la tomate, l'aubergine et la pomme de terre. *EPPO/OEPP Bulletin*, vol. 35, Number, 3 (7):497-503.

Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi M., Father ayed, Hibar K., El Mahjoub M. 2006. Pathogenecity of tunisian isolates of three *Verticillium* species on Tomato and Aggplant. *Plan. Pathol. Journal* 5(2): 199-207

Jean –louis 2013 .quelles pistes pour éradiques xylella fastidiosa ?.article agriculture et environnement Italie

Julien J., 2005.Verticilliose des arbres ; la mort par apoplexis.PHM-Revu. Horticol. 474/44-47.

○ **K**

Kaiser S.A.K.M. 1972. Physical factors that influence the growth and spread of charcoal rot pathogen (*Macrophomina phaseolina*) infecting maize. J. phytopathol., 123: 47-51.

Kapulnik Y., Tsrer L., Zipori I., Hazanovsky M., Wininger S., Dag A. 2010. Effect of MF application on growth, productivity and susceptibility to Verticillium wilt of olives grown under desert conditions. Symbiosis, 52:103-111.

Karajeh M., Al-Raddad A. 1999. Effect of VA mycorrhizal fungus (*Glomus mosseae* Gerd & Trappe) on Verticillium dahliae Kleb. of olive. Dirasat. Agric. Sci., 26: 338–341

Katan J. 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests. Annu. Rev. Phytopathol., 19: 211-236.

Keen N.I. Long M., Erwin D.C. 1972. Possible involvement of apathogen-production protein. Leptopolysaccharide complex in Verticillium wilt of cotton. Physiol. Plant. Pathol., 23 : 317-331.

Klosterman S.J., Atallah Zk., Vallad G.E., Subbarao K.V. 2009. Diversity, pathogenicity and management of Verticillium species. Annu. Rev. Phytopathol., 47: 39-62.

Kumar R., Tapwal A., Kumar Borah R. 2012. Verticillium Wilt infecting Parkia roxburghi seedling in manipur india. Academic Journal Inc., 1-6.

Kyriakopoulos P., 1993. Olive sickle leaf symptoms widespread in Greece. Bull. OEPP/EPPO Bull., 23: 499-500.

○ **L**

Lahlou H., Boisson C. 1984. Variabilité intraclonale du pouvoir pathogène du Verticillium albo- atrum R. et B. forme à microsclérotos, vis-à-vis de la Tomate. In : Les Colloques de l'INRA, 26 : 70-78.

Loubelo A.C. 1992. Contribution à l'étude de la pourriture noir des racines de pois chiche causée par fusarium solani (mart) apple UJR caractérisation et pathogénicité thèse ing. Agr Chelef 97p

Lang J., Hu J., Ran W., Xu Y., Shen Q. 2012. Control of cotton *Verticillium wilt* and fungal diversity of rhizosphere soils by bio-organic fertilizer. Boil., Fertil., Soil., 48: 191-203.

Langcak e P., Drysdale R.B., Smith H. 1972. Postinfectional production of an inhibitor of Fusarium oxysporum fsp. Lycopersici by tomato plants. Physiol. Plant Pathol. 2 : 17-25.

- Laouane H., Lazrek H.B., Sedra M.H. 2011.** Synthesis and toxicity evaluation of cinnamyl acetate: a new phytotoxin produced by a strain of *Verticillium dahliae* 252 pathogenic on olive tree. Intl. J. Agr. Boil., 13: 444-446.
- Lavee S., Tanne E., 1984.** Sphaerosis a virus disease of the olive (*Olea europaea*) 1. Symptoms, growth, tree development and production. Olea, 16: 71-75.
- Leva A., Petruccelli R., Montagni G., Muleo R., 2002.** Field performance of micropropagated olive plants (cv. Maurino): morphological and molecular features. Acta. Hort., 586: 891-893.
- Liu S.P., Zhu Y.P., Xie C., Jue D.W., Hong Y. B., Chen M.A.K., Hubder Q., 2012.** Yang Transgenic Potato Plants Expressing StoVel Exhibit Enhanced Resistance to *Verticillium dahliae*. Plant. Mol. Biol. Rep., 1-8.
- Lola J., Mehna AM., Abou Chaar M., Selti MN., Adama F. 2011.** Diversité génétique de *Verticillium dahliae* Kleb ; Agent causal de la verticilliose du coton en syrie. Arab J. Pl. Prot. Vol. 29, No. 1.8 pages.
- López-Escudero F. J., Blanco-López M. A., 2001.** Effect of a single or double soil solarization to control *Verticillium* wilt in established olive orchards in Spain. Plant Dis., 85: 489-496.
- Lopez-Escudero F.J., Marcado-Blanco J. 2010.** *Verticillium* wilt of olive : a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. Plant, Soil., 1-50.
- Loumou A, Giourga C. (2003)** Olive groves: “The life and the identity of the Mediterranean”. Agriculture and Human Values; 20:87-95
- Loussert R. Et Brousse C., 1978.** L’olivier, Techniques culturales et productions méditerranéennes, Edit, C.P, Maisonneuve et Larousse, Paris, 437p.
- Lumaret R., Ouazzani N., Michuad H., Vivier G., Deguilloux M. F., Di Giusto F., 2004.** Allozyme variation of oleaster populations (wild olive tree) (*Olea europaea* L. in the Mediterranean basin. Heredity, 92:343-351.

○ M

- Maillard R., 1975 –** L’olivier, Edit, INVUFLEC, Paris, 147p.
- Malik S., 2008.** Contribution à l’étude du pouvoir pathogène de *Verticillium dahliae* (Kleb) agent de la verticilliose. Mémoire de Magister en Phytopathologie., C. Univ. Mustapha Stambouli, Mascara, Algérie, 88p
- Markakis E. A., Tjamos S. E., Antoniou P. P., Paplomatas E. J., Tjamos E. C., 2009.** Symptom development, pathogen isolation and Real-Time QPCR quantification as factors for evaluating the resistance of olive cultivars to *Verticillium* pathotypes. Eur. J. Plant Pathol., 124: 603-611.

Martin-Lapierre A., 2011. Application de composts et de fumigants pour lutte contre la Verticilliose (*Verticillium dahliae*) du fraisier. Thèse. Doc. D'Etat. Univ. Laval (Canada). 108p.

Matallah-Boutiba A., 1998. La verticilliose de l'olivier: Approches cyto-histologique et ultrastructurale des interactions Olivier-*Verticillium dahliae* Kleb. Thèse de magister, Univ. Oran, Algérie, 105 p.

Matta A., Gentile I., Gai I. 1969. Accumulation of phenols in tomato plants infected by different forms of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 59 : 512-513.

Medda A., 2010. Les mycorhizes de l'olivier (*Olea europaea* L.) Aspect écologiques, effet sur la croissance et exploitation en pépinière. Thèse Doct. en biologie végétale. Univ Badji Mokhtar, Annaba, 116p. *Mediterranean J. Agriculture and Human Values*; 20:87-95. méditerranéenne. Ed.G.P. Maisonneuve et Larose. 437p.

Mendil M. et Sebai A., 2006. L'olivier en Algérie. ITAF, Alger, Algérie, 99 p.

Mercado-Blanco J., Rodriguez-Jurado D., Hervas A., Jimenez-Diaz R.M. 2004. Suppression of *Verticillium wilt* in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control*. 30: 474-486.

Mercado-Blanco J., Rodríguez-Jurado D., Pérez-Artés E., Jiménez- Díaz R. M., 2001. Detection of the nondefoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by nested PCR. *Plant Pathol.*, 50: 609-619.;

Mercado-Blanco J., Rodríguez-Jurado D., Pérez-Artés E., Jiménez- Díaz R. M., 2001. Detection of the nondefoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by nested PCR. *Plant Pathol.*, 50: 609-619.

Metoui O., Zarrouk M., 2006. Caractérisation morphologique et culturale des champignons *Verticillium dahliae* responsable du dépérissement de l'olivier en Tunisie. Actes du séminaire international « les plantes à parfum, Aromatique et Médicinales » SIPAM

Moreaux S. (1997) L'Olivier. Actes Sud. France.

○ N

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. Marcel Dekker, New York, 293-355.

○ **P**

Pagnol, J. 1975 .L'olivier .Ed. Aubanal, France, 95p.

Pegg G.F. 1965. Phytotoxin production by *Verticillium abo-atrum*. Reinke et Berthold. Nature, London, 208 : 1228-1237.

Pegg G.F., Brady B.L. 2002. *Verticillium wilts*. (Éditeur : CAB International). CABI Publishing, Wallingford, UK. 552p.

Porras-Soriano A., Marcilla-Goldaracena I., Soriano-Martin M.L., Porras-Piedra A. 2006. Development and resistance to *Verticillium dahliae* of olive plantlets inoculated with mycorrhizal fungi during the nursery period. J. Agric. Sci., 144:151–157.

○ **R**

Rallo ,P.,G.Dorado,and,A,Martin.Development of simple sequence repeats(SSR)in olive tree(*Olea europaea*.L).These.appl.Genet.(In press)

Rappily F. 1969. Techniques de mycologie en pathologie végétales. Ann epiphyties ; 102p.

Ravisé A ., Tanguy1 J. 1971. Relations entre les constituants phénoliques de divers *Lycopersicum* Mill. et leur résistance à plusieurs espèces de *Phytophthora* de Bary. C. R. Seances Acad. Sci., Ser. D, 272 :1252-1255.

Rossini G., 1999.Mémoire de l'olivier, ed Equinoxe.

Rotondi A., Magli M., Ricciolini C., Baldoni L., 2003. Morphological and molecular analyses for the characterization of a group of Italian olive cultivars. Euphytica, 132: 129-137.

Ruggieri G. ,1946 Una nouva malatia dell olivo .L'Italia Agricola, 83 :369-372.

Rugini E., Guti´errez-Resce P., Muleo R., 2006. Overview in the olive biotechnologies. Proc. 2ndInt. Seminar Olivebioteq 2006, Special Seminars and Invited Lectures. Marsala - Mazara del Vallo,Italy, pp. 317-329.

Rugini E., Gutierrez-Pesce P., Spampanato P. L., Ciarmiello A., D'Ambrosio C., 1999. Newperspective for biotechnologies in olive breeding: morphogenesis, in vitro selection and genetransformation. Acta. Hort., 474: 107-110.

○ **S**

Saad D., 2009. Etude des endomycorhizes de la variété Sigoise d'olivier (*Olea europa* L.) et essai de leur application à des boutures semi-ligneuses multipliées sous nébulisation. Mémoire deMagister, Univ. d'Oran, Es -Sénia, 124p.

Sanei S.J., Razavi SE., Okhovvat S.M., Pahlavani M.H. 2010. *Verticillium wilt* Peik-e-Reihan publication, Gorgan, 652p

- Saremi H., Amiri M.E., Mirabolfathi M. 2010.** Application of soil solarization for controlling soilborne fungal pathogens in newly established pistachio and olive orchards, *Int. J. Fruit. Sci.*, 10: 143-156.
- Savino V., Gallitelli D., 1983.** Isolation of cucumber mosaic virus from olive in Italy. *Phytopathol. Mediterr.*, 22: 76-77.
- Schnatborst W.C., Mathre D.E. 1966.** Host range and differentiation of a severe form of *Verticillium albo-atrum* in cotton. *Phytopathology*, 56: 1155-1161.
- Schnatborst W.C., Mathre D.E. 1966.** Host range and differentiation of a severe form of *Verticillium albo-atrum* in cotton. *Phytopathology*, 56: 1155-1161.
- Sedra H. 2002.** La verticilliose de l'olivier dans la région du haouz au maroc : répartition, importance et premiers résultats de recherche. Séminaire internationale sur l'olivier, acquis de recherche et contraintes du secteur oléicole. 14 au 16 mars, Marrakech (Maroc), 280-293.
- Stevens R.M., Douglas T. 1994.** Distribution of grapevine roods and salt under drip and full ground cover microjet irrigation systems, *Irrigation Sci.*, 15: 147-152.
- Terral J. F., Arnold-Simard G., 1996.** Beginnings of olive cultivation in eastern Spain in relation to Holocene bioclimatic changes. *Quaternary Res.*, 46:176–85.
- Tjamos E.C. 1984.** Race 2 and defoliating strain of *Verticillium dahliae* in Greece and other mediterranean countries. *Phytopathol. Mediterr.*, 23: 216.
- Tjamos E.C., Smith I.M. 1975.** The expression of resistance to *Verticillium albo-atrum* in monogenically resistant tomato varieties. *Physiol. Plant Pathol.* 6 : 215-225.
- Tjamos EC, Biris DA, Paplomatas EJ (1991)** Recovery of olive trees from *Verticillium* wilt after individual application of soil solarisation in established olive orchards. *Plant Dis* 75:557–562
- Tombesi A., Tombesi S., Saavedra M.S., Fernandez-Escobar R., d'Andria R., Lavini A., Jardak T. 2007.** (Eds). Conseil Oléicole Internationale. Technique de production en oléiculture. Madrid (Espagne). ISBN. 1ère édition, 348p..
- Triki M.A., Hassairi A., Mahjoub M. 2006.** Premières observations de *Verticillium dahliae* sur olivier en Tunisie. *Bull EPPO Bull.*, 36 (1): 69-71
- Turan D., Kocahakimoglu C., Kavcar P., Gaygisiz H., Atatanir L., Turgut C., Sofuoglu S. C.,2011.** The use of olive tree (*Olea europaea* L.) leaves as a bioindicator for environmental pollution in the Province of Aydın, Turkey. *Environ. Sci .Pollut. Res.*, 18:355-364

○ V

Vallad G.E., Subbarao K.V. 2008. Colonization of resistant and susceptible lettuce cultivars by a green fluorescent protein-tagged isolate of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 98: 871-885.

Vallad G.E., Subbarao K.V. 2008. Colonization of resistant and susceptible lettuce cultivars by a green fluorescent protein-tagged isolate of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*. 98: 871-885.

○ W

Wilhelm S. 1951. Effect of various soil amendment on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungi. *Phytopathology*, 41: 684-690.

Wilhelm S. 1981. Sources and genetics of host resistance in field and fruits crops. In fungal wilt diseases of plants. Mace ME, Belle AA, Beckman CH (eds.). Academic Press, New York, USA, 300-369.

Wilhelm S., 1955. Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology*, 45: 180-181.

○ Y

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.

Site internet :

<http://www.ecoplantgalati.ro/ocart/seminte-tomate-baghera>,
<https://www.marcoser.ro/produse/seminte-de-legume/tomate/tomate-de-camp/bobcat-f1.html>,
<http://www.agrifarmbh.ro/seminte-profesionale-de-legume/seminte-de-tomate/seminte-tomate-cherry/tiger-f1-detail>.

Annexe 01 :

Milieu des culturaux

Milieu PDA

Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Agar-agar	20g

Milieu V8 (Carlier J. et *al.*, 2003)

Jus v8	100 ml
Agar-agar	20g
CaCO ₃	0.2g/l
Eau déminéralisé	900 ml
pH 6	

Milieu Petit pois

Petite pois congelés	150g
Glucose	5g
Agar-agar	20g
Eau distillé	1000 ml

Annexe 02

Tableau 05: Quantité d'Hcl et de NaOH nécessaire pour obtenir la gamme de pH allant de 4,5 à 6,5 (Solomen (1951) in Loubelo (1992)).

Valeur du pH	Hcl (4N) ml	NaOH (4 N) ml
4,5	2	0
5,5	0,6	0
6.5	0	3

Annexe 03

Tableau 05: Analyse de variance de la taille des conidies

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	544.651	999	0.545				
VAR.FACTEUR 1	3.587	4	0.897	5.882	0.00014		
VAR.FACTEUR 2	388.877	1	388.877	2550.735	0		
VAR.INTER F1*2	1.254	4	0.314	2.057	0.08332		
VAR.RESIDUELLE 1	150.932	990	0.152			0.39	21.76%

Tableau 06 : Résultat de test de newman et keuls (5%) pour la taille des conidies

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	1.87	A	
3.0		1.84	A	
5.0		1.795	A	
4.0		1.774	A	
2.0		1.696		B

Facteur 1=isolats, facteur 2=dimension de conidies.

Tableau 07: Analyse de variance du test de milieu (croissance mycélienne)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	124.337	104	1.196				
VAR.FACTEUR 1	0.156	4	0.039	1.928	0.11991		
VAR.FACTEUR 2	21.682	2	10.841	535.629	0		
VAR.FACTEUR 3	87.865	6	14.644	723.533	0		
VAR.INTER F1*2	0.85	8	0.106	5.25	0.0001		
VAR.INTER F1*3	0.274	24	0.011	0.565	0.93412		
VAR.INTER F2*3	12.538	12	1.045	51.623	0		
VAR.RESIDUELLE 1	0.972	48	0.02			0.142	10.62%

Tableau 08 : Résultats de test Neman-kauls (5%) pour test milieu (croissance mycélienne)

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F2n1	1,689	A	
2.0		1,632	A	
3.0		0,698		B

Tableau09 : Analyse de variance du test de milieu (sporulation)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	82.126	14	5.866				
VAR.FACTEUR 1	18.392	4	4.598	6.452	0.01317		
VAR.FACTEUR 2	58.033	2	29.017	40.719	0.00011		
VAR.RESIDUELLE 1	5.701	8	0.713			0.844	14.57%

Tableau 10 : Résultat de test de newman et keuls (5%) pour la sporulation de test de milieu (facteur 1)

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F1n1	7,71	A	
2.0		6,253	A	B
4.0		5,383		B
3.0		5,07		B
5.0		4,547		B

Tableau 11: Résultat de test de newman et keuls (5%) pour la sporulation de test de milieu (facteur 2)

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
1.0	F2n1	8.484	A	
2.0		5.056		B
3.0		3.838		B

Facteur 1=isolats, facteur 2=milieus de culture, facteur 3= notation.

Tableau12: Analyse de variance du test de température (croissance mycélienne)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	180.744	139	1.3				
VAR.FACTEUR 1	0.674	4	0.169	10.895	0		
VAR.FACTEUR 2	3.353	3	1.118	72.245	0		
VAR.FACTEUR 3	164.567	6	27.428	1773.052	0		
VAR.INTER F1*2	2.271	12	0.189	12.234	0		
VAR.INTER F1*3	0.533	24	0.022	1.436	0.12167		
VAR.INTER F2*3	8.233	18	0.457	29.567	0		
VAR.RESIDUELLE 1	1.114	72	0.015			0.124	7.62%

Tableau13 : Résultat de test de newman et keuls (5%) pour l'effet de température sur croissance mycélienne (facteur 1)

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
4.0		1.75	A		
3.0		1.65		B	
1.0	F1n1	1.641		B	
2.0		1.571		B	C
5.0		1.554			C

Tableau14: Résultat de test de newman et keuls (5%) pour l'effet de température sur croissance mycélienne (facteur 2)

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES			
3.0		1,849	A			
2.0		1,681		B		
1.0	F2n1	1,58			C	
4.0		1,423				D

Tableau15 : Analyse de variance de la sporulation de test de température

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	177.895	39	4.561				
VAR.FACTEUR 1	26.062	4	6.516	2.905	0.06771		
VAR.FACTEUR 2	17.742	1	17.742	7.909	0.01517		
VAR.FACTEUR 3	58.627	3	19.542	8.712	0.00255		
VAR.INTER F1*2	6.123	4	1.531	0.682	0.6194		
VAR.INTER F1*3	22.978	12	1.915	0.854	0.60599		
VAR.INTER F2*3	19.446	3	6.482	2.89	0.07887		
VAR.RESIDUELLE 1	26.918	12	2.243			1.498	31.61%

Tableau 16 :Résultat de test de newman et keuls (5%) pour l'effet de température sur sporulation (facteur 1)

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
4.0		1,75	A		
3.0		1,65		B	
1.0	F1n1	1,641		B	
2.0		1,571		B	C
5.0		1,554			C

Tableau17: Résultat de test de newman et keuls (5%) pour l'effet de température sur sporulation (facteur 2)

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
2.0		6.77	A	
3.0		4.493		B
1.0	F3n1	4.035		B
4.0		3.652		B

Facteur 1=isolats, facteur 2=température, facteur 3= notation.

Tableau18 : Analyse de variance du test pH (croissance mycélienne)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	113.397	104	1.09				
VAR.FACTEUR 1	1.768	4	0.442	15.746	0		
VAR.FACTEUR 2	34.297	2	17.149	610.951	0		
VAR.FACTEUR 3	63.954	6	10.659	379.746	0		
VAR.INTER F1*2	2.905	8	0.363	12.938	0		
VAR.INTER F1*3	0.544	24	0.023	0.808	0.70967		
VAR.INTER F2*3	8.581	12	0.715	25.475	0		
VAR.RESIDUELLE1	1.347	48	0.028			0.168	13.98%

Tableau19: Résultat de test de Newman et keuls (5%) pour la croissance mycélienne du test pH (facteur 1)

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
3.0		1.335	A		
4.0		1.301	A		
5.0		1.244	A		
2.0		1.137		B	
1.0	F1n1	0.977			C

Tableau20 : Résultat de test de Newman et keuls (5%) pour la croissance mycélienne du test pH (facteur 2)

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
3.0		1,716	A		
2.0		1,504		B	
1.0	F2n1	0,513			C

Tableau21 : Résultat de test de newman et keuls (5%) pour le test pH (sporulation)

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	116,374	14	8,312				
VAR.FACTEUR 1	7,292	4	1,823	1,883	0,20663		
VAR.FACTEUR 2	101,335	2	50,668	52,322	0,00005		
VAR.RESIDUELLE 1	7,747	8	0,968			0,984	17,25%

Tableau22 : Résultat de test de Newman et keuls (5%) pour l'effet pH sur sporulation (facteur 2)

F2	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
3.0		9,16	A		
2.0		5,068		B	
1.0	F2n1	2,89			C

Facteur 1=isolats, facteur 2=pH, facteur 3= notation.

Tableau 23 : Analyse de variance des I.A.F

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	1127.421	53	21.272				
VAR.FACTEUR 1	14.687	2	7.343	17.698	0.00005		
VAR.FACTEUR 2	1012.608	5	202.522	488.087	0		
VAR.FACTEUR 3	55.564	2	27.782	66.956	0		
VAR.INTER F1*2	22.191	10	2.219	5.348	0.00076		
VAR.INTER F1*3	8.373	4	2.093	5.045	0.0057		
VAR.INTER F2*3	5.699	10	0.57	1.374	0.26087		
VAR.RESIDUELLE 1	8.299	20	0.415			0.644	9.90%

Tableau 24 : Résultat de test de newman et keuls (5%) pour les I.A.F (facteur 1)

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
3.0		6.954	A	
1.0	F1n1	6.791	A	
2.0		5.775		B

Tableau 25 : Résultat de test de newman et keuls (5%) pour les I.A.F (facteur 3)

F3	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES		
2.0		7,914	A		
3.0		6,041		B	
1.0	F3n1	5,564			C

Facteur 1=variété, facteur 2 =notation, facteur 3=. isolats

INTRODUCTION

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

MATERIELS
ET
METHODES

RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

CONCLUSION

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES