

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE MOLECULAIRE PROTEOMICS ET SANTE

THESE Présentée par

Mr. BOUTKHIL Samir

EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Moléculaire et Protéomies

Thème :

Isolement, identification et caractérisation physiologique et pathogène de quelques pathogènes de l'olivier (*Olea europaea* L.)

Soutenu le 13 / 11 / 2017 devant les membres de jury

Président:

Mr. BENALI Mohamed (Professeur, Université de Sidi Bel Abbès).

Examineurs:

Mr. BELABID Lakhdar (Professeur, Université de Mascara).

Mr. MEDDAH Boumediène (Professeur, Université de Mascara).

Directeur de thèse:

Mr. ABOUNI Bouziane (Professeur, Université de Sidi Bel Abbès).

Année universitaire 2016 / 2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

﴿٢٦﴾ اللَّهُ نُورُ السَّمَوَاتِ

وَالْأَرْضِ مِثْلُ نُورِهِ، كَيْسَكَوَةٌ فِيهَا مِصْبَاحُ الْمِصْبَاحِ فِي زُجَاجَةٍ
الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبْرَكَةٍ زَيْتُونَةٍ
لَا شَرْقِيَّةٍ وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ
نُورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ مَن يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَلَ
لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٧﴾

Remerciements

Au terme de ce parcours doctoral, je rends grâce à l'Éternel Dieu qui m'a donné la force de transcender tous les moments d'épreuve et de dur labeur. L'aboutissement de ce parcours est sans nul doute une œuvre de plusieurs bâtisseurs.

Qu'il me soit permis tout d'abord de remercier très vivement **Mr. Abbouni Bouziane** (Professeur, Université de Sidi Bel Abbès) responsable du laboratoire et promoteur de ce travail, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire de recherche, pour avoir accepté de diriger avec beaucoup d'attention ce travail, pour m'avoir guidé, conseillé et orienté avec beaucoup de pertinence, chaque fois que cela était nécessaire et pour les heures passées à lire et relire ce manuscrit. Je le remercie également de m'avoir fait bénéficier de ses connaissances et conseils en microbiologie. Merci pour l'opportunité que vous m'avez donnée, pour l'exemple que vous êtes et pour l'espoir que vous portez.

Je tiens également à remercier vivement les membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail:

Mr. BENALI Mohamed (Professeur, Université de Sidi Bel Abbès) pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de contribuer et présider le jury, j'éprouve un grand respect pour son travail, son parcours, ainsi que pour ses grandes qualités humaines.

Mr. BELABID Lakhdar (Professeur, Université de Mascara) pour l'honneur qu'il m'a fait pour sa participation à mon jury en qualité d'examineur. Je lui suis très reconnaissant pour la rapidité avec laquelle il a lu mon manuscrit, malgré un emploi du temps sans doute chargé. Vos commentaires et vos critiques constructifs en tant que phytopathologiste me seront précieuses lors de la soutenance.

Mr. MEDDAH Boumediène (Professeur, Université de Mascara) d'avoir bien voulu juger ce travail en tant qu'examineur. Je lui suis très reconnaissant pour le temps consacré à la lecture de manuscrit. Vos remarques judicieuses et vos suggestions intéressantes me feront qu'embellir le déroulement de la soutenance.

Hommage respectueux à notre équipe de laboratoire pour l'ambiance et l'enthousiasme inoubliables, à notre département de biologie pour son pilotage administratif tout le long de ce travail, ainsi qu'aux différents acteurs de l'Université de Sidi Bel Abbes qui m'ont gratifié d'un diplôme de doctorat en Biologie.

Dédicace

*« Soyons reconnaissants aux
personnes qui nous donnent du bonheur;
elles sont les charmants jardiniers par qui
nos âmes sont fleuries »*

Marcel Proust

*Aux deux êtres les plus chers de ma
vie, qui ont su m'apporter amour,
tendresse et qui m'ont inculqué la
droiture, la persévérance, le sérieux,
l'honnêteté, à vous courageux **Père** et à
vous tendre **Mère**.*

*À mon **épouse** qui a su éclairer mon
chemin et qui m'a encouragé et soutenu
tout au long de ce parcours doctoral.*

*À tous ceux que je ne nomme pas, mais
qui se reconnaîtront.*

BOUTKHIL Samir

Résumé

Résumé

Les maladies de l'olivier entraînent des chutes de rendement considérable et représentent une grave menace pour l'agriculture algérienne. La présente étude porte sur quelques maladies d'origine bactérienne et fongique de l'olivier dans la région Nord-Ouest d'Algérie. Les prospections effectuées dans plusieurs oliveraies (Mascara, Sidi Bel Abbes, Oran), durant la campagne agricole 2010-2011 ont permis le recensement de quelques maladies. Les investigations au champ et au laboratoire dans des cas de verticilliose et de pourriture racinaire ont permis l'isolement, l'identification de trois espèces fongiques phytopathogènes, *Verticillium dahliae* (20 isolats), *Rhizoctonia bataticola* (01 isolat), *Stemphylium botryosum* (01 isolat). L'étude de certains paramètres physiologiques impliqués dans la croissance des champignons a montré une excellente croissance mycélienne de *V. dahliae* (Vdm9) sur le milieu de culture V8 agar, à des valeurs de pH comprises entre $5 < \text{pH} < 8$ à une température de 25°C. Par ailleurs, les isolats *R. bataticola* (Rbo), *S. botryosum* (Sbo) ont révélé une meilleure croissance sur les milieux de culture MEA, PDA, à des températures de 25°C, 30°C et à des valeurs de pH comprises entre $5 < \text{pH} < 8$ respectivement. En outre, l'étude de l'effet de la lumière sur la croissance des trois espèces fongiques n'a révélé aucune influence. Mais, l'utilisation d'une alternance de lumière 12h lumière / 12h obscurité a induit un changement considérable de l'aspect cultural. L'exploration du pouvoir pathogène de six isolats de *V. dahliae*, lors de l'inoculation artificielle de plants de tomate cv. Saint Pierre a permis l'évaluation des indices d'altération foliaire (I.A.F), de rabougrissement (I.R). Les symptômes d'infections de la verticilliose observés tels que le rabougrissement, la flétrissure du feuillage, le jaunissement et la chute des feuilles ont montré l'importance du pouvoir pathogène des isolats fongiques isolés de l'oliveraie de Sidi Bel Abbès par rapport à ceux de Mascara. Les tests de lutte chimique utilisant des fongicides sur la croissance mycélienne de quelques isolats de *V. dahliae* ont démontré *in vitro* une importante activité fongitoxique de Pelt 44 comparativement au Ridomil Gold et Ortiva.

Mots clés: Olivier, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia bataticola*, *Stemphylium botryosum*, physiologie, pouvoir pathogène, lutte chimique.

Abstract

Olive tree diseases cause considerable yield losses and pose a serious threat to Algerian agriculture. The present study focused on some bacterial and fungal origin diseases affecting olive trees in the North-West region of Algeria. Surveys carried out in several olive groves (Mascara, Sidi-Bel-Abbes, and Oran) during the 2010-2011 farming campaign allowed us to observe some diseases. Field and laboratory investigations of verticillium wilt and root rot allowed the isolation and the identification of three phytopathogenic fungal species: *Verticillium dahliae* (20 isolates), *Rhizoctonia bataticola* (01 isolate), *Stemphylium botryosum* (01 isolate). The study of some parameters involved in the growth of fungi showed excellent mycelial growth of *V. dahliae* (Vdm9) on the V8 agar culture medium, at pH values comprises between $5 < \text{pH} < 8$, and at 25°C. Likewise, *R. bataticola* (Rbo) and *S. botryosum* (Sbo) isolates showed better growth on MEA and PDA culture media at temperatures of 25°C and 30°C and pH values $5 < \text{pH} < 8$, respectively. Furthermore, the light had no effect on the growth of the three fungal species. However, using an alternating light (12h light / 12h darkness) induced a considerable changes in the cultural aspect. Exploration of the pathogenicity of six isolates of *V. dahliae* during the artificial inoculation of tomato plants cv. Saint Pierre allowed the evaluation of the indices of foliar alteration (I.F.A) and stunting (I.R). Observation of verticillium infections symptoms such as stunting, foliage wilt, yellowing and leaf fall showed the importance of the pathogenicity of the fungal strains isolated from the Sidi Bel Abbes olive grove comparing to those of Mascara. The chemical control tests using fungicides on the mycelia growth of some isolates of *V. dahliae* have demonstrated a more or less important cytotoxic activity of fungal strains *in vitro*. However, the best efficacy was recorded by Pelt 44 comparing to Ridomil Gold and Ortiva.

Keywords: Olive tree, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia bataticola*, *Stemphylium botryosum*, physiological, pathogenicity, chemical control.

ملخص

أمراض الزيتون تسبب خسائر كبيرة في المردود وتمثل تهديدا خطيرا للزراعة الجزائرية. في هذا السياق، ركزت الدراسة الحالية على بعض الأمراض الفطرية و البكتيرية لشجر الزيتون في منطقة شمال غرب الجزائر. الاستطلاعات في عدة بساتين الزيتون (معسكر، سيدي بلعباس، وهران)، خلال الموسم الزراعي 2010-2011 سمحت بملاحظة بعض الامراض. التحقيقات الحقلية و المخبرية في حالة مرض دبول الفرتيسيلى و تعفن الجذور سمحت بعزل و تحديد ثلاثة أنواع من الفطريات الممرضة، *Verticillium dahliae* (20 عزلة)، *bataticola Rhizoctnia* (عزلة واحدة)، *Stemphylium botryosum* (عزلة واحدة). أظهرت دراسة بعض المؤثرات الفيزيولوجية في نمو الفطريات نمو أمثل للعزلة *V. dahliae* (Vdm 9) على الوسط الغذائي V8 agar في المجال الحامضي $5 < \text{pH} < 8$ و عند درجة حرارة 25°C ، بينما، السلالات *R. bataticola* (Rbo) و *S. botryosum* (Sbo) أظهرت نمو أفضل في الاوساط الغذائية MEA، PDA عند درجات الحرارة 25°C و 30°C في المجال $5 < \text{pH} < 8$ تواليا. إضافة على ذلك، دراسة تأثير الضوء على نمو الفطريات الثلاث أظهرت انه لا يوجد أي تأثير. لكن إستخدام التناوب الضوئي: 12 ساعة ظلام / 12 ساعة ضوء، أظهر تأثيرا كبيرا على المظهر الخارجي. إختبار القدرة الممرضة لستة عزلات *V. dahliae* بالتلقيح الإصطناعي لنبات الطماطم cv. Saint Pierre سمحت بحساب مؤشرات تغيير الورقة (I.A.F) و مؤشرات التقزم (I.R). الأعراض المرضية الملاحظة للدبول الفرتيسيلى مثل التقزم، الدبول الورقي، الإصفرار و سقوط الورق أظهرت أهمية القدرة الممرضة لعزلات سيدي بلعباس مقارنة بعزلات معسكر. إختبارات المكافحة الكيميائية باستخدام مبيدات للفطريات على نمو بعض عزلات فطر *V. dahliae* أظهرت في المخبر نشاط تثبيطي مهم نسبيا. أما الفعالية الافضل فقد سجلت مع المبيد Pelt 44 مقارنة بالمبيدات Ridomil-Gold و Ortiva .

الكلمات المفتاحية: شجر الزيتون، الفطريات الممرضة، *Rhizoctonia bataticola*، *Verticillium dahliae*، *Stemphylium botryosum*، فيزيولوجيا، القدرة الممرضة، المقاومة الكيميائية.

Liste des figures

- Figure 1:** Dissémination de l'olivier cultivé de l'Est à l'Ouest de la Méditerranée (Besnard, 2009) (BP: Befor Present).
- Figure 2:** Distribution naturelle du complexe *Olea europea* dans le monde entier (Rubio de Casas *et al.*, 2006).
- Figure 3:** Localisation des cinq zones géographiques du climat méditerranéen, adapté à la culture de l'olivier (Lazzeri, 2009).
- Figure 4:** Présentation d'arbre d'olivier (A); principales parties d'un olivier (B) (Argenson, 1999).
- Figure 5:** Les principaux pays producteurs d'olive dans le monde (Sasanelli, 2009; ONFA, 2016).
- Figure 6:** Localisation des principales variétés d'olivier cultivées en Algérie (Saad, 2009).
- Figure 7:** Répartition géographique de la verticilliose de l'olivier (Tombesi *et al.*, 2007; López Escudero et Mercado-Blanco, 2010).
- Figure 8:** Distribution de la verticilliose d'olivier en Algérie (Benchaabane, 1990; Matallah-Boutiba *et al.*, 1997; Bellahcene *et al.*, 2004; Benchaabane *et al.*, 2010; INPV, 2010 et 2011).
- Figure 9:** Présentation du cycle d'infection de *V. dahliae* kleb. (Hiemstra et Harris, 1998).
- Figure 10:** Présentation du cycle d'infection de *Rhizoctonia sp* (Dhingra et Sinclair, 1977).
- Figure 11:** Présentation du cycle d'infection de quelques espèces de *Stemphylium* chez l'Alfalfa (*In* Mwakutuya, 2006).
- Figure 12:** Localisation géographique des trois Wilayas oléicoles prospectées.
- Figure 13:** Présentation de rameaux malades (A), coupés en petits fragments au niveau du xylème (B); déposés sur milieu de culture PDA (C). incubées à 25°C à l'obscurité, pendant sept jours.
- Figure 14:** Méthodes de culture de clones monospores (Rappily, 1968, Booth, 1971; Belabid, 2003).
- Figure 15:** L'inoculation de plantules de tomate cv. Saint-Pierre avec *V. dahliae* (Boukenadel, 2001; Malik, 2008; Harir, 2010, Tlemsani, 2010).
- Figure 16:** Présentation de l'oliveraie de Nesmot (A), arbres d'olivier de variété Sigoise

(B), variété Chemlal (C), atteints de la verticilliose.

Figure 17: Présentation des oliviers du verger d'El Karma (A), olivier de variété introduite (B), atteint de pourriture racinaire aux branches et rameaux défoliés (C), et de nouvelle pousse desséchée (D).

Figure 18: Présentation d'un olivier de variété introduite atteint de la fumagine (A); feuilles recouvertes d'un poudre noire (flèche en B et C); branches au feutrage noir (flèche en D).

Figure 19: Présentation de l'olivieraie d'El Kerma (A); un olivier de variété Sigoise atteint de la tavelure (flèche en B), taches rondes sur les feuilles (flèche en C), chute des feuilles atteintes (flèche en D); diamètre et distribution des taches sur les feuilles (E, F).

Figure 20: Présentation des formes des galles et leur positionnement sur les rameaux d'un arbre d'olivier du verger d'Ain Tessa.

Figure 21: Observation macroscopique des colonies de *V. dahliae* issues de fragments malades (A), culture sur PDA de 15 jours de *V. dahliae* à plusieurs morphotypes; noir-grisâtre (B), blanc-laiteux (C), blanc et noir (D, E) et blanc-grisâtre (F).

Figure 22: Observation microscopique des microsclérotos mélanisés en amas de *V. dahliae* (A) Gx200. Conidiophores portant les phialides en forme de V avec des conidies à leur extrémité (B) Gx400.

Figure 23: Présentation analytique des correspondances régionales (A), ouest (B) de 20 isolats de *V. dahliae*.

Figure 24: Observation macroscopique des colonies de *Rhizoctonia bataticola* de quinze jours, sur milieu de culture PDA, après isolement (A); après purification (B) et microscopique des Hyphes à Gx1000 (C).

Figure 25: Observation macroscopique des colonies âgées de sept jours de *Stemphylium botryosum* sur milieu de culture PDA, après isolement (A); après purification (B) et microscopique des conidiophores et conidies à Gx1000 (C).

Figure 26: Influence de la composition des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, respectivement, après 24, 9 et 8 jours de culture à une température de 25°C.

Figure 27: Influence de la température sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, après 24, 9, 8 jours d'incubation sur milieu de

culture V8 agar, MEA, PDA respectivement à une température de 25°C.

Figure 28: Influence des valeurs de pH sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, après 24, 9, 8 jours d'incubation respectivement sur milieu de culture PDA à une température de 25°C.

Figure 29: Influence de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, après 24, 9, 8 jours d'incubation respectivement sur milieu de culture PDA, ajusté à pH 6, à une température de 25°C.

Figure 30: Présentation macroscopique des colonies de *V. dahliae* (A) *R. bataticola* (B) et *S. botryosum* (C) de 15, 9 et 8 jours de culture respectivement sur le milieu de culture PDA en présence d'une lumière intermittente de 12 h d'obscurité /12 h lumière.

Figure 31: Présentation de rabougrissement des plantules de tomate, cv. Saint-pierre, après 21 jours d'inoculation par les six clones de *Verticillium dahliae*

Figure 32: Présentation de variation des IR selon l'âge des plantules de tomate, cv. Saint-pierre infectées par les six souches de *Verticillium dahliae*.

Figure 33: Observation de jaunissement progressif des premières feuilles d'un plant de tomate inoculé avec Vds1 (A1) et avec Vds3 (A2), leur dessèchement (B), leur flétrissement (C) et la chute foliaire (E).

Figure 34: Présentation de variation des I.A.F selon l'âge des plantules la tomate cv. Saint-pierre, infectées par les six souches de *Verticillium dahliae*.

Figure 35: Observation macroscopique des thalles de *Verticillium dahliae* issus des tiges de la tomate (A), colonie noire de *V. dahliae* provenant de la tige (B) et leur repiquage sur milieu PDA (C).

Figure 36: L'activité antifongique de Pelt 44 vis-à-vis de la croissance mycélienne des six isolats de *Verticillium dahliae*.

Figure 37: La croissance mycélienne de Vdm2 sur milieu de culture PDA additionné de Pelt 44 de différentes concentrations après 15 jours de culture à une température de 25°C.

Figure 38: L'activité antifongique de Ridomil Gold vis-à-vis de la croissance mycélienne des six isolats de *Verticillium dahliae*.

Figure 39: La croissance mycélienne de Vds5, sur milieu de culture PDA, additionné de différentes concentrations de Ridomil Gold, après 15 jours d'incubation à une

température de 25°C.

Figure 40: L'activité antifongique d'Ortiva vis-à-vis de la croissance mycélienne des six isolats de *Verticillium dahliae*.

Figure 41: La croissance mycélienne de Vds5, sur milieu de culture PDA, additionné de différentes concentrations d'Ortiva, après 15 jours d'incubation à une température de 25°C.

Liste des tableaux

- Tableau 1:** Principales maladies fongiques et bactériennes de l'olivier et leur répartition dans le monde.
- Tableau 2:** La polyphagie des deux champignons; *R. bataticola* et *S. botryosum* sur les plantes.
- Tableau 3:** Illustration des paramètres climatiques (Température en °C et pluviométrie en mm) mensuels des trois Wilayas oléicoles en 2011.
- Tableau 4 :** Présentation des caractéristiques culturales des cinq oliveraies prospectées.
- Tableau 5 :** Présentation de l'origine et sites de prélèvements des isolats fongiques.
- Tableau 6 :** Présentation des caractéristiques des trois fongicides testées vis-à-vis de *V. dahliae* responsables de la verticilliose de l'olivier (Serghat, 2004; Attrassi et al., 2005).
- Tableau 7:** Présentation des caractères culturaux et biométriques de 20 isolats de *Verticillium dahliae* algériens collectés sur l'olivier.
- Tableau 8:** Illustration de la contingence régionale et ouest des isolats de *V. dahliae*.
- Tableau 9 :** Illustration des matrices de corrélation régionale et ouest des isolats de *V. dahliae*.
- Tableau 10:** Présentation des diamètres moyens de la croissance de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture sur différents milieux de culture à une température de 25°C (Annexe).
- Tableau 11:** Présentation des diamètres moyens de la croissance de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture à différentes températures (Annexe).
- Tableau 12:** Présentation des diamètres moyens de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture à 25°C à différentes valeurs de pH (Annexe).
- Tableau 13:** Présentation des diamètres moyens de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture sous différents régime de lumière à 25° (Annexe).
- Tableau 14:** Présentation de l'indice d'altération foliaire (I.A.F) des plants de tomate cv. Saint Pierre inoculés avec les six souches de *V. dahliae* (Annexe).
- Tableau 15:** Présentation de l'indice de rabougrissement (I.R) des plants de tomate cv. Saint Pierre inoculés avec les six souches de *V. dahliae* (Annexe).

Tableau 16: Présentation des pourcentages d'inhibition des six souches de *V. dahliae* en présence de différentes concentrations de Pelt 44, après 15 jours de culture (Annexe).

Tableau 17: Présentation des pourcentages d'inhibition des six souches de *V. dahliae* en présence de différentes concentrations de Ridomil Gold, après 15 jours de culture (Annexe).

Tableau 18: Présentation des pourcentages d'inhibition des six souches de *V. dahliae* en présence de différentes concentrations d'Ortiva, après 15 jours de culture (Annexe).

Table des matières

Introduction	1
Chapitre I: Synthèse bibliographique	
1. Généralités botaniques sur l'olivier (<i>Olea europea</i> L.)	3
1. 1 Origine et expansion	3
1. 2 Étymologie et nomenclature	4
1. 3 Identité taxonomique et origine génétique	4
1. 4 Propriétés climatiques	5
1. 5 Morphologie générale de l'olivier	6
2. État des connaissances de l'oléiculture en Algérie	6
2. 1 Superficie et production oléicole	6
2. 2 Statut de l'oléiculture algérienne dans le monde	7
2. 3 Structure variétale	7
2. 4 Localisation et typologie des exploitations oléicoles	8
2. 5 Densité et techniques culturales	9
2. 6 Les contraintes de la filière	10
3. Principales maladies d'origine fongique et bactérienne chez l'olivier	11
3. 1 La verticilliose de l'olivier	13
3.1. 1 Définition et nomenclature	13
3.1. 2 Répartition géographique de la verticilliose de l'olivier	13
3.1.2. 1 Dans le monde	13
3.1.2. 2 En Algérie	14
3.1. 3 Les symptômes	15
3.1. 4 Incidence économique	16
3.1. 5 Gestion de la maladie	17
3.1.5. 1 Mesures prophylactiques	17
3.1.5. 2 La lutte chimique	17
3.1.5. 3 La lutte biologique	18
3.1.5. 4 La lutte génétique	19
3.1.5. 5 La lutte intégrée	20
3.1. 6 Description de l'agent pathogène (<i>V.dahliae</i>)	20
3.1.6. 1 Morphologie et physiologie	20

3.1.6. 2 Taxonomie -----	21
3.1.6. 3 Gammes d'hôtes -----	22
3.1.6. 4 Cycle biologique -----	22
3.1.6. 5 Le pouvoir pathogène -----	24
3. 2. La pourriture racinaire de l'olivier -----	25
3. 2. 1 Définition et nomenclature -----	25
3. 2. 2 Les symptômes -----	25
3. 2. 3 Incidence économique -----	26
3. 2. 4 Description des agents pathogènes (<i>R. bataticola</i> et <i>S.botryosum</i>) -----	26
3. 2. 4. 1 Morphologie et physiologie -----	26
3. 2. 4. 2 Taxonomie -----	27
3. 2. 4. 3 Gammes d'hôtes -----	27
3. 2. 4. 4 Cycle biologique des parasites -----	28
3. 3. La Fumagine de l'olivier -----	31
3. 4. La Tavelure de l'olivier -----	31
3. 5. La Tuberculose de l'olivier -----	31
Chapitre II: Matériel et méthodes	
1. Prospections et localisation des zones d'étude -----	32
1. 1 Prospections -----	32
1. 2 Caractéristiques des vergers d'oliviers prospectés -----	32
2. Origine du matériel fongique -----	33
2. 1 Estimation de l'incidence des maladies de l'olivier -----	33
2. 2 Prélèvement des échantillons -----	33
3. Isolement de l'agent pathogène de l'olivier -----	34
3. 1 Isolement à partir de fragments de rameaux -----	34
3. 2 Purification des isolats fongiques -----	34
3. 3 Cultures monospores -----	35
4. Identification des isolats fongiques -----	35
4. 1 Étude macroscopique -----	35
4. 2 Étude microscopique -----	37
4. 3 Étude biométrique -----	37
5. Conservation des isolats fongiques -----	37
6. Caractérisation morphotypique des isolats de <i>V. dahliae</i> -----	38
7. Étude de l'influence des facteurs physiologiques sur la croissance fongique -----	38

7. 1 Influence du milieu de culture -----	39
7. 2 Influence de la température-----	39
7. 3 Influence du pH -----	39
7. 4 Influence de la lumière-----	40
7. 5 Évaluation de la croissance mycélienne -----	40
8. Recherche du pouvoir pathogène des isolats de <i>V.dahliae</i> -----	40
8. 1 Matériel fongique-----	40
8. 2 Matériel végétal-----	40
8. 3 Récolte des plants -----	41
8. 4 Préparation de l'inoculum fongique -----	41
8. 5 Méthode d'inoculation-----	41
8. 6 Estimation des symptômes -----	43
8.6. 1 Indice de rabougrissement -----	43
8.6. 2 Indice d'altération foliaire -----	43
8.6. 3 Brunissement -----	44
8.6. 4 Interprétation statistique des résultats-----	44
8. 7 Réisolement de <i>V.dahliae</i> -----	44
9. Sensibilité <i>in vitro</i> des isolats fongiques aux fongicides -----	45
9. 1 Choix des isolats fongiques et des fongicides -----	45
9. 2 Test <i>in vitro</i> de l'effet du fongicide sur la croissance fongique -----	45
9. 3 Estimation du pourcentage d'inhibition des isolats fongiques -----	46

Chapitre III: Résultats et discussion

1. Prospection et symptomatologie des maladies de l'olivier au champ -----	47
1. 1 Verticilliose de l'olivier -----	47
1. 2 Pourriture racinaire de l'olivier-----	48
1. 3 Fumagine de l'olivier -----	49
1. 4 Tavelure de l'olivier-----	50
1. 5 Tuberculose de l'olivier -----	51
2. Isolements des champignons -----	51
3. Identification des espèces fongiques -----	52
3. 1 Études macroscopiques et microscopiques du <i>V.dahliae</i> -----	52
3.1. 1 Caractéristiques culturales-----	52
3.1. 2 Examens microscopiques-----	54
3.1. 2 Caractérisation morphotypique des isolats de <i>V.dahliae</i> par A.C.P -----	55

3. 2 Études macroscopiques et microscopiques des deux autres espèces fongiques -----	59
3.2. 1 <i>Rhizoctonia bataticola</i> -----	59
3.2. 2 <i>Stemphylium botryosum</i> -----	60
4. Influence des facteurs physiologiques sur la croissance mycélienne de trois espèces fongiques-----	61
4. 1 Influence du milieu de culture -----	61
4. 2 Influence de la température -----	62
4. 3 Influence du pH-----	64
4. 4 Influence de la lumière -----	65
5. Le pouvoir pathogène des six souches de <i>V.dahliae</i> -----	67
5. 1 Indice de rabougrissement -----	67
5. 2 Indice d'altération foliaire-----	69
5. 3 Brunissement-----	71
5. 4 Le réisolement de l'agent pathogène -----	71
5. 5 Évaluation du pouvoir pathogène des six souches de <i>V.dahliae</i> -----	72
6. Activité des fongicides sur la croissance <i>in vitro</i> des souches de <i>V. dahliae</i> -----	73
Conclusion et perspectives-----	77
Références bibliographiques	
Annexe	
Article scientifique	



Introduction

Introduction

L'Algérie est le plus grand pays du continent africain, elle dispose d'énormes potentialités agricoles qui pourraient constituer le pilier de base de l'économie nationale et du développement social. Dans cette optique, le pays couvre une superficie agricole utile de 8,5 millions d'hectares qui se ventile entre terres labourables et cultures pérennes (Si-Tayeb, 2015). Parmi ces cultures, l'oléiculture détient une place importante dans l'agriculture et l'arboriculture algérienne, cette prédilection prend son origine du caractère traditionnel de cette culture, de sa capacité d'adaptation aux différentes zones climatiques et surtout de sa contribution à l'essor économique, écologique et social du pays.

Sur le plan économique, le secteur oléicole national participe de 17 % à la production agricole du pays couvrant ainsi 30% des besoins du pays en huiles végétales alimentaires avec une production annuelle de 471 000 tonnes et un apport de 20 millions de dollars (Abdelguerfi, 2003; ONFA, 2016). L'intérêt de l'olivier ne se limite pas seulement à la production de l'huile et l'olive de table, puisque le grignon et le noyau sont devenus une source importante de matière première alimentaire pour les animaux (Hadjou *et al.*, 2013). L'oléiculture procure à l'Algérie le rang du neuvième producteur et le troisième exportateur mondial (ONFA, 2016).

Au point de vue écologique et social, l'oléiculture permet de lutter contre l'érosion, la désertification, restaurer des terres agricoles, fixer les populations dans des zones difficiles d'accès, limiter l'exode rural et générer des emplois permanents. L'olivier constitue également la principale spéculation fruitière qui contribue à la préservation des ressources naturelles et à la résolution des problèmes d'environnement qui préoccupent les autorités et les institutions nationales et internationales (Bellahcene, 2004).

Vu son contexte historique, hydro-pédologique et géomorphologique, le Nord-Ouest algérien représente une région à vocation oléicole par excellence, créée depuis l'époque coloniale (Benchaabane *et al.*, 2010). Cependant, au cours des années 1990, les autorités algériennes ont constaté des centaines d'exploitations de cette région souffrir de plus en plus des problèmes d'appauvrissement de sol, de conduite traditionnelle, de l'absence d'appuis, de la vulgarisation et des incendies. La résultante de tous ces problèmes auxquels s'ajoute la pression démographique se traduit par une nette régression du potentiel foncier cultivable, une faiblesse du potentiel productif, ce qui met en péril la production oléicole algérienne (Bellahcene, 2004).

Pour améliorer cette situation, l'Algérie avait établi en 2000 un Plan National Oléicole (PNO) pour l'extension de la superficie des oliveraies à 500 000 ha au Nord et au Sud du pays

Introduction

(Hadjou *et al.*, 2013) essentiellement avec deux variétés les plus dominantes Chemlal et Sigoise. Cette augmentation de surface oléicole, due principalement au soutien de l'État a mis en œuvre une stratégie de plusieurs programmes visant le développement de l'oléiculture en intensif (2006-2008), l'extension des superficies plantées en olivier, la modernisation de l'outil de transformation et la promotion de la qualité.

Ces nombreux facteurs ont accentué la sensibilité de l'olivier à des maladies d'origine fongique surtout la verticilliose (Benchaabane *et al.*, 2010), la pourriture racinaire et la tavelure (Guechi et Girre, 1994 et 2002) mais aussi à d'autres maladies bactériennes et parasitaires telles que la tuberculose (Benyoub, 2010), le Crown gall (Bouzar *et al.*, 1991) et la fumagine (Assawah et Ayat, 1985).

En l'occurrence, la verticilliose et la pourriture racinaire de l'olivier présentent ces dernières années une menace sérieuse pour l'oléiculture algérienne. Ces maladies redoutables sont causées par des champignons telluriques, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia bataticola* et *Stemphylium botryosum* qui sévissent dans les régions de culture d'oliviers où ils provoquent non seulement des dégâts sur l'olivier, mais également sur d'autres plantes cultivées.

Les objectifs tracés pour la réalisation de ce présent travail sont:

- La réalisation des prospections dans les oliveraies de la région Nord-Ouest d'Algérie (Sidi Bel Abbes, Mascara et Oran), la localisation des maladies d'origine fongique et bactérienne et l'estimation de leur taux d'infestation.
- L'isolement d'une large gamme de champignons pathogènes à partir de rameaux d'olivier infectés.
- L'identification des isolats fongiques pathogènes, sur la base des symptômes des maladies et leurs caractéristiques culturales et morphologiques.
- L'étude des paramètres physiologiques (milieu de culture, température, pH et lumière) impliqués dans la croissance des espèces fongiques isolées.
- La caractérisation morphotypique des isolats de *V. dahliae* par l'analyse en composante principale (ACP).
- La mise en évidence du pouvoir pathogène des isolats de *V. dahliae vis-à-vis* de plants de tomate.
- L'étude et la comparaison de l'activité antifongique de Pelt 44, Ridomil Gold, Ortiva vis-à-vis des isolats de *V. dahliae*.



Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Généralités botaniques sur l'olivier (*Olea europea* L.)

1. 1 Origine et expansion

L'olivier fut l'un des premiers arbres cultivés avec le figuier et le dattier (Zohary et Spiegel Roy, 1975; Belaj, 2010). Son origine remonte à 50. 000-60. 000 ans (Velitzelos *et al.*, 2005) en Syrie, en Asie Mineure, au Proche-Orient selon Fouin et Sarfati (2002). Cependant, Gaussorgues (2009) rapporte que sa provenance tient de l'Afrique du côté de l'Égypte ou de l'Éthiopie. La domestication de l'olivier semble être bien tardive, 6000 ans BP (Terral *et al.*, 2004; Caballero et Del Río, 2008; Di Rita et Magri, 2009) au Levant à l'Est méditerranéen (Zohary et Hopf, 2000; Lumaret *et al.*, 2004) (**Figure 1**). Par la suite, l'olivier a été étendu vers l'Occident par les deux bords de la Méditerranée au gré des principales civilisations telles que les Phéniciens, les Grecs puis les Carthaginois, les Romains et les Arabes (Civantos, 2008; Carriòn *et al.*, 2010). Ce n'est qu'au 19^{ème} siècle, que la culture de l'olivier s'implante durablement sur tout le pourtour de la Méditerranée (Amouretti, 2000).

Plus tard, la culture de l'olivier fait un bon en dehors du Bassin méditerranéen (García Verdugo *et al.*, 2010) pour s'introduire au Nouveau Monde (Pérou, Chili, Mexique, Argentine, Brésil et États-Unis (Californie)) (Civantos, 2008), à l'Inde, au Caucase et au sud de l'Asie (Chine, Malaisie et Maui), elle s'est conduite également en Afrique du Sud, en Australie, au Japon, en Chine et plus récemment en Nouvelle-Calédonie (Rhizoupoulou, 2007; Leroy, 2011).

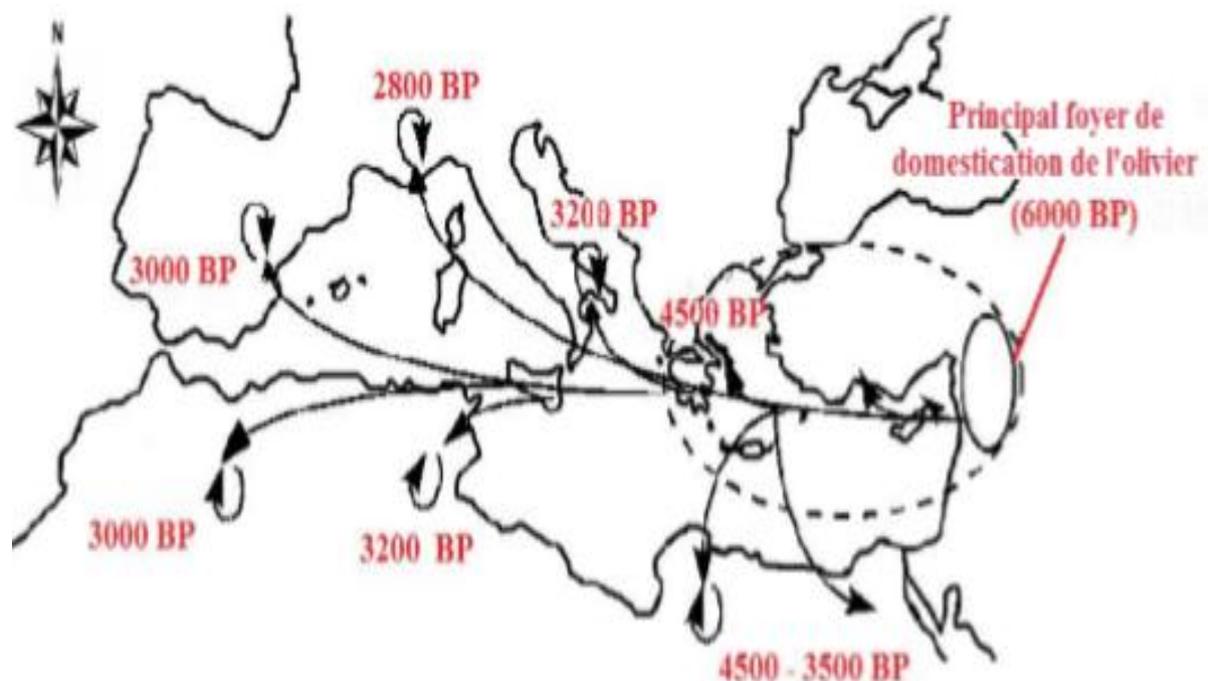


Figure 1: Dissémination de l'olivier cultivé de l'Est à l'Ouest de la Méditerranée (Besnard, 2009) (BP: Befor Present).

1. 2 Étymologie et nomenclature

L'olivier fut appelé Alea, pour la première fois par les Grecs au 13^{ème} siècle avant Jesus Christ (Chawick, 1958; Simandirakis et Lykoudi, 2002), pour être nommé elaa et elam (Hoad, 1991) qui deviendra oleum et olea en latin, olay en hongrois, oliifbroom en flamand et en hollandais, oliven en allemand, oliva en espagnol et en portugais, olivo en italien, olive en anglais et olivier en français (Gigon et Le Jeune, 2010), ezaith en hébreu est passé sous l'appellation zeytin en turque (Pagnol, 1975; Wagner *et al.*, 1999), zaytunn en arabe pour l'olivier cultivé et zenboudje pour l'olivier sauvage (Simandirakis et Lykoudi, 2002).

Scientifiquement, l'olivier est appelé *Olea europea* L. (Linné, 1764). L'épithète générique *Olea* désigne l'arbre de l'olivier, tandis que le nom spécifique *europea* indique son terroir européen typique de la zone méditerranéenne (Percy et Newberry, 1937). D'ailleurs *Olea europea* L. est l'unique espèce méditerranéenne représentative du genre *Olea* (Henry, 2003).

1. 3 Identité taxonomique et origine génétique

L'olivier appartient à la famille des Oléacées, genre *Olea* qui comprend 35 espèces (Cordeiro *et al.*, 2008). La seule espèce portant des fruits comestibles est l'*Olea europea* L. (Breton *et al.*, 2006a; Rubio de Casas *et al.*, 2006; Strikis *et al.*, 2010).

Olea europea est un complexe de six sous espèces supposées interfertiles (Breton *et al.*, 2006a; Rubio de Casas *et al.*, 2006) dont l'une comporte deux variétés: subsp. *europea* (var. *europea*, l'olivier cultivé et var. *sylvestris* (Mill.) Lehr., l'oléastre ou l'olivier sauvage), subsp. *cerasiformis*, subsp. *cuspidata*, subsp. *guanchica*, subsp. *laperrini*, subsp. *maroccana*.

Le complexe *Olea europea* se différencie par ses caractères phénotypiques, génotypiques et sa répartition géographique (Green, 2002; Terral *et al.*, 2004). Il est présent depuis l'Afrique du sud jusqu'en Chine, en Méditerranée, en Macaronésie et dans les montagnes sahariennes (**Figure 2**), en Australie et dans plusieurs archipels de l'Océan Pacifique (Green, 2002).

Les études de la diversité moléculaire de l'olivier montrent que l'oléastre semble être l'ancêtre de l'olivier cultivé (Breton *et al.*, 2006a et b; Caballero et Del Río, 2008; Besnard *et al.*, 2009; Belaj, 2010), la combinaison d'oléastres localement sélectionnés et de cultivars importés (Besnard *et al.*, 2001; Khadari, 2005), donne actuellement plus de 2500 cultivars recensés à travers le monde (Cordeiro *et al.*, 2008; Ozgenturk *et al.*, 2010).

L'ensemble des cultivars est diploïde ($2n = 2x = 46$), principalement allogame dont la taille de génome est environ 1.800 MB (Loureiro *et al.*, 2007; Besnard *et al.*, 2008).

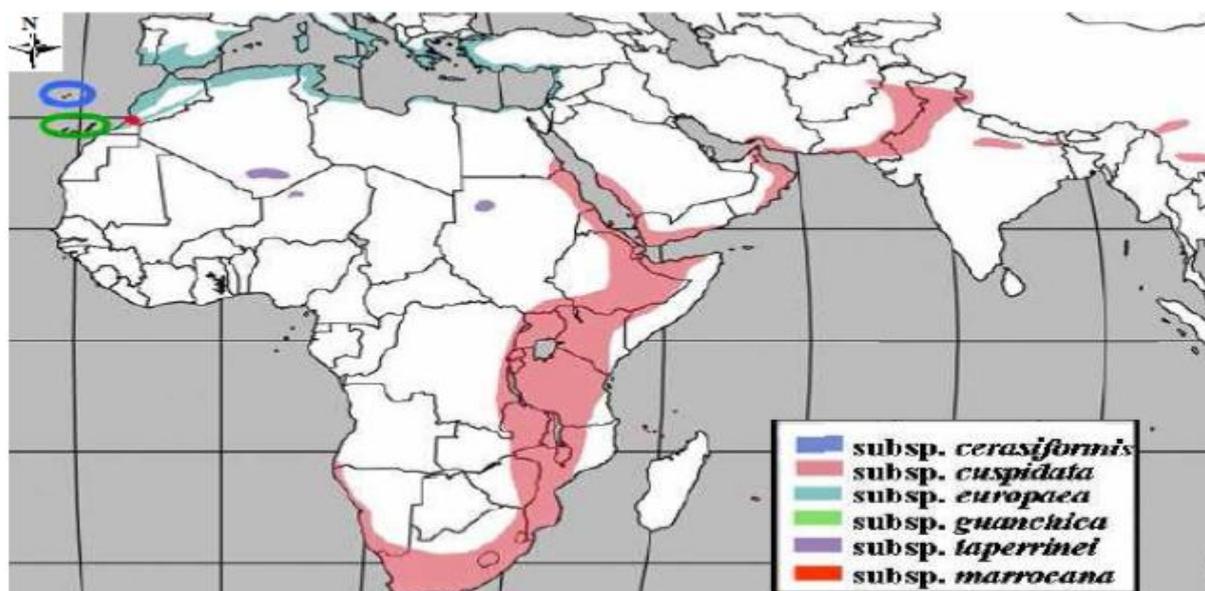


Figure 2: Distribution naturelle du complexe *Olea europaea* dans le monde entier (Rubio de Casas *et al.*, 2006).

1. 4 Propriétés climatiques

Le cadre climatique servant à la culture de l'olivier (*Olea europaea* L.) est circonscrit à 30–45° de latitude des deux hémisphères nord et sud (**Figure 3**) (Lazzeri, 2009), cette limite fait du climat méditerranéen le climat typique de l'olivier; des hivers doux, des étés chauds et secs, des printemps et des automnes pluvieux (Besnard, 2009). Les zones au climat méditerranéen sont non seulement les régions autour de la mer méditerranée, mais aussi d'autres régions du monde (Californie, Centre du Chili, région du Cap en Afrique du Sud et Ouest de l'Australie) qui ont les mêmes conditions climatiques (Conteras *et al.*, 2009).

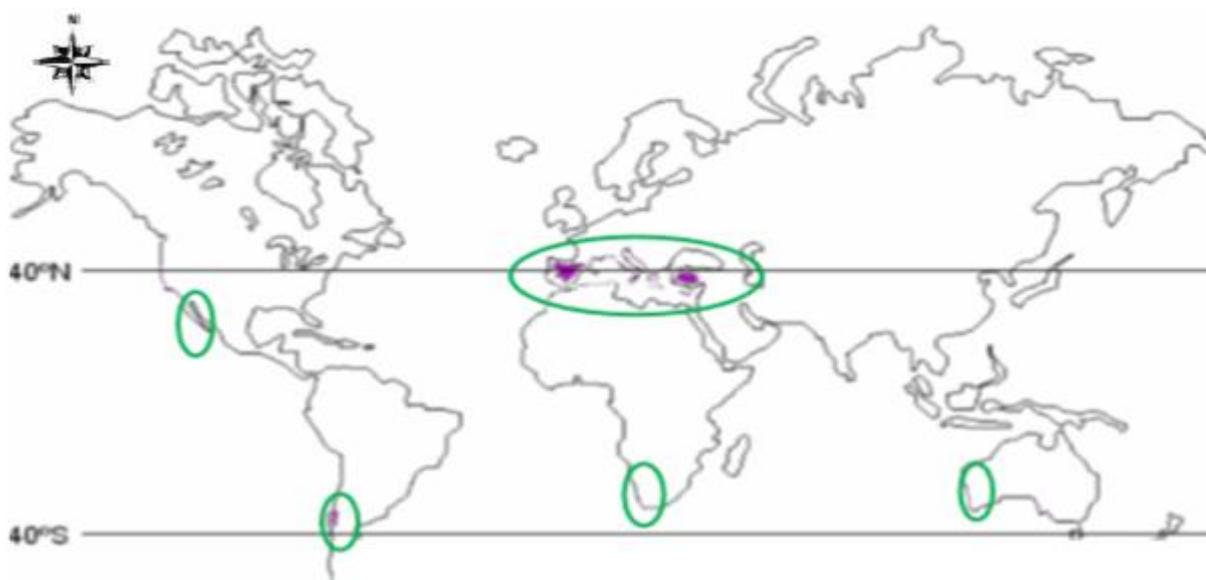


Figure 3: Localisation des cinq zones géographiques du climat méditerranéen, adapté à la culture de l'olivier (Lazzeri, 2009).

1. 5 Morphologie générale de l'olivier

L'olivier est un arbre vigoureux, avec un tronc le plus souvent raboteux et une tête arrondie et des rameaux étalés et nombreux de dimensions et de forme variables (Amoureux, 1784) (**Figure 4**). Selon les conditions climatiques, le sol et les variétés, l'olivier peut atteindre 15 à 20 mètres de hauteur (Loussert et Brouse, 1978). Cependant, dans la plupart des modes de culture, il est maintenu à une hauteur de 3 à 5 mètres pour en faciliter la cueillette et en améliorer la productivité (Henry, 2003). L'olivier se distingue des autres arbres fruitiers par sa rusticité et sa longévité multiséculaire (Rugini, 2005; Rhizopoulou, 2007), qui lui permet de se développer sous des conditions peu favorables, tout en conservant ses caractéristiques morphologiques pendant des milliers d'années. Ce potentiel d'adaptation et de persistance est dû à son système racinaire, à l'anatomie spéciale de ses feuilles et à son haut niveau de régénération morphologique (Lavee, 1997).

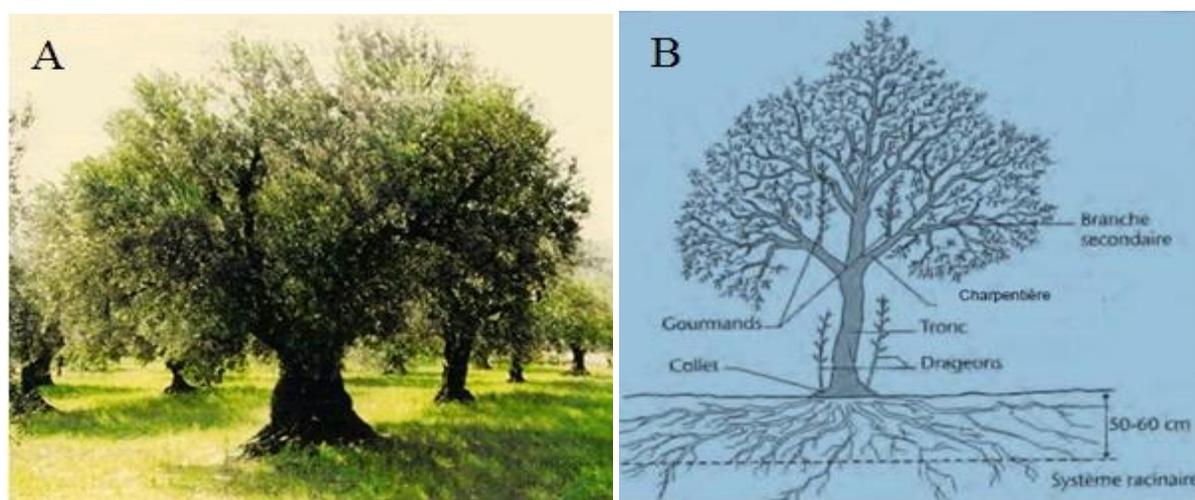


Figure 4: Présentation d'arbre d'olivier (A); principales parties d'un olivier (B) (Argenson, 1999).

2. État des connaissances de l'oléiculture en Algérie

2. 1 Superficie et production oléicole

L'oléiculture en Algérie connaît actuellement une grande expansion avec un accroissement important de la superficie qui est passée de 263 000 ha en 2007 à environ 471 000 ha en 2016, de ce fait, elle constitue la première richesse arboricole, avec 35 millions d'arbres, couvrant environ 38,7 % de la surface arboricole, et approximativement 4 % de la superficie agricole. La production oléicole en Algérie n'a pas suivi l'augmentation des surfaces cultivées puisqu'elle a même baissé entre 1996 (50000 tonnes) et 2006 (35000 tonnes), avant de se stabiliser autour de 471 00 tonnes en 2016 (ONFA, 2016).

Par ailleurs, la filière oléicole se divise en deux branches d'activités d'importance inégale à savoir : l'huile d'olive et les olives de table:

- Plus de 85% de la production oléicole est destinée aux usines de trituration d'huile d'olive (Boudi *et al.*, 2013; Hadjou *et al.*, 2013).
- Environ 15 % de la production oléicole est acheminée vers les conserveries pour la préparation des olives de table (Boudi *et al.*, 2013; Hadjou *et al.*, 2013).

2. 2 Statut de l'oléiculture algérienne dans le monde

L'Algérie produit une moyenne annuelle de 471 00 tonnes d'olives. Si la plantation d'olivier détient une large part (35 millions d'arbres) dans l'arboriculture algérienne, elle ne pèse qu'approximativement 3.5% de la plantation oléicole mondiale qui compte plus d'un milliard d'arbres. L'Algérie ne participe qu'avec 1, 57 % de la production oléicole mondiale estimée à 3 000 000 de tonnes, contre 75% pour la communauté européenne et 23% pour le reste du monde. De ce fait, l'Algérie vient en troisième position en Afrique, cinquième position au niveau méditerranéen, et neuvième position au monde après l'Espagne, l'Italie, la Grèce, la Turquie, la Syrie, le Maroc la Tunisie et l'Égypte qui sont par ordre d'importance, les plus gros producteurs au monde (ONFA, 2016) (**Figure 5**).



Figure 5: Les principaux pays producteurs d'olive dans le monde (Sasanelli, 2009; ONFA, 2016).

2. 3 Structure variétale

L'olivier compte de nombreuses variétés ayant une énorme diversité phénotypique (Cantini *et al.*, 1999) et génétique (Belaj *et al.*, 2001). Près de 1250 variétés cultivées dans 54 pays ont été rapportées par la FAO (Bartolini, 2008).

L'Algérie, grâce à sa situation géographique et à sa diversité pédoclimatique dispose d'un assortiment assez riche de variétés marquant chacune les traits édaphiques et climatiques qui

caractérisent sa zone d'implantation (Douzane *et al.*, 2010). Plus de et 173 variétés entre autochtones et introduites ont été dénombrées (Hauvill 1953; Chaux, 1955). De ce nombre, 48 variétés sont autorisées, dont une dizaine font actuellement la réputation de l'oléiculture algérienne (Saad *et al.*, 2009; ONFA, 2016) (**Figure 6**).

De par leur plasticité, deux variétés; « Chemlal » et « Sigoisse », constituent le profil variétal dominant en Algérie. Ces deux variétés cohabitent avec une multitude d'autres: locales (Azzeradj, Aberkane, Limli, Bouricha) et étrangères (Cornicabra, Sevillane, Blanquette, Rougette, Lucques, Frantoio). Ces variétés dites secondaires représentent le reste du patrimoine variétal (Sahli, 2009; Benrachou *et al.*, 2010):

- La variété « Chemlal » occupe 30% des superficies totales, présente en Kabylie, dans l'Atlas Blidéen, dans la Mitidja et dans la région des Bibans. Cette variété est considérée comme étant bonne productrice d'huile de bonne qualité.
- La variété « Sigoisse » occupe 20% des surfaces cultivées, présente dans l'Oranie et, plus particulièrement, dans les plaines de Sig et de Tlemcen. Cette variété est une excellente olive de conserve et appréciée pour la production d'huile.

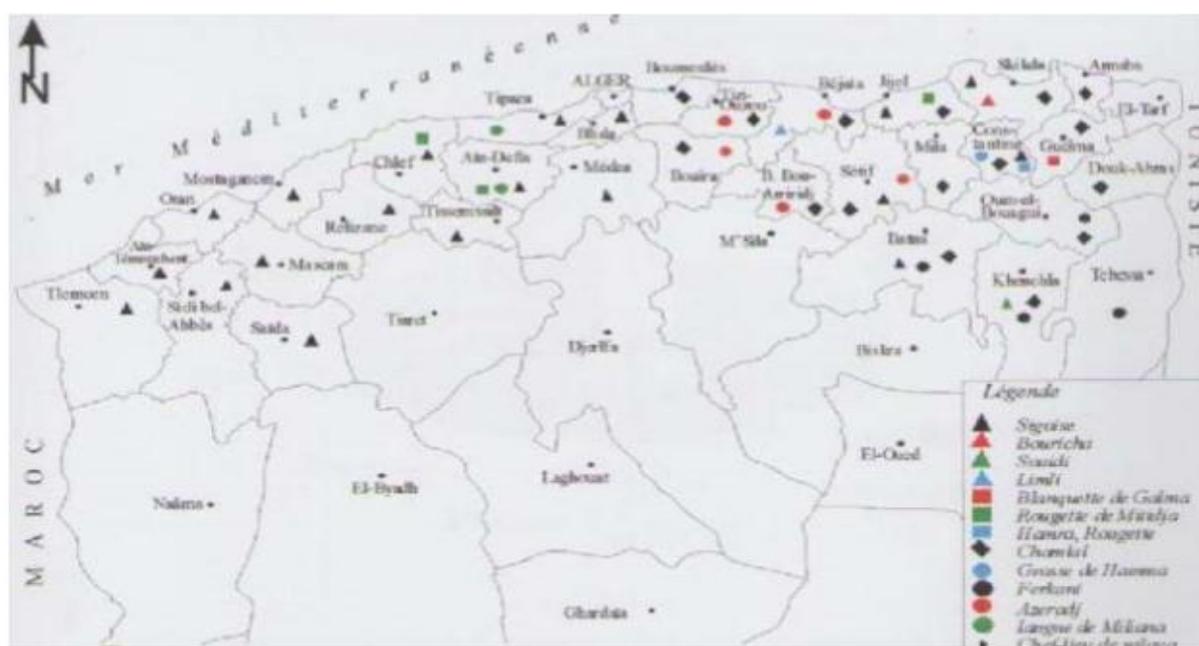


Figure 6: Localisation des principales variétés d'olivier cultivées en Algérie (Saad, 2009).

2. 4 Localisation et typologie des exploitations oléicoles

Les différentes invasions que connaissait l'Algérie ont eu un impact certain sur la répartition géographique de l'oléiculture qui s'est installée inégalement dans la région centre (54%), Est (29%) et Ouest (17%) (Hadjou *et al.*, 2013). La plupart des oliveraies (80%) s'accaparent des zones de montagne, sur des terrains accidentés et marginaux. Le reste des oliveraies (20%)

sont situées dans les plaines de l'ouest du pays. Cette filière s'est ouverte de nouveaux espaces ces dernières années, notamment au sud du pays (Biskra, Khenchela, Ouargla, El-Oued) (Bounoua, 2008). Le secteur privé, majoritaire au Centre et à l'Est, dispose de 70% de verger alors que 30% appartiennent au secteur étatique. Ce potentiel oléicole est présenté par près de 150 000 exploitations agricoles majoritairement inférieures à 5 hectares. Les grandes exploitations de plus de 200 hectares ne représentent qu'une faible proportion de 6% (Hadjou *et al.*, 2013).

En Algérie, deux types d'oliveraies se distinguent l'un de l'autre selon l'aspect des plantations, leur conduite, leur orientation et leur zones géographiques (Boudi *et al.*, 2013).

- Une minorité du verger national, soit 15% d'oliveraie dite moderne, présente dans les zones steppiques et de hautes plaines où elle s'étend le long des anciens domaines coloniaux (Mitidja, Chléf, Constantine, Guelma, Annaba, Mostaganem, Mascara et Sidi Bel-Abbès). Cette oléiculture est implantée essentiellement à l'ouest du pays, et notamment à Sig et s'est spécialisée dans la production et le conditionnement de l'olive de table (Alloum, 1974).
- L'autre oléiculture est séculaire, constitue près de 85% du verger national, dite oliveraie traditionnelle. Elle s'étend principalement sur les régions montagneuses défavorisées (la Kabylie, Sétif, Constantine, Guelma et Tlemcen). Cette oléiculture est spécialisée dans la production d'huile d'olive (Rebour, 1948; Alloum, 1974).

2. 5 Densité et techniques culturales

Les conditions climatiques de l'Algérie, connues par la faiblesse et l'irrégularité pluviométrique, font de l'olivier une culture essentiellement extensive. Les oliveraies des montagnes, sont caractérisées par une pluviométrie moyenne comprise entre 400 et 900mm/an, et ne bénéficient d'aucun entretien, exception faite de certaines tailles de nettoyage et d'élagage du bois mort (Bounoua, 2008; Hadjou *et al.*, 2013). Cependant, les oliveraies des plaines occidentales du pays, où la pluviométrie moyenne annuelle est de 300-400mm, bénéficient de certaines techniques portant sur le travail du sol, la taille et la fertilisation destinée, en partie, aux cultures intercalaires. Pour les zones irriguées, les oliveraies bénéficient des travaux du sol pour la lutte contre les mauvaises herbes, la confection des cuvettes pour l'irrigation, la taille et l'engrais de couverture et quelquefois l'engrais de fond (Hadjou *et al.*, 2013).

Par ailleurs, 88% du verger oléicole est conduit en masse contre 12 % en isolé. La densité des plantations varie également en fonction des conditions culturales des différentes exploitations. La densité moyenne varie de 40 à 80 oliviers/ha en masse ou en isolé (Boudi *et al.*, 2013). Les

nouvelles plantations peuvent néanmoins atteindre, dans certains cas, les 400 oliviers/ha (Hadjou *et al.*, 2013).

2. 6 Les contraintes de la filière

En dépit des potentialités que recèle le secteur, le diagnostic de la situation oléicole en Algérie actuelle montre que le potentiel productif reste globalement en deçà de l'objectif visé et ne valorisent que partiellement les atouts dont dispose notre pays en la matière. Cette situation résulte de plusieurs effets négatifs :

o La faiblesse des hauteurs pluviométriques enregistrées au niveau de certaines zones oléicoles conjuguée à l'irrégularité inter et intra-annuelle de ces précipitations (Sahli, 2009; Hadjou *et al.*, 2013).

o La sécheresse et les incendies ravagent des milliers d'hectares d'espaces oléicoles en Algérie. Ces incendies répétitifs annihilent le développement de cette culture en Algérie et favorisent l'exode des populations (Bellahcene, 2004).

o L'absence de régions spécialisées en oléiculture fait que l'olivier ne bénéficie pas des interventions appropriées. De plus, la prédominance des plantations irrégulières et la présence des cultures intercalaires ne permettent pas la réalisation des travaux d'entretien dans de bonnes conditions (Alloum, 1974; Sahli, 2009).

o Le problème du foncier (morcellement des plantations en 4 à 6 parcelles par exploitation), l'exiguïté prononcée des exploitations (50% des exploitations ont une superficie inférieure à 5 ha) et la régression du savoir-faire (fertilisation, taille, irrigation, traitement, temps de récolte, cueillette et stockage), des contraintes qui limitent l'investissement dans les vergers et rendent difficile leur mise en valeur (Sahli, 2009).

o Le vieillissement du verger national (près de 40% n'ont aucun rendement), le faible taux de rajeunissement des oliviers auxquelles s'ajoute l'appauvrissement de sol et le mode de conduite traditionnelle; sont les principales causes de la faiblesse des rendements oléicoles; chose qui révisé sévèrement à la baisse le verger productif (Alloum, 1974; Abdelguerfi, 2003; Lazzeri, 2009; Boudi *et al.*, 2013).

o La vétusté des équipements des unités industrielles de transformation (sur les 1650 huileries, environ 85% d'entre elles, sont des huileries traditionnelles), leur faible capacité de trituration, la non-conformité de leur matériel aux normes modernes (stockage, manutention), l'absence de laboratoires d'analyse et de contrôle. Il en résulte une qualité d'huile médiocre, titrant 4 à 5 degrés d'acidité (Hadjou *et al.*, 2013).

- o La sous-valorisation des rejets de l'opération de trituration accentue encore le retard qu'accuse l'oléiculture algérienne. Les rejets annuels de grignon pourraient servir à fertiliser chaque année plus d'une dizaine de millions d'arbres (Moussouni, 2009; Hadjou *et al.*, 2013).
- o Le manque d'organisation dans la profession (oléiculteurs et oléifacteurs non organisés, absence de laboratoires spécialisés d'unités de conditionnement et de commercialisation caractérisée par le monopole des intermédiaires et l'absence des marchés locaux). À cela s'ajoute l'absence d'une véritable politique capable de faire de ce secteur l'un des volets du développement économique et social du pays (Abdelguerfi, 2003).
- o La dominance de deux variétés nationales : Chemlal et Sigoise, qui malgré leur pouvoir d'adaptation et leur double finalité (production d'huile et de conserves d'olive), présentent les inconvénients d'être sensibles à certaines maladies, avoir un fort indice d'alternance de la production et une faible teneur en huile d'olive (13.5 et 14 % contre 26 à 30% pour les variétés à huile) (Abdelguerfi, 2003; Hadjou *et al.*, 2013).
- o Certaines oliveraies algériennes commencent à devenir de plus en plus infestées par des maladies qui demeurent causer des dégâts quantitatifs et qualitatifs importants surtout qu'aucun traitement phytosanitaire n'est utilisé (Assawah et Ayat, 1985; Bouzar *et al.*, 1991; Bellahcene, 2000; Guechi et Girre, 1994 et 2002; Benyoub, 2010).

3. Principales maladies fongiques et bactériennes de l'olivier

L'olivier comme d'autres arbres fruitiers est souvent attaqué par une multitude de bioagresseurs (Bellahcene, 2004) dont le nombre est : 110 espèces d'insectes, 100 espèces de nématodes, 90 espèces fongiques, 13 espèces d'arachnides, 13 virus, 5 espèces bactériennes, 4 mousses, 3 lichens et 3 angiospermes (Faustino de Andres, 1965; Argenson, 1999; Tombesi *et al.*, 2007; Sasanelli, 2009). Les maladies d'origine bactérienne et fongique les plus fréquentes sont résumées dans le **tableau 1**.

Tableau 1: Principales maladies fongiques et bactériennes de l'olivier et leur répartition dans le monde.

Maladies (Agents responsables)	Distribution géographique	Références bibliographiques
Verticilliose (<i>Verticillium dahliae</i> kleb.)	Algérie, Maroc, Tunisie, Arabie saoudite, Égypte, Jordanie, Irak, Iran, Israël, Turquie, France, Italie, Grèce, Espagne, Australie, États-Unis d'Amérique.	Ruggieri, (1946), Snyder <i>et al.</i> , (1950), Morschel, (1961), Zachos, (1963), Saydam et Copcu, (1972), Vigouroux, (1975), Caballero <i>et al.</i> , (1980), Manluk <i>et al.</i> , (1984), Zarhouni <i>et al.</i> , (1988), Benchabane, (1990), Al-Ahmad et Mosli, (1993), Serrhini et Zeroual, (1995), Matallah-Boutiba <i>et al.</i> , (1997), Bellahcene <i>et al.</i> , (1997 et 2004), Levin <i>et al.</i> , (2003), Sanei <i>et al.</i> , (2004), Porta-Puglia et Mifsud, (2005), Triki <i>et al.</i> , (2006).
Eil de Paon (<i>Spiloseae oleagina</i> Fries.)	Algérie, Régions oléicoles méditerranéennes, Arabie saoudite, Californie, Chili et Afrique du Sud.	Jiménez-Díaz, (1985), Laviola, (1992), Graniti, (1993), Boulila et Mahjoub (1994), Guechi et Girre, (1994 et 2000), Barbara, (2001), Guario <i>et al.</i> , (2002), AlShebel <i>etal.</i> , (2005), Guzman-Alvarez <i>et al.</i> , (2007), Tombesi <i>et al.</i> , (2007).
Pourriture racinaire (<i>Rizoctonia bataticola</i> Taub., <i>Armillaria mellea</i> Kumm., <i>Fusarium solani</i> Sacco.,)	Algérie, Tunisie, Syrie, Égypte, et d'autres pays méditerranéens, Arabie saoudite, Espagne, Italie, Argentine, Australie	Jiménez-Díaz, (1985), Boulila et Mahjoub (1994), Ghoneim <i>et al.</i> , (1996), Sacher <i>et al.</i> , (1997), Hernandez <i>et al.</i> , (1998), Tsopelas et Tjamos (1999), Cacciola <i>et al.</i> , (2001), Guario <i>et al.</i> , (2002), Al-Shebel <i>et al.</i> , (2005), Sergeeva <i>et al.</i> , (2005), Guzman-Alvarez <i>et al.</i> , (2007).
Cercosporiose (<i>Cercospora cladosporioides</i> Sacc.)	Arabie saoudite, Italie, Portugal, Grèce, Espagne, Algérie, Tunisie, Californie et Australie.	Viennot-Bourgin, (1949), Pettinari, (1952), Pintoganhua, (1963), Pappas, (1975), Del Moral et Cabezas, (1985), Jiménez-Díaz, (1985), Boulila et Mahjoub (1994), Guario <i>et al.</i> , (2002), Al-Shebel <i>et al.</i> , (2005), Spooner-Hart, (2005), Tombesi <i>et al.</i> , (2007), Triki et Rhouma, (2008)
Anthraxose (<i>Gloeosporium olivarum</i> Alm.)	Tunisie, Syrie, Arabie saoudite, Russie, Inde, Italie et d'autres zones oléicoles méditerranéennes, Japon, Argentine, Uruguay.	Jiménez-Díaz, (1985), Benjama, (1988), Mugnai <i>et al.</i> , (1993), Graniti, (1993), Boulila, (2001), Guario <i>et al.</i> , (2002), Al-Shebel <i>et al.</i> , (2005), Guzman-Alvarez <i>et al.</i> , (2007), Tombesi <i>et al.</i> , (2007).
Lèpre de l'olive (<i>Sphaeropsis dalmatica</i> Thum.)	La plupart des zones oléicoles méditerranéennes	Jiménez-Díaz, (1985), Benjama, (1988), Guario <i>et al.</i> , (2002), Guzman-Alvarez <i>et al.</i> , (2007), Tombesi <i>et al.</i> , (2007).
Fumagine (<i>Capnodium meridionale</i> , <i>Capnodium oleae</i> , <i>Towba spp.</i> ,).	Arabie saoudite, Algérie et presque toutes les régions oléicoles du bassin méditerranéen.	Assawah et Ayat, (1985), Benjama, (1988), Guario <i>et al.</i> , (2002), Al-Shebel <i>et al.</i> , (2005), Tombesi <i>et al.</i> , (2007)
Tuberculose (<i>Pseudomonas savasatanoi</i> Janse.)	Algérie, Maroc, Tunisie, Afrique de sud, Asie, Turquie. Espagne, Portugal, Italie Grèce, Albanie, Allemagne, Californie Argentine, Pérou, Australie	Assawah et Ayat, (1985), Laviola, (1992), Panagopoulco, (1993), Boulila et Mahjoub, (1994), Alvarez <i>et al.</i> , (1998), Senhaji, (1999), Sisto <i>et al.</i> , (1999), Barbara, (2001), Marchiet <i>et al.</i> , (2005), Tombesi <i>et al.</i> , (2007), Moretti, (2008), Campos <i>et al.</i> , (2009), Benyoub, (2010).
Crown gall (<i>Agrobacterium tumefaciens</i> Smith.)	Algérie, Tunisie, Jordanie et d'autres régions du bassin méditerranéen.	Bouzar <i>et al.</i> , (1991), Jardak <i>et al.</i> , (2004), Tombesi <i>et al.</i> , (2007).

3. 1. La verticilliose de l'olivier

3.1. 1 Définition et nomenclature

La verticilliose de l'olivier est une maladie cryptogamique dont l'agent étiologique est un champignon tellurique appelé *Verticillium dahliae* Kleb. (Klebahn, 1913). Cette maladie fongique a été signalée pour la première en Italie (Ruggieri, 1946), elle s'est ensuite répandue dans les pays oléicoles les plus importants où elle a infligé des pertes considérables (López Escudero et Mercado-Blanco, 2010). La dénomination de la maladie verticilliose tient de l'agent causal *Verticillium dahliae*, cette maladie est aussi appelée flétrissure verticillienne, trachéomyose et dépérissement de l'olivier. En Espagne, elle est connue sous le nom verticilosis del olivo, en Angleterre, verticillium wilt, en Italie tracheovorticiliosi, en russe vilt ucikanie et en arabe, Maradth dhouboul Azzaitoun (Tombesi *et al.*, 2007).

3.1. 2 Répartition géographique de la verticilliose de l'olivier

3.1.2. 1 Dans le monde

La verticilliose est une maladie émergente sur l'olivier qui a fait une étendue importante dans le monde (**Figure 7**), elle a fait l'objet de nombreux travaux de prospection et d'identification dans la plupart des pays oléicoles du monde. La première mention scientifique précise de cette maladie est due au Ruggieri en 1946 dans les oliveraies italiennes; depuis, de nouveaux foyers d'infestation dans différents pays de différents continents s'ajoutent annuellement. Citons en Europe, la Grèce (Demetriasdes *et al.*, 1958; Zachos, 1963), la France (Vigoureux, 1972), l'Espagne (Caballero *et al.*, 1980), le Malte (Porta-Puglia et Mifsud, 2005) et le Monténégro (Latinovic et Vucinic, 2010).

En Amérique, elle a été détectée au nord au, États-Unis d'Amérique (Snyder *et al.*, 1950; Boyle, 1963), en Amérique du sud en Argentine (Nicolini et Traversi *et al.*, 1950) et en Australie (Morschel, 1961).

En Asie, cette maladie a été signalée au Moyen-Orient dans la Jordanie (Mamluk *et al.*, 1984), la Syrie (Al-Ahmad, 1988), l'Iran (Sanei *et al.*, 1996), la Palestine (Bao *et al.*, 1998), l'Arabie saoudite (Al-Shebel, 2005), l'Égypte (Hegazi *et al.*, 2012), le Liban (Makhlouf et Geagea, 2005), l'Irak (Al Taae et Al Taae, 2008) et la Turquie (Saydam et Copcu, 1972).

Par ailleurs sa présence a été détectée en Afrique du Nord, notamment, au Maroc (Serrhini et Zeroual, 1995), en Algérie (Benchabane, 1990) et en Tunisie (Triki *et al.*, 2006). La présence de la maladie en Lybie, en Croatie et au Pirou est douteuse et que sa distribution est actuellement sous-estimée (Lopez *et al.*, 2011).

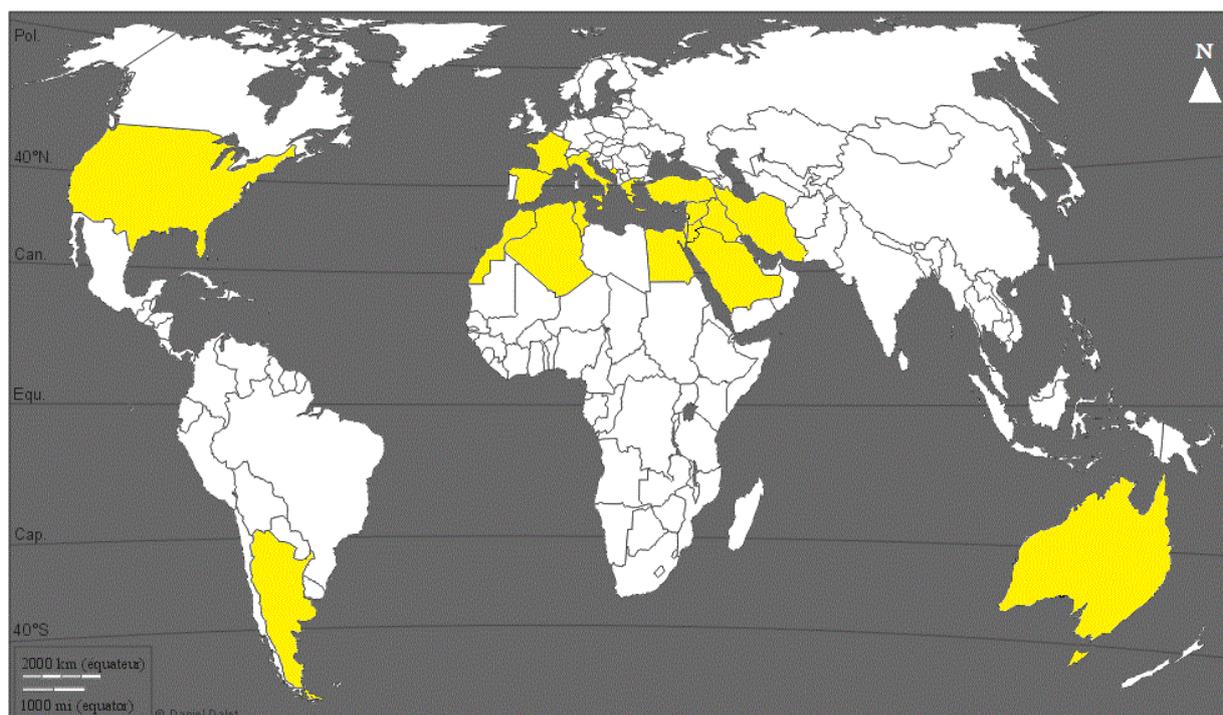


Figure 7: Répartition géographique de la verticilliose de l'olivier (Tombesi *et al.*, 2007; López Escudero et Mercado-Blanco, 2010).

3.1.2. 2 En Algérie

Tous comme dans les vergers de la plupart des pays oléicoles du monde, la maladie progresse de façon continue dans ceux de l'Algérie où elle est largement distribuée dans le Nord-ouest, le Nord-centre et le Nord-est de l'Algérie (**Figure 8**).

C'est dans le cadre du relevé général des maladies de l'olivier, que la verticilliose a fait sa première apparition au début des années 1990 simultanément à Cap Djinet (Boumerdes) et à Sidi Aïch (Bejaia) dans le Nord-Centre algérien (Benchabane, 1990). L'infestation dès lors a été détectée sur quelques oliviers dépéris de la variété Chemlal dont les attaques étaient peu étendues et d'intensité faible (Benchabane, 1990). L'absence de la verticilliose en Algérie dans la littérature avant les années 1990, n'écarte pas sa suspicion compte tenu la présence du pathogène dans nos sols bien avant chez la tomate (Boullinger en 1970) qui est cultivée en Algérie en intercalaire avec l'olivier.

Cette maladie a aussi été signalée dans le Nord-centre algérien à Tizi-Ouzou (Tirmitine) (INPV, 2010) et à Médéa (INPV, 2011), au Nord-ouest à Mascara (Sig et Mohammadia), à Tlemcen (Matallah-Boutiba *et al.*, 1996 et 1997; Bellahcene *et al.*, 2000; Abdelguerfi, 2003), à Mostaganem (Sayada et à El Hamadna) (INPV, 2010), à Sidi Bel Abbes (Sfisef) (Bellahcene *et al.*, 2000) et à Relizane (Yellel et El Djamaa) (INPV, 2010). Par ailleurs sa présence a été détectée dans les oliveraies de l'Est algérien notamment à Ain M'lila (Oum EL

Bouagui) (INPV, 2010), à Mila, à Sétif, à Constantine (Hamma Bouziane), à Batna et à Biskra (INPV, 2011).

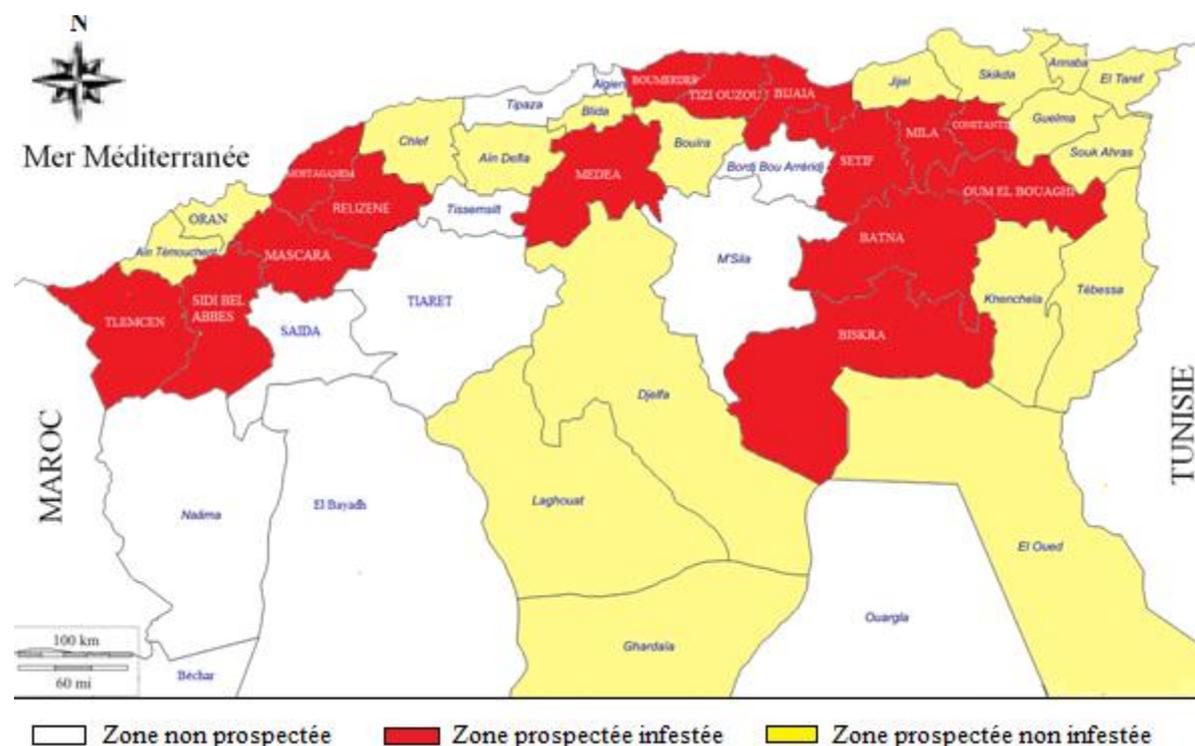


Figure 8: Distribution de la verticilliose d'olivier en Algérie (Benchaabane, 1990; Matallah-Boutiba *et al.*, 1997; Bellahcene *et al.*, 2004; Benchaabane *et al.*, 2010; INPV, 2010 et 2011).

Malgré la présence de la verticilliose dans pratiquement toutes les zones productrices d'olive en Algérie, Il faut signaler, que cette distribution n'est que partielle et non exhaustive et que son expansion sur l'ensemble du verger national n'étant pas parfaitement connue.

3.1. 3 Les symptômes

Les symptômes pathologiques externes de la verticilliose de l'olivier apparaissent traditionnellement sous une forme aiguë (dépérissement aigu) chez les jeunes arbres et une forme chronique (dépérissement lent) chez les vieux arbres (Jiménez-Díaz *et al.*, 1998; Bubici et Cirulli, 2011).

- Les symptômes du dépérissement aigu ou d'apoplexie se produisent à la fin de l'hiver ou au début du printemps. Ils se caractérisent par une fanaison rapide et grave des rameaux, des branches secondaires et principales présentant une écorce de couleur brun-violacé progressant de l'extrémité vers la base. Ces organes foliacés portent des feuilles qui se recroquevillent vers leur face inférieure et perdent leur coloration verdâtre pour virer au brun clair, ce qui induit leur dessèchement complet. Cette forme de verticilliose est communément mortelle aux jeunes arbres d'oliviers (Jiménez-Díaz *et al.*, 1998; Civantos, 1999; Tombesi *et al.*, 2007).

- Les symptômes du dépérissement lent commencent au printemps et progressent lentement jusqu'au début de l'été. Ils se caractérisent par une nécrose des inflorescences des oliviers infestés qui porte des fleurs sèches, momifiées ayant tendance à chuter. Les feuilles issues de bourgeons affectés deviennent vertes mat puis se dessèchent, les feuilles terminales restent attachées, se dessèchent et deviennent cassantes ayant tendance à chuter tandis que les fruits se momifient et restent suspendus aux rameaux malades. Cette forme de verticilliose s'accompagne de sorties importantes de rejets au pied de l'arbre (Civantos, 1999; Tombesi *et al.*, 2007).

Les symptômes pathologiques internes de la verticilliose de l'olivier se manifestent par un brunissement du xylème des branches infectées (Vigouroux, 1975; Tombesi *et al.*, 2007) et de cylindre central de système racinaire (Triki *et al.*, 2006). La sévérité des symptômes dépend principalement du type de sol, la densité d'inoculum, la virulence du pathogène, la susceptibilité du cultivar de l'olivier et les conditions environnementales (López-Escudero et Mercado-Blanco, 2010; Martin-Lapierre, 2011).

3.1. 4 Incidence économique

De toutes les espèces du genre *Verticillium*, l'espèce *V. dahliae* est la plus néfaste à cause de son large spectre d'hôtes et de la persistance de ces microsclérotés. L'incidence de la sévérité de la verticilliose de l'olivier s'accroît dans les pays où de nouvelles plantations sont en cours (Thanassouloupoulos *et al.*, 1979), de traditionnelles plantations sont en restructuration (López-Escudero *et al.*, 2009) et des oliveraies trop irriguées, présentant des cultures sensibles (Dervis *et al.*, 2010).

L'impact de cette maladie est sévère sur l'oliveraie au cours de la première année de son installation, et modérée avec le vieillissement de l'arbre (Wang *et al.*, 2012). Les dégâts de la verticilliose se manifestent par un brunissement des tissus vasculaires, un dessèchement des branches (secondaires et principales), des rameaux voire l'arbre entier, accompagnés d'une défoliation importante (Tombesi *et al.*, 2007). Un arbre dépéri et dépourvu de feuilles pousse difficilement, et va donc synthétiser de nouvelles feuilles au détriment d'autres organes (fleurs, fruits). Il en résulte, une baisse de production proportionnelle à l'intensité de l'attaque. En Grèce, la perte annuelle due à la verticilliose est estimée à 17000 tonnes d'olives à une intensité seulement de 2 à 3 % d'arbres atteints (Thanassouloupoulos *et al.*, 1979) puis de 50% (Tjamos, 1993). D'autres travaux rapportent des fréquences d'incidence des oliviers infectés de 3 % en Syrie (Al-Ahmad et Mosli, 1993), 38.5% en Italie (Nigro *et al.*, 2005), 27% en Espagne (Blanco-López *et al.*, 1984) et 12% en Algérie (Bellahcene *et al.*, 2000). En Algérie, la verticilliose est actuellement considérée comme un sérieux problème pour l'oléiculture,

d'ailleurs, elle en représente la principale maladie vasculaire et les pertes qu'elle inflige ne sont pas minimes (Matallah-Boutiba *et al.*, 1997; Benchaabane *et al.*, 2010).

3.1. 5 Gestion de la maladie

La lutte contre la verticilliose de l'olivier peut être préventive (mesures prophylactiques, sensibilité variétale) ou réactive (intervention avec un fongicide).

3.1.5. 1 Mesures prophylactiques

La prophylaxie est définie comme un ensemble de moyens de lutte préventifs employés pour diminuer la production, le développement ou la disponibilité de l'inoculum primaire ou secondaire d'une maladie. En lutte contre la verticilliose de l'olivier, il est recommandé de (Harir *et al.*, 2010):

- Éviter l'installation de nouvelles oliveraies dans des parcelles où une attaque de la verticilliose a été antérieurement signalée.
- Éviter l'introduction dans les vergers indemnes des plants d'espèces hôtes du parasite qui ne sont pas certifiés ou de fumier provenant de vergers atteints.
- Éviter de déplacer la terre d'une zone infestée vers des terrains déclarés indemnes.
- Déclarer le plus rapidement possible dès l'apparition des premiers symptômes de la maladie suite à une introduction accidentelle du parasite.
- Appliquer le système d'irrigation goutte à goutte ou irrigation par cuvette unique non communicante et assurer une bonne nutrition des arbres notamment la nutrition potassique

Compte tenu de la longévité des microsclérotés dans le sol, les pratiques culturales classiques: la rotation de culture (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 difficile 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).

3.1.5. 2 La lutte chimique

En pratique, la lutte chimique constitue et de loin la méthode la plus utilisée pour la gestion de la verticilliose (Yanguï *et al.*, 2010; Alfano *et al.*, 2011). Elle se fait par stérilisation du sol à l'aide de fumigants chimiques principalement le bromure méthylique; un liquide hautement volatil et toxique appliqué au sol à l'aide du système d'irrigation ou par injection, ce qui permet aux vapeurs de pénétrer les pores du sol en concentration suffisante pour tuer bactéries, champignons, nématodes et même certains insectes (Fravel et Larkin, 2000). La grande toxicité et la nature non spécifique de ce fumigant permettent de contrôler une grande variété de pathogènes telluriques et de mauvaises herbes (Martin Lapierre, 2011). Cette

désinfection du sol peut maximiser les rendements des plants et la qualité des fruits (Duniway, 2002). Cependant, l'efficacité du produit fumigé dépend grandement des conditions de température, d'humidité, des propriétés physico-chimiques du sol ainsi que de l'organisme visé (Martin Lapierre, 2011).

Actuellement, les alternatives chimiques au bromure méthylique les plus utilisées sont les fongicides systémiques telles que le fosethyl-Aluminium, le méthyl-thiophanate, le thiabendazole, le bénomyl et le carbendazime. Ces produits parfois utilisés en combinaison sont appliqués au sol, avant ou après plantation, ils sont absorbés par les racines et le feuillage, transportés par le xylème où ils inhibent la mitose du parasite en se liant à une protéine des microtubules empêchant leur réunion correcte dans le fuseau. De même, des injections directes sous forme de perfusions de ces mêmes fongicides dans les arbres n'ont pas montré d'efficacité (Henni, 1982; Boukenadel, 2001; Kumar *et al.*, 2012). Tous ces produits ne sont pas aussi efficaces que le bromure méthylique et doivent être combinés très souvent à d'autres méthodes de lutte (Martin Lapierre, 2011).

Ce recours aux produits chimiques, toujours valables dans certaines situations engendre cependant des coûts élevés et des impacts sur l'environnement par l'accumulation des résidus, la contamination des sols et des eaux souterraines. Ces dernières années, le nombre de produits chimiques enregistrés pour la désinfection du sol a considérablement baissé compte tenu de la sévère restriction imposée à leur usage, notamment le bromure méthylique qui a été interdit pour son gaz très néfaste à la couche d'ozone (Nannipieri *et al.*, 1990). Actuellement, aucun traitement chimique n'a prouvé son efficacité sur la verticilliose (Arslan et Dervis, 2010).

3.1.5. 3 La lutte biologique

Dans un contexte d'oléiculture durable respectueux de l'environnement, la lutte biologique peut offrir de nombreuses méthodes de lutte alternative au traitement chimique qui génère des souches de *V. dahliae* plus résistantes (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. Le biocontrôle de *V. dahliae*, repose principalement sur la croissance et le développement de certains micro-organismes dans la rhizosphère et sur leur capacité à coloniser les tissus végétaux. De nombreuses souches de bactéries et de champignons ont été testées sur *V. dahliae* telles 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; Porrás-Soriano *et al.*, 2006; Kapulnik *et al.*, 2010),

Rhizobium sp et *Trichoderma virens* (Hanson, 2000), *Penicillium griseofulvum* et *Talaromyces flavus* (Harir, 2010). L'application de ces organismes antagonistes peut contribuer à réduire la quantité d'inoculum primaire en interférant avec le cycle de l'agent pathogène. Ces antagonistes mettent en jeu des mécanismes complexes, difficiles à contourner par l'agent pathogène, tels que la compétition pour les nutriments, le parasitisme et l'antibiose (Martin Lapierre, 2011).

D'autres études ont démontré que l'incorporation de résidus de certaines plantes notamment les crucifères (*Brassica oleracea*, *Raphanus sativus* et *Sinapsis alba*) (López-Escudero *et al.*, 2007) permettait de réduire significativement l'incidence de la verticilliose chez différentes cultures. Ces plantes riches en glucosinolates, lors de leur décomposition, les glucosinolates sont transformés en isothio- et thiocyanates, molécules volatiles et toxiques pour *V. dahliae*. Cependant, ce moyen de lutte a malheureusement dévoilé des difficultés d'application au champ limitant ainsi son succès contre la verticilliose (Sanei *et al.*, 2010).

3.1.5. 4 La lutte génétique

Vu la pérennité de l'olivier et l'aptitude du parasite à survivre dans le sol et de se disperser facilement, la lutte génétique améliorant de nouvelles variétés résistantes à la maladie demeurerait le moyen économiquement le plus efficace pour contrôler ce fléau (Ma, 2003; Fradin et Thomma, 2006; Liu *et al.*, 2012). L'amélioration de la résistance des variétés fait appel à des méthodes classiques de sélection notamment les croisements et des méthodes de type biotechnologique. Certains travaux rapportent l'existence de variétés d'oliviers résistantes à *V. dahliae* telles que Cipressino ou Oblanga, d'autres variétés moins sensibles telles que Frantoio, Fragivento et Coratina d'origine italienne ainsi qu'Arbequina et Empeltre d'origine espagnole. Ces variétés pourraient donc être utilisées au moins comme porte-greffes résistants (Bellahcene, 2004).

En Algérie, les deux principales variétés à savoir Chemlal et Sigoise ont malheureusement démontré leur sensibilité à la verticilliose (Benchaabane, 1990; Matallah-Boutiba *et al.*, 1997; Bellahcene *et al.*, 2000, 2004, 2005; Benchaabane *et al.*, 2010). En parallèle, la superficie de ces variétés qui leur est allouée et sera programmée est très importante (Hadjou *et al.*, 2013), ce qui ne favorise pas la culture d'autres variétés moins sensibles à la verticilliose ayant une meilleure rentabilité.

Cependant, *V. dahliae* présente une diversité génétique importante qui lui confère une grande variabilité de pouvoir pathogène (Cherrab *et al.*, 2002). Le comportement des variétés d'olivier peut varier selon la souche du pathogène. 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). Cette résistance est contrôlée par plusieurs gènes, mais très peu de choses sont connues en ce qui concerne les mécanismes moléculaires. Malheureusement, l'utilisation de variétés d'olivier résistantes est souvent limitée par la qualité qui ne correspond pas aux attentes de la production, du commerce ou des consommateurs (Cherrab *et al.*, 2002).

3.1.5. 5 La lutte intégrée

La prise en conscience des limites des méthodes physiques, chimiques, biologiques et génétiques contre cette trachéomycose a incité les chercheurs à s'orienter vers le développement de la lutte intégrée. Cette lutte consiste à élaborer des stratégies phytosanitaires efficaces, durables et moins dispendieuses intégrant la combinaison complémentaire et raisonnée de diverses approches et méthodes (culturelle, physique, chimique, biologique et génétique), commençant avant l'établissement de la plantation et devrait se poursuivre durant le développement de la culture. Ceci 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).

3.1. 6 Description de l'agent pathogène (*V. dahliae*)

3.1.6. 1 Morphologie et physiologie

Le champignon *V. dahliae* est un parasite hémibiotrophe, saprophyte du sol (nécrotrophe) et parasite des plantes (biotrophe) (Hiemstra et Harris, 1998). Son développement *in vivo* nécessite un sol humide (40% à 80%) neutre à alcalin (Pegg et Brady, 2002), une courte photopériode et une fertilisation azotée excessive; ces facteurs prédisposent l'olivier à la maladie (Costache *et al.*, 1979). Le champignon *V. dahliae in vitro* a un taux de croissance relativement lent, il se développe différemment sur les milieux de culture communs aussi bien organiques (Richards, Czapek...) que synthétiques (PDA, MEA...) (Malik, 2008). Sa croissance *in vitro* est optimale aux températures de l'ordre 21 à 27°C (Bejarano-Alcázar *et al.*, 1996), avec un pH compris entre 6 et 9 (Pegg et Brady, 2002). La croissance est inhibée par des températures extrêmes telles que 5 ou 35°C (Malik, 2008) et des pH au-dessous de 5 (Pegg et Brady, 2002). *V. dahliae* présente une variabilité au niveau de la croissance radiale, de la morphologie culturale, de la sclérogénèse et de la conidiogénèse (López-Escudero *et al.*, 2003; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010). Notamment sur le milieu de culture PDA à une température de 25°C, le champignon développe un mycélium dense, hyalin, relativement ras

et d'aspect plus au moins cotonneux (Malik, 2008; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010; Harir, 2010).

Du point de vue morphologique, le champignon porte des conidiophores triverticillés avec trois à quatre phialides au sommet desquelles est disposée une masse mucilagineuse (sphérule) qui libère des conidies (Isaac, 1976) hyalines, unicellulaires et ellipsoïdales, elles mesurent entre 3-6 x 1.5-3 µm et peuvent être observées individuellement ou en groupe (Civantos, 1999; Martin-Lapierre, 2011). Les cellules des hyphes, les phialides et les conidies sont mononucléaires, mais le bout des hyphes peut avoir jusqu'à 15 noyaux (López-Escudero et Mercado-Blanco, 2010). Par ailleurs, *V. dahliae* produit sous certaines conditions des microsclérotés. Cette particularité permet de le distinguer de *Verticillium albo-altrum*, un autre pathogène causant des symptômes similaires sur les plantes (Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010). Les microsclérotés sont des structures de survie formées par l'agglomération d'hyphes contigus dont les parois sont épaissies et mélanisées (Klosterman *et al.*, 2009). Les agglomérats formés ont l'aspect de petites boules marron foncé à noires (entre 20 et 200 µm de diamètre) pouvant être séparées des hyphes (Pegg et Brady, 2002).

La genèse des microsclérotés vient d'un seul hyphe qui se gonfle et se bourgeonne successivement en sa partie latérale, menant ainsi à la formation d'un amas de cellules (Hall et Ly, 1972; Perry et Evert, 1984), dont chacune a une forme allongée ou sphérique irrégulière et un diamètre de 15-50(-100) µm (Hawksworth et Talboys, 1970; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010).

3.1.6. 2 Taxonomie

La taxonomie du genre *Verticillium* a été revue graduellement dans les travaux de plusieurs auteurs en fonction de l'évolution des méthodes d'analyses (Fradin et Thomma, 2006; López-Escudero et Mercado-Blanco, 2010; Martin-Lapierre, 2011; Inderbitzin *et al.*, 2011; 2013).

Ces travaux le classe comme suit:

Règne ----- Fungi
 Phylum ----- Ascomycota
 Sub-phylum ----- Pezizomycotina
 Classe ----- Sordariomycètes
 Sous classe ----- Incertae sedis
 Ordre ----- Phyllachorales
 Famille ----- Plectosphaerellaceae
 Genre ----- *Verticillium*

Le genre *Verticillium* est composé de dix espèces phytopathogènes vasculaires avec des conidiophores verticillés qui produisent des structures de dormance de couleur brune (Inderbitzin *et al.*, 2011 et 2013). L'espèce *V. dahliae* a été signalée pour la première fois en 1816 par von Nees (Isaac, 1967), mais elle n'a été identifiée comme espèce distincte qu'en 1913 par Klebahn en Allemagne à partir du dahlia (Isaac, 1967; Pegg et Brady, 2002). Ce mycète est imparfait, haploïde et dimorphe (Pegg et Brady, 2002; Klosterman *et al.*, 2009).

3.1.6. 3 Gammes d'hôtes

Le dahlia fut la première plante hôte qui a été attaquée par *V. dahliae* (Isaac, 1976). Ce parasite est extrêmement polyphage puisqu'il peut attaquer plus de 400 espèces de plantes de genres et familles différents dans les régions tempérées, subtropicales, voire tropicales (Pegg and Brady, 2002; Klosterman *et al.*, 2009; Martin-Lapierre, 2011). Parmi les plus menacées des plantes à intérêt agronomique et économique figure des arbres fruitiers (l'olivier, l'amandier, l'abricotier, le pêcher, le prunier, le noyer et l'avocatier) (Tjamos, 1989); des arbustes fruitiers (l'argousier, la vigne, le cerisier, le pistachier et le fraisier) (Rousseau, 2002); des arbres forestiers (hêtre et orme) (Pegg et Brady, 2002); des plantes herbacées aussi bien maraîchères (pomme de terre, tomates, poivron, luzerne et aubergine) ; qu'ornementales (chrysanthème, rosier et lychnis) (Fradin et Thomma, 2006; Wang *et al.*, 2012) ; des légumes (chou-fleur, artichaut, laitue, concombre, betteraves, gombo et rhubarbe) (Tjamos, 2000); d'autres cultures (coton, melon, pastèque, colza, érable, soja, menthe et tabac) (Veronese *et al.*, 2003; Zhu *et al.*, 2007; Tohidfar *et al.*, 2012) ainsi que des adventices (morelle noire et amarante) et même des céréales (houblon) (Thanassouloupoulos *et al.*, 1981; Yildiz *et al.*, 2009).

Les espèces hôtes semblent être restreintes aux dicotylédones, mais l'utilisation de méthodes de détection du champignon *in planta* montre que *V. dahliae* est aussi capable d'infecter et de coloniser les monocotylédones telles que le blé (Mathre, 1989; Malcolm *et al.*, 2013). De manière peut-être surprenante, les agrumes en sont résistants (Tjamos, 1989).

Parmi les dicotylédones, il existe des espèces sauvages asymptomatiques (*Trifolium sp*) et symptomatiques (*Capsella bursa-pastoris*). Il se peut que des hôtes asymptomatiques soient des plantes utilisées pour la rotation de cultures ou des mauvaises herbes présentes dans les champs de culture et puissent servir de réservoir d'inoculum. Le fait que *V. dahliae* puisse être endophyte pour d'autres plantes a donc une certaine importance et doit être considéré dans des schémas de rotation pour le contrôle de la verticilliose (Ligoxigakis *et al.*, 2002).

3.1.6. 4 Cycle biologique

Le cycle biologique de *V. dahliae* se déroule en trois phases (Hiemstra et Harris, 1998), une phase de dormance dont les conditions ne sont plus favorables, une phase parasitaire qui se

déroule dans la plante-hôte et une phase saprophytique qui comprend une période d'activité (**Figure 9**).

La phase de dormance commence lorsque les conditions ne sont plus favorables pour la croissance, le pathogène forme des structures de survie (microsclérotés) qui peuvent pérenniser plus de 14 ans dans le sol aux dépens des débris végétaux et des matériaux organiques (Wilhelm, 1955; Triki *et al.*, 2006) constituant ainsi une source d'inoculum. Dans la nature, l'infection peut avoir lieu même lorsque le pathogène est présent en très faibles quantités dans le sol. Des niveaux aussi bas qu'un microsclérote par gramme de sol suffisent pour causer des symptômes d'infection chez une plante. Les microsclérotés germent dans la rhizosphère (environ 2 mm de la radicelle) en réponse à la présence d'exsudats racinaires de l'olivier (Pegg et Brady, 2002).

La phase parasitaire du champignon débute par la germination des microsclérotés qui atteindra les racines de l'olivier dans le sens d'un gradient de nutriments (Huisman, 1982). Il en résulte une émission des hyphes qui colonisent le cortex des racines, y pénètrent par l'extrémité ou par les cellules épidermiques (Garber, 1966) puis gagne via la sève les vaisseaux du xylème; 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 (Garber, 1966). La poursuite ainsi de l'infection du système vasculaire et les 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 donc des symptômes de flétrissement se déclenchent sur les parties aériennes atteintes (Tombesi *et al.*, 2007; Laoune *et al.*, 2011).

La phase saprophytique du champignon débute par sa sortie du cylindre central pour coloniser tous les tissus de la plante où il forme des microsclérotés dans le parenchyme (Schnathorst, 1981; Neumann et Dobinson, 2003). Les microsclérotés vont se retrouver encastrés dans les débris de la plante morte et constituent une source d'inoculum qui 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. (Pegg et Brady, 2002; Klosterman *et al.*, 2009; Chawla *et al.*, 2012). Les microsclérotés 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 de bonnes

conditions de température et d'humidité du sol et par conséquent la reprise d'un nouveau cycle infectieux (Fradin et Thomma, 2006; Klosterman *et al.*, 2009).

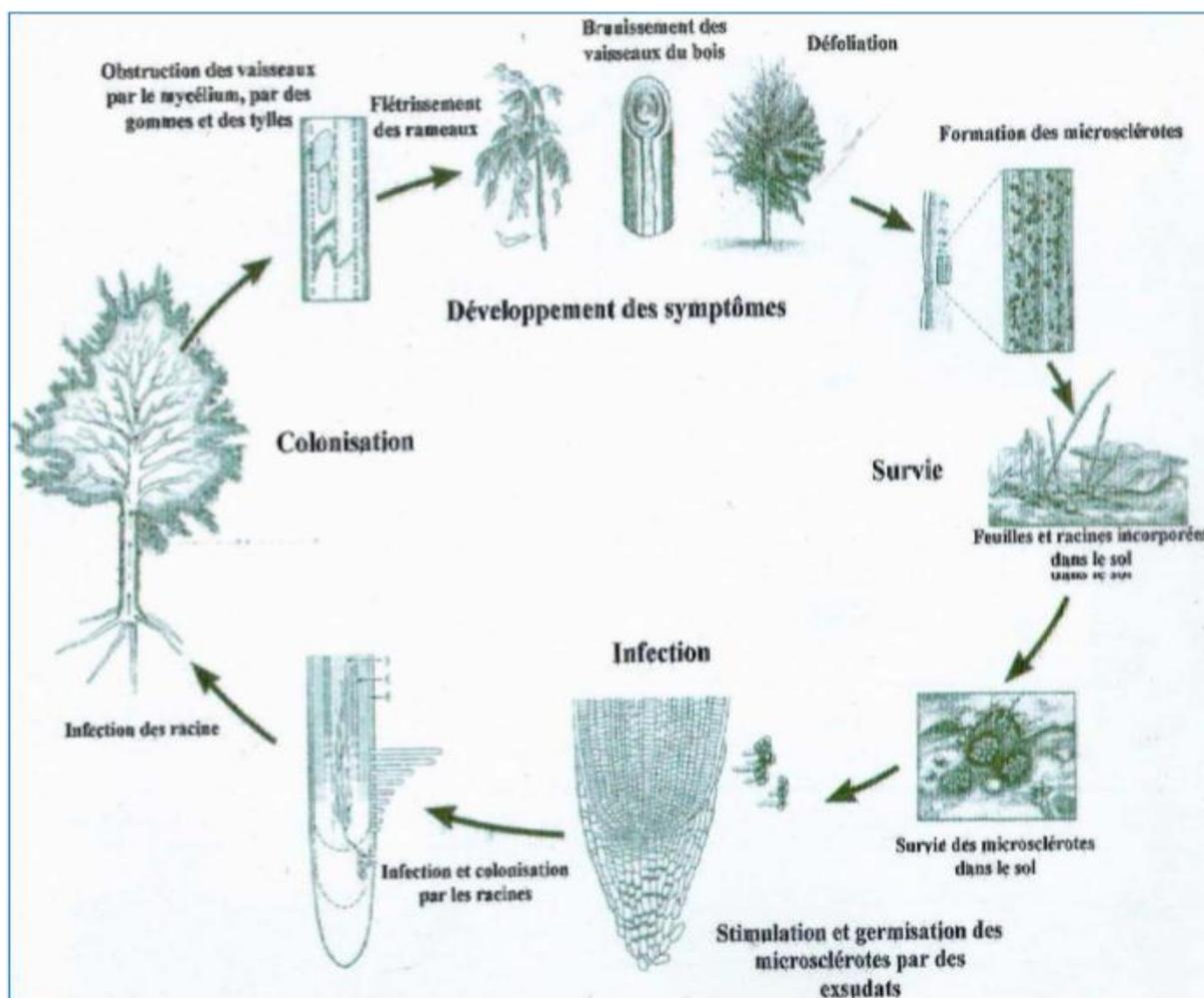


Figure 9: Présentation du cycle d'infection de *V. dahliae* kleb. (Hiemstra et Harris, 1998).

3.1.6. 5 Le pouvoir pathogène

L'aptitude pathogénique d'un microorganisme est évaluée traditionnellement selon deux critères; l'un qualitatif, c'est sa virulence mettant en œuvre sa capacité à infecter les plantes, l'autre quantitatif c'est son agressivité, démontrant son influence ou non à intensifier les dégâts sur une plante sensible (Bellahcene, 2004).

Dans une population de *V. dahliae* présentant les mêmes caractéristiques de virulence, les individus peuvent différer par leur niveau d'agressivité. L'agressivité de l'espèce *V. dahliae* vis-à-vis de l'olivier le partage en deux pathotypes ; défoliant (D) et non défoliant (ND) selon leur capacité à défolier la plante hôte (López-Escudero *et al.*, 2004; Dervis *et al.*, 2007). Les isolats du pathotype (D) sont plus virulents que ceux du pathotype (ND) (López-Escudero *et al.*, 2007). Cependant, il y a une difficulté pour déterminer la classification de *V. dahliae* en raison de l'absence de la forme spéciale, donc la distinction de groupes bien définis par différents critères est souvent délicate (Inderbitzin *et al.*, 2011; 2013).

3. 2.La pourriture racinaire de l'olivier

3.2. 1 Définition et nomenclature

La pourriture racinaire de l'olivier est une maladie vasculaire mortelle pour l'olivier, elle est causée par un complexe de champignons telluriques (Tombesi *et al.*, 2007): *Rhizoctonia bataticola* (Taubenhaus, 1913), *Armillaria mellea* Kumm., *Fusarium solani* Sacco., *Corticium rolfsi* Curzi., *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora megasperma*, *Corticium solani*, *Rosellinea necatrix*. Ces mycètes agissent en synergie, tenant chacun sa part à l'infection (Boulila *et al.*, 1993; Boulila, 2001). En dehors de ces myco-pathogènes, *Stemphylium botryosum* Wallr. (Wallroth, 1833) dans le cas d'attaque importante, peut infester l'olivier (De Andrés Cantero, 1975; Al-Shebel *et al.*, 2005). Cette maladie est sous la nomination de *Root rot* en anglais, *Decaimiento del olivo* ou *Podredumbre de las raíces* en espagnol, *Putrefazione delle radici* ou *Deperimento dell'olivo* en italien, pourriture racinaire, dépérissement de l'olivier en français (Tombesi *et al.*, 2007).

3. 2. 2 Les symptômes

Les symptômes de la pourriture racinaires se manifestent généralement par des oliviers grêles, les branches portent des feuilles réduites en taille et en nombre. Ces dernières prennent un aspect jaunâtre au printemps et qui, plus tard en l'occurrence en été, s'accroît pour devenir jaune doré. Cette couleur persiste durant toute la saison estivale, mais avec l'arrivée de l'automne, le végétal commence à retrouver plus ou moins son aspect normal. En effet, son feuillage devient de couleur vert-pâle (surtout après une pluie); toutefois, il garde son aspect faible et dégarni (Boulila *et al.*, 1993).

Par forte attaque, les feuilles commencent à se nécroser par leur bout et finissent par se dessécher. Il s'en suit une chute non négligeable qui se répercute sur les inflorescences qui se déshydratent, brunissent et meurent. Si la nouaison a lieu, les fruits restent limités en nombre, perdent de volume, deviennent ridés et tombent. Dans certaines situations, l'olivier est foudroyé à un tel point que les fruits restent adhérents au pied (Boulila *et al.*, 1993).

Sur les jeunes plants de pépinières, les plants attaqués montrent un dessèchement des nouvelles pousses, des pourritures et des nécroses à proximité de la base du tronc et au niveau de l'écorce des racines secondaires. Cette attaque provoque soit le déclin général de l'arbre, soit le dessèchement de quelques pousses seulement (Tombesi *et al.*, 2007). Les symptômes internes de cette trachéomycose s'observent sur des coupes transversales au niveau des racines qui montrent un brunissement des vaisseaux conducteurs de sève (Tombesi *et al.*, 2007).

3. 2. 3 Incidence économique

La pourriture racinaires de l'olivier sévit surtout dans les régions chaudes (température du sol supérieure à 28°C (D'hondt-Defrancq, 1984). Les jeunes arbres sont généralement les plus vulnérables (Tombesi *et al.*, 2007). En Tunisie, tout comme en Algérie, le nombre d'arbres d'olivier atteints par ce dépérissement est extrêmement limité et ne constitue pas, pour l'heure, un véritable danger (Boulila *et al.*, 1993).

3.2. 4 Description des agents pathogènes (*R. bataticola* et *S. botryosum*)

3.2.4. 1 Morphologie et physiologie des pathogènes

Le champignon terricole *Rhizoctonia bataticola* peut être cultivé facilement sur la plupart des milieux de culture communs de laboratoire présentant une variabilité morphologique et génotypique (Dhingra et Sinclair, 1973). En culture pure, sur PDA, il développe un mycélium hyalin grisâtre qui brunit rapidement, après deux ou trois jours apparaissent sur l'oblique, à la limite du milieu de culture et sur le verre, des sclérotés, ces derniers sont des agrégats des hyphes qui donnent naissance à des corps multicellulaires (50-200 cellules) noirs, de formes et dimensions variables (50-150µm) (Short et Wyllie, 1978; Boulila *et al.*, 1993). Microscopiquement, ce mycète s'identifie par un mycélium stérile, ramifié à angle droit ou de 45° (Alabouvette et Bremeersch, 1975; El Mahjoub et Bouzaïdi, 1987) et également par la production des pycnides (Shaw, 1925; Crous *et al.*, 2006) qui produisent des pycnidiospores (16-) 20-24 (-32) x µm (6-)7-9 (-11) de forme ellipsoïdale (Short et Wyllie, 1978). Le champignon présente également une variabilité physiologique, mais généralement il se développe rapidement entre 25 et 35 °C (Mathieu et Mathieu, 1976; Csöndes *et al.*, 2012) et tolère un pH allant de 5 à 8 *in vivo* (Satischandra *et al.*, 1980) et de 3 à 8 *in vitro* (Csöndes *et al.*, 2012).

Le mycète *Stemphylium botryosum* se plaît dans les différents milieux de culture communément utilisés en Phytopathologie (PDA, CDA, BDA, LDA, V8 agar...) (Hashemi *et al.*, 2005; Mwakutuya, 2006; Hosen *et al.*, 2009). Au point de vue morphologique, ce champignon présente sur milieu PDA un mycélium velouté à cotonneux de couleur olive à brun olive (Simmons, 1967; Mwakutuya, 2006), de revers pigmenté en noir (Larone, 1995). Leurs conidiophores sont courts, non septés, à extrémité renflée, produisant des conidies à travers un pore, ces dernières sont brunes pluricellulaires, septées longitudinalement et transversalement, cylindriques à extrémités renflées (Wehmeyer 1961 et 1975) (24-33 × 15-24 µm), échinulées (Simmons, 1967 et 2007). Le champignon tolère *in vitro* une gamme de températures allant de 5 à 35 °C avec un optimum de 25 °C (Hashemi *et al.*, 2005; Hosen *et al.*, 2009) et se plaît à un pH optimal de 5.5 (Hosen *et al.*, 2011).

3.2.4. 2 Taxonomie

R. bataticola est la phase sclérote (stade anamorphe) de *Macrophomina phaseolina* (Dhingra et Sinclair, 1978), il a été décrit pour la première fois comme une espèce distincte par Taubehaus en 1913, la littérature (Anonyme, 2012) le classe comme appartenant au:

Règne ----- Fungi
 Phylum -----Basidiomycota
 Sub-phylum -----Agarimycota
 Classe -----Basidiomycète
 Sous classe ----- Agarimycota mitosporic
 Ordre-----Polyporales
 Famille -----Corticiaceae
 Genre -----*Rhizoctonia*
 Espèce ----- *R. bataticola* (Taub)

S. botryosum est le stade anamorphe (forme imparfaite) de *Pleospora herbarum* (Kiffer et Morelet, 2000), il a été décrit pour la première fois comme une espèce distincte en 1833 par Wallroth, selon Inderbitzin *et al.* (2009) sa taxonomie est la suivante:

Règne -----Fungi
 Phylum-----Ascomycota
 Sub-phylum -----Pezizomycotina
 Classe-----Dothideomycetes
 Sous classe ----- Pleosporomycetidae
 Ordre -----Pleosporales
 Famille -----Pleosporaceae
 Genre -----*Stemphylium*
 Espèce -----*S. botryosum* (Wallr).

3.2.4. 3 Gamme d'hôtes

Le champignon *R. bataticola* sévit dans les pays subtropicaux et tropicaux avec un climat semi-aride (Wrather *et al.*, 2001) où il provoquent des pourritures diverses (Raut, 1987) sur plus de 500 plantes (Sharma *et al.*, 2009). Alors que le champignon *S. botryosum* a été signalé comme très répandu dans les régions tempérées et subtropicales, ou il sévit sur une large gamme de récoltes économiquement importantes (Mwikutuya, 2006) (Tableau 2).

Tableau 2: La polyphagie des deux champignons; *R. bataticola* et *S. botryosum* sur les plantes.

Champignons	Plantes sensibles	Références bibliographiques
<i>Rhizoctonia bataticola</i> Taub.	l'olivier, le tournesol, le soja, la mangue, la pomme de terre, le cotonnier, le pois chiche, l'haricot, les agrumes, le théier, le caféier, sésame, maïs, sorgho, cocotier, tabac, le concombre, la courge, le potiron, le tournesol, l'arachide, et lesoja.	Meiffren, (1957), Manthachitra, (1971), Alabouvette et Bremeersch, (1975), Mathieu et Mathieu, (1976), Vyas et Chhatpar, (1979), El Mahjoub et Bouzaidi, (1987), Maholay, (1988), Mathur, (1990), Shakir et Mirza, (1992), Amadioha et Oladiran, (1993), Boulila <i>et al.</i> , (1993), Aghakhani, (2009), Shakir <i>et al.</i> , (1995), Sharma <i>et al.</i> , (2009), Senthilkumar <i>et al.</i> , (2009).
<i>Stemphylium botryosum</i> Wallr.	l'olivier, le coton, la tomate l'ail, la mangue, la poire, l'oignon, le poireau, le colza, l'asperge, la laitue, la plupart des légumineuses ; l'épinard l'haricot, la fève, le lupin, la luzerne, la lentille et le trèfle.	Diener, (1955),Graham, (1957), DeAndrés Cantero, (1975), Bashi et Rotem, (1975), Sivan et Barkai-Golan, (1976), Malathrakis, (1979), Johnson, (1990), Bakr et Ahmed, (1992), Menzies <i>et al.</i> , (1992), Aveling et Snyman, (1993), Boiteux <i>al.</i> , (1994), Correll <i>et al.</i> , (1994), Montesinos <i>et al.</i> , (1995), Singh <i>et al.</i> , (1999), Wang <i>et al.</i> , (2000), Mwakutuya, (2006).

3.2.4. 4 Cycle biologique des parasites

R. bataticola est un phytopathogène facultatif, saprophyte de sol et parasite de faiblesse de l'olivier (Boulila *et al.*, 1993). Il dispose de potentialités saprophytiques importantes dans le sol, où il survit sous forme des microsclérotés jusqu'à quatre années aux dépens de la matière organique morte disponible (Boosalis et Scharen, 1959; Kaiser et Das, 1988). Ces structures de résistance offrent au mycète la particularité de tolérer les températures au-dessus de 30°C et les sols dont la teneur est faible en matières nutritives (Cloud et Rupe, 1991). Suite à certaines conditions (température entre 28 et 35°C, stress hydrique, sol peu profond), les exsudats racinaires de la plante hôte induisent la germination des microsclérotés, sur la surface racinaire, il en résulte des hyphes qui pénètrent les cellules épidermiques par une pression mécanique et une digestion enzymatique (Dhingra et Sinclair, 1977) (**Figure 10**). Les hyphes se développent tout d'abord de façon intercellulaire dans le cortex, puis intracellulaire par l'intermédiaire du xylème, une fois dans les vaisseaux conducteurs, le parasite se propage à travers la racine pivotante, et colonise la base de la tige de la plante hôte. La formation des microsclérotés a lieu en fin de cycle végétatif dans les vaisseaux conducteurs

de la plante hôte (Wyllie, 1988) causant leur obstruction (Agrios, 1988). Les plantes fortement infestées meurent prématurément en raison de la production de toxine phaséolinone fongique (Bhattacharya *et al.*, 1994). Les microsclérotés dans le sol, les racines de la plante hôte et les tiges sont les propagules principales de survie. Après affaiblissement des parties végétales infestées, les microsclérotés se déchargent dans le sol pour se localiser principalement à une profondeur de 0-20 centimètres (Mihail, 1989; Campbell et Van der Gaag, 1993). Il est présumé qu'une éventuelle attaque de *R. bataticola* serait facilitée par la présence de scolytes (*Hylesinus* spp.) sur les oliviers malades, car l'infection se manifeste davantage sur des végétaux affaiblis ou vivant dans des conditions de stress (Boulila et Mahjoub, 1994).

Quant au *S. botryosum*, il n'existe presque aucun travail sur l'épidémiologie de ce champignon chez l'olivier. Cependant, il a été signalé comme parasite facultatif, saprophyte de sol et parasite secondaire de l'olivier (Al-Shebel *et al.*, 2005). Pendant sa phase saprophytique, le mycète habite le sol et survit sur les débris végétaux, sous sa forme mycélienne, par l'intermédiaire de ses périthèces (Mwakutuya, 2006). Ces dernières germent à une température de 5 à 10°C et une humidité de 96% (Basallote-Ureba *et al.*, 1998). Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies et envahit le tissu végétal de la plante hôte, produisant ainsi des phytotoxines (Stemphytoxine, Alvertoxine) (Davis et Stack, 1991). La reprise de l'infection pourrait se reproduire en cas de dispersion des spores par le vent et les projections d'eau consécutives à une pluie ou une irrigation. Les rosées matinales favorisent également son développement, ainsi que des périodes climatiques humides et relativement froides (Prados-Ligero *et al.*, 2003) (**Figure 11**).

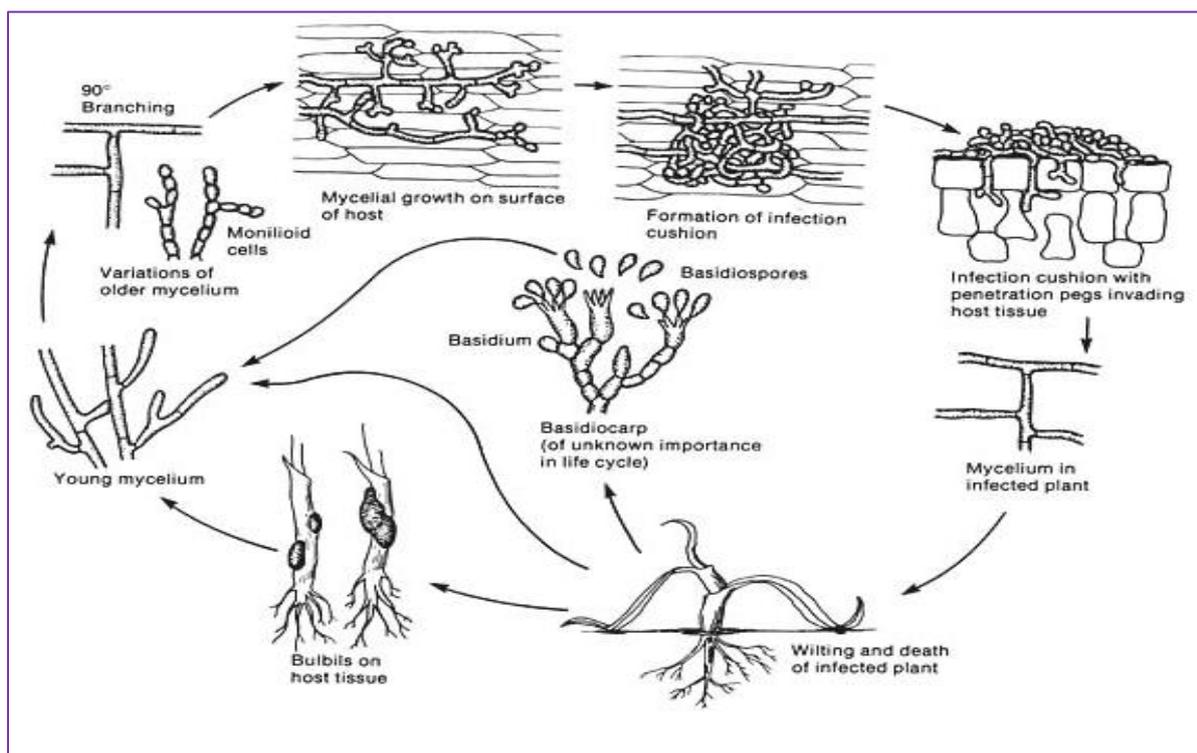


Figure 10: Présentation du cycle d'infection de *Rhizoctonia* sp. (Dhingra et Sinclair, 1977).

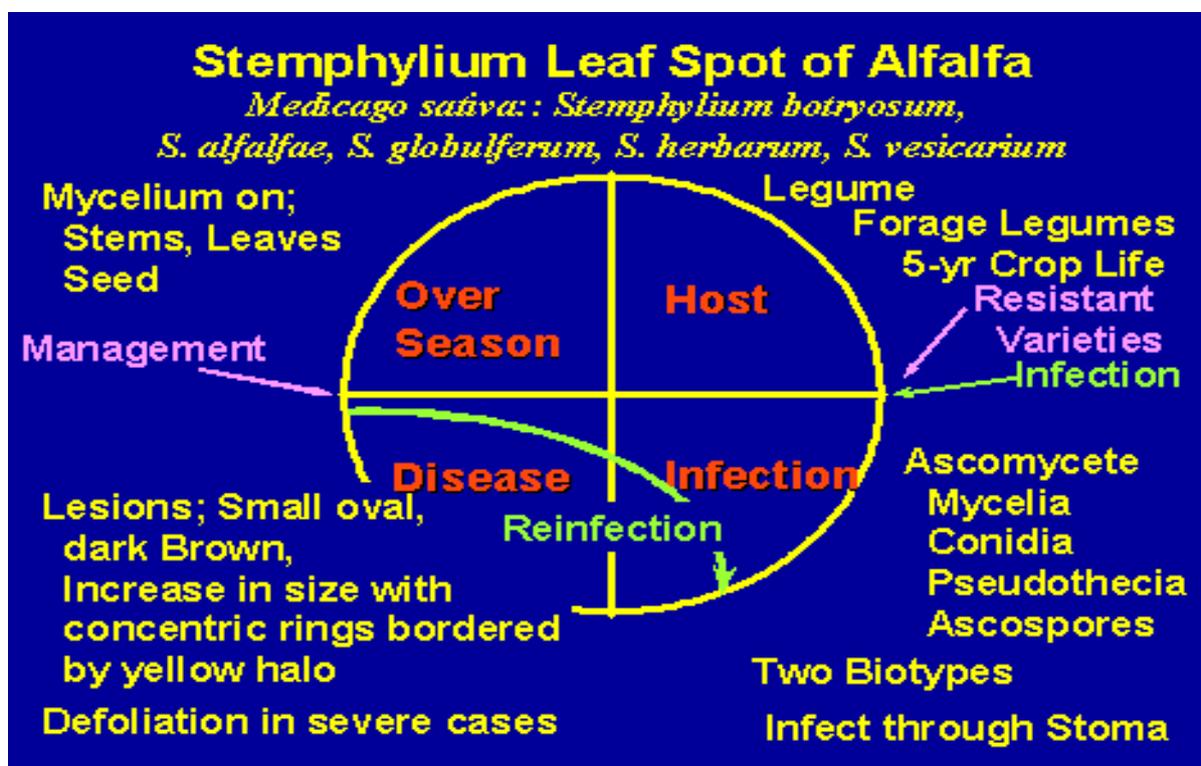


Figure 11: Présentation du cycle d'infection de quelques espèces de *Stemphylium* chez d'Alfalfa (Mwakutuya, 2006).

3. 3. La Fumagine de l'olivier

La Fumagine de l'olivier est une maladie cryptogamique provoquée par plusieurs espèces fongiques (*Capnodium meridionale*, *Capnodium oleae*, *Towba spp*, *Triposporium spp*,.....) (Al-Shebel *et al.*, 2005) qui se développent dans certaines température et humidité aux saisons (printemps, automne) sur du miellat, substrat secrété par les pucerons et les cochenilles, insectes piqueurs qui sucent la sève de l'olivier (Guario *et al.*, 2002). La maladie se caractérise par une poussière noire sur le bois et les feuilles de l'arbre, ce qui nuit à la photosynthèse de l'arbre et l'empêche de respirer, et par conséquent limite sa production. La Fumagine est aussi appelée Cochenille noire ou Cochenille tortue, en Espagne, elle est connue sous le nom Cochinita negra, en Angleterre, Black scale, en Italie Cocciniglia mezzo grano di pepe, en Portugal Ennemcha et en arabe, Essaouda (Tombesi *et al.*, 2007).

3. 4. La Tavelure de l'olivier

La Tavelure de l'olivier est une maladie cryptogamique causée par le champignon *Spilocae oleagina*, qui attaque les feuilles et les fruits au printemps et en automne lorsque l'atmosphère est douce et humide (Guzman-Alvarez *et al.*, 2007). Des lésions sur la face supérieure des feuilles, sous forme de petites taches blanc gris, brun noirâtre, jaune orangé ou verdâtre, marquées de cercles concentriques, sont typiques à cette maladie (Guechi et Girre, 2000). À terme, elle entraîne la chute des feuilles atteintes, ce qui affaiblit l'olivier et nuit à la qualité des olives. La Tavelure est aussi baptisée Œil de paon et Cyclonium, en Espagne, elle est connue sous le nom Repilo, en Angleterre, Olive leaf spot, en Italie Occhio di pavone, en Portugal Olho de pavao et en arabe, Ain Taous (Tombesi *et al.*, 2007).

3. 5. La Tuberculose de l'olivier

La Tuberculose de l'olivier est une bactériose due au *Pseudomonas savastanoi*, qui dans certaines températures élevées et de fortes pluies, infecte le système de circulation de la sève à l'occasion d'une plaie de l'écorce de bois causée par la grêle, le vent, la chute des feuilles, la taille, le greffage (Campos *et al.*, 2009). Des excroissances de bois ressemblant à des verrues ou des tumeurs parenchymateuses sur le bois sont caractéristiques de la maladie. En cas de forte attaque, les rameaux perdent leur feuillage et se dessèchent, affectant ainsi le rendement et la qualité de l'huile d'olive (Benyoub, 2010). La Tuberculose est aussi appelée Chancre bactérien, au Rougne. En Espagne, la maladie est connue sous le nom Tuberculosis, en Angleterre, Olive Knot disease, en Italie Rogna del olivo, en Portugal Tuberculose da oliveira et en arabe, Maradth essoul (Tombesi *et al.*, 2007).



Chapitre II

Matériel et méthodes

1. Prospections et localisation des zones d'étude

1. 1 Prospections

Les prospections sont effectuées en Février, Avril, Mai et Juin 2011 dans cinq vergers d'oliviers dont trois sont situés dans la Wilaya d'Oran (communes d'El Kerma, Benfreha, Ain Tessa); un à Douar Nesmot (Wilaya de Mascara) et un dans la commune de Sfisef (Wilaya de Sidi Bel Abbès) (**Figure 12**).

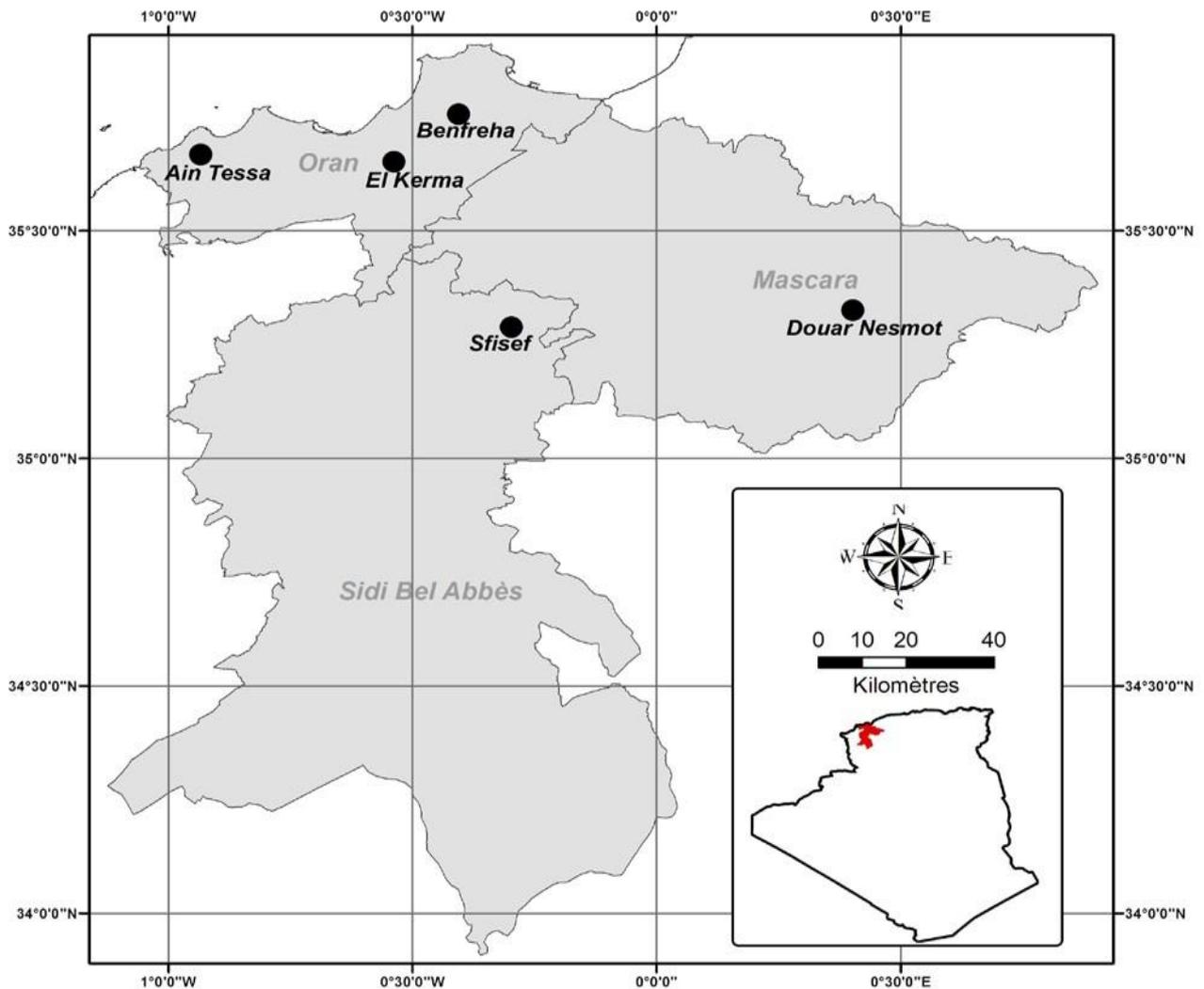


Figure 12: Localisation géographique des trois Wilayas oléicoles prospectées.

1.2. Caractéristiques des vergers d'oliviers prospectés

Les paramètres climatiques (température, pluviométrie) des trois Wilayas où sont localisés les vergers d'oliviers prospectés sont regroupés dans le **tableau 3**.

Les caractéristiques culturelles des cinq vergers d'oliviers prospectés (situation géographique, superficie occupée par les trois variétés d'oliviers (Chemlal, Sigoise et introduite), l'âge des plantations et le nombre d'arbres par vergers) sont récapitulées dans le **Tableau 4**.

Tableau 3: Illustration des paramètres climatiques (Température en °C et pluviométrie en mm) mensuels des trois Wilayas oléicoles en 2011.

	Mascara				Sidi Bel Abbès				Oran			
	T° min	T° max	T° moy	Plu	T° min	T° max	T° moy	Plu	T° min	T° max	T° moy	Plu
Février	02.3	15.3	8.8	25.1	01.2	15.5	8.35	16.1	5.4	17.5	11.65	27.9
Mars	06.5	19.7	11.6	18.5	04.1	19.5	11.8	16.6	9.1	21.0	15.05	16.7
Avril	10.7	25.8	18.3	88.8	08.6	25.1	16.85	67.8	13.4	23.6	18.5	47.7
Mai	13.6	26.9	20.25	50.6	12.2	26.5	19.35	61.7	15.5	25.5	20.5	49.9
Juin	15.8	31.7	23.75	49.3	14.5	32.0	22.25	18.0	17.8	29.3	18.55	11.6

Tableau 4: Présentation des caractéristiques culturelles des cinq oliveraies prospectées.

Localisation géographique des oliveraies	Âge de plantation	Superficie en ha	Intensification	Nombre de pieds	<i>Olea europea</i> Var.
Douar Nesmot (Mascara)	3 ans	2	4m x 5m	100	Sigoise
Commune de Sfifef (Sidi Bel Abbès)	6 ans	9	4m x 7m	800	Chemlal
EL Kerma (Oran)	6 ans	8	4m x 5m	1200	Introduite
Benfreha (Oran)	5 ans	2	4m x 5m	200	Sigoise
Ain Tessa (Oran)	Adulte	2	4m x 5m	200	Sigoise

2. Origine du matériel fongique

2.1 Estimation de l'incidence des maladies de l'olivier

Au cours des prospections de chaque oliveraie, le nombre de pieds d'oliviers malades est évalué par rapport au nombre total d'arbres. Les arbres malades présentant des symptômes de verticilliose, pourriture racinaire, fumagine, tavelure et tuberculose de l'olivier sont estimés selon ce protocole décrit par Clive-James (1974).

2.2 Prélèvement des échantillons

Des fragments de rameaux d'arbres malades présentant des symptômes typiques de la verticilliose et la pourriture racinaire sont prélevés à partir de trois variétés d'olivier (Sigoise, Chemlal et introduite). Les fragments obtenus à l'aide d'un sécateur sont mis dans des sacs stériles avec des étiquettes portant les références de dix échantillons collectés, dont six de l'oliveraie de Sfifef (Sidi Bel Abbès), trois de Douar Nesmot (Mascara) et un d'EL Kerma (Oran). Les échantillons sont transportés au laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des

sciences de la nature et de la vie de l'Université de Djillali Liabès de Sidi Bel Abbès, conservés à une température de 4°C.

3. Isolement de l'agent pathogène de l'olivier

3. 1 Isolement à partir de fragments de rameaux

L'isolement des champignons est effectué à partir de fragments de rameaux malades là où les tissus sont encore verts, présentant un aspect sain. La technique utilisée consiste l'élimination des couches externes du matériel végétal, le lavage avec de l'eau courante et le découpage en petits fragments au niveau du xylème. Les fragments obtenus sont trempés dans une solution de l'hypochlorite de sodium à une concentration de 5%, pendant un intervalle de temps de 2-3 minutes, rincés trois fois successives à l'eau distillée stérile. Ensuite, les fragments sont séchés sur du papier-filtre stérile, déposés sur la surface du milieu de culture PDA additionné d'antibiotiques, incubés à une température de 25°C à l'obscurité, pendant sept jours (**Figure 13**) (Rappily, 1968).

Le milieu PDA en surfusion à 45°C est additionné de la streptomycine et la chloramphénicol à raison de 50mg/100ml, pour minimiser la contamination bactérienne (**Annexe**) (Boukenadel, 2001; Bounoua, 2008; Harir, 2010; Loula *et al.*, 2011).



Figure 13: Présentation de rameaux malades (A), coupés en petits fragments au niveau du xylème (B); déposés sur milieu de culture PDA (C), incubées à 25°C à l'obscurité, pendant sept jours.

3. 2 Purification des isolats fongiques

À partir des isollements primaires, des explants fongiques sont prélevés de la zone périphérique des colonies fongiques et repiqués aseptiquement sur un milieu de culture PDA en boîtes de Pétri. Les cultures sont de nouveau incubées à une température de 25°C à l'obscurité comme précédemment. Des repiquages successifs sont effectués jusqu'à la récupération des cultures pures (Davet *et al.*, 1997). Cependant, les cultures présentant des

variations culturales sont purifiées par la technique monosporale des champignons (Rappily, 1968; Booth, 1971; Boisson et Lahlou, 1983; Belabid, 2003).

3. 3 Cultures monospores

Des disques mycéliens de 5 mm sont introduits dans des tubes à essai, contenant un volume de 5 ml d'eau distillée stérile, homogénéisés par agitation sur vortex. Ensuite, un prélèvement d'une goutte de cette suspension sporale contenant 2-5 microconidies, ajustée à l'aide de la cellule de Malassez, déposée sur la surface d'une couche fine d'eau gélosée, est étalée par strie. Le milieu de culture "eau gélosée" est préconisé en raison de sa carence en substances nutritives, favorisant la prolifération des germes saprophytes (Rappily, 1968) (**Figure 14**). Ensuite, les cultures sporales sont incubées à l'obscurité à une température de 25°C pendant un intervalle de temps de 4-5 jours. Les hyphes issus de la germination d'une microconidie unique repérés à l'aide d'une loupe binoculaire au fort grossissement, sont prélevés et déposés sur la surface du milieu de culture PDA, incubés à une température de 25°C (Booth, 1971; Belabid, 2003).

4. Identification des isolats fongiques

L'identification des isolats fongiques est basée initialement sur l'observation des symptômes aux champs. Cependant, la détermination des genres et des espèces a fait appel aux études macroscopique, microscopique et biométrique (Rappily, 1968), en se référant à plusieurs guides d'identification des champignons (Hawksworth et Talboys, 1970; Barnett et Hunter, 1972; Rieuf, 1985).

4. 1 Étude macroscopique

L'observation macroscopique des isolats fongiques est effectuée à l'œil nu ou à la loupe binoculaire sur des cultures obtenues en déposant sur le milieu de culture PDA des disques mycéliens des cultures mères. L'examen macroscopique est basé sur l'étude de certains caractères culturaux des isolats tels que la croissance radiale, le contour de la colonie, l'aspect du mycélium aérien, la pigmentation et la présence ou non des microsclérotés (Belabid, 2003; Bellahcene, 2004; Martin-Lapierre, 2011).

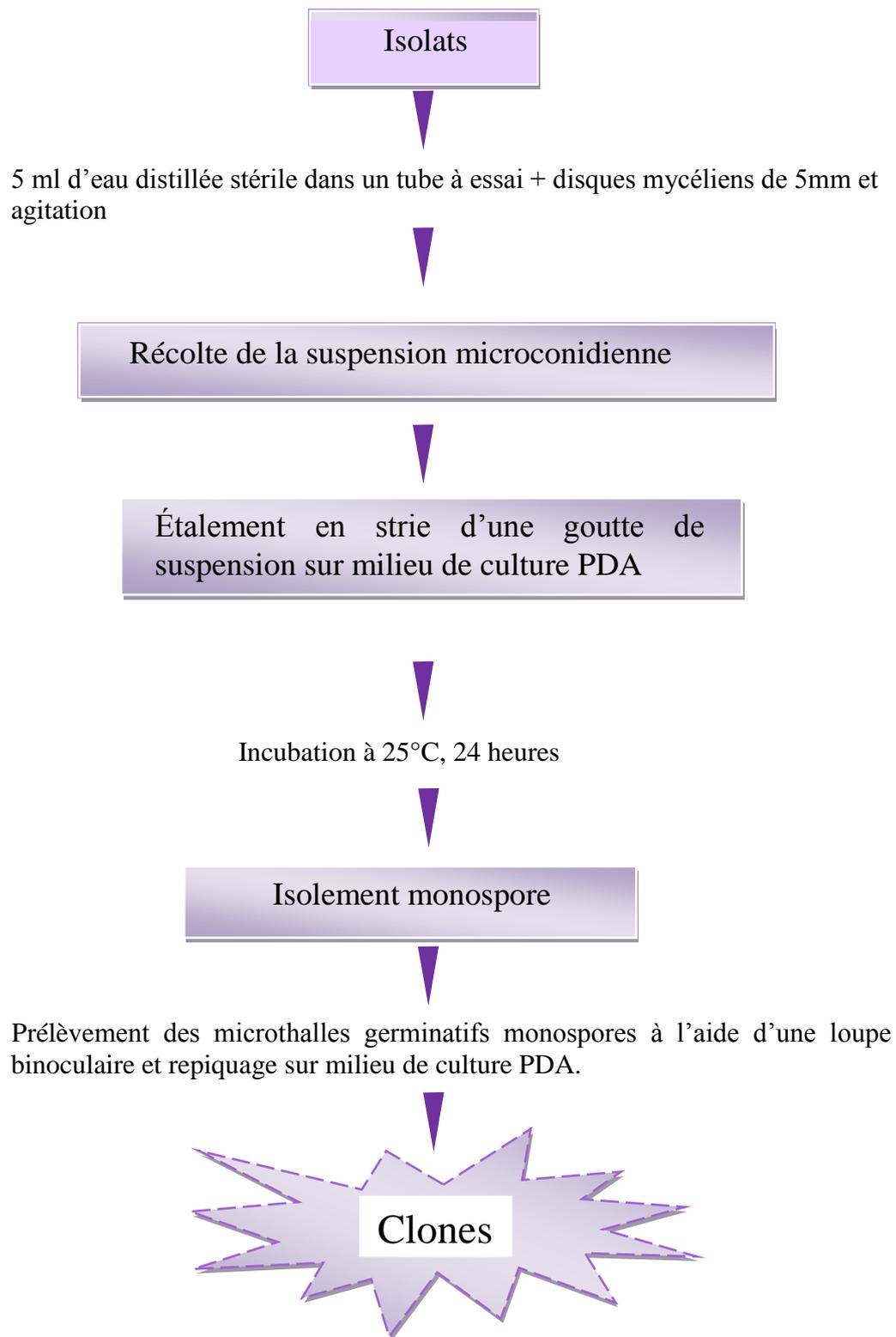


Figure 14: Méthode de culture de clones monospores (Rappily, 1968; Booth, 1971; Belabid, 2003).

4. 2 Étude microscopique

L'observation microscopique des champignons est effectuée par deux méthodes, l'examen direct du mycélium et de la microculture (Belabid, 2003; Martin-Lapierre, 2011).

- L'examen direct au microscope de mycélium, prélevé d'une culture mère, déposé entre lame et lamelle dans une goutte de bleu de toluidine. L'examen direct est porté sur l'observation de la morphologie de mycélium et des conidies.
- L'examen de microculture, est porté sur l'observation au microscope en présence d'une goutte de bleu de toluidine, les arrangements spatiaux des conidies sur les conidiophores, d'une culture fongique faite sur une couche mince de milieu de culture PDA, déposée entre lame et lamelle, placée sur un support dans une boîte de Pétri tapissée avec du papier filtre imbibé d'eau distillée stérile, incubée à l'obscurité, à une température de 25°C pendant un intervalle de temps d'une à deux semaines.

4. 3 Étude biométrique

L'étude biométrique des champignons est effectuée sur des coupes microscopiques préparées à partir des disques mycéliens de forte densité conidienne observée préalablement au microscope. Les coupes sont montées dans une goutte de lacto-phénol, observées au microscope photonique à l'oculaire (x10) équipé d'une échelle micrométrique et l'objectif (x100) sous huile à immersion. Les mesures prises sur un échantillon de 20 conidies ont porté sur la forme, la longueur et la largeur des conidies. La comparaison des moyennes de diamètre des spores (largeur et longueur) des isolats de *V. dahliae*, est effectuée par le test t de student ($P < 0.05$).

5. Conservation des isolats fongiques

Après identification, un disque mycélien de chaque isolat monospore est introduit dans des tubes à essai contenant un milieu de culture PDA incliné. Les cultures sont incubées à l'obscurité à une température de 25°C pendant un intervalle de temps de 5-8 jours. Les cultures sont conservées à une température basse de 4°C pour favoriser leur longévité. Des repiquages successifs sont effectués régulièrement tous les trois mois, afin de favoriser la viabilité des isolats fongiques et limiter les possibilités de leur variation morphologique (Belabid, 2003). Les isolats obtenus sont dénommés selon les sites de prélèvement et leur appartenance fongique (**Tableau 5**): **Vdm** et **Vds** pour *Verticillium dahliae* isolé respectivement de Mascara et de Sidi Bel Abbès; **Sbo** et **Rbo**: respectivement pour *Stemphylium botryosum* et *Rhizoctonia bataticola* isolés d'Oran.

Tableau 5: Présentation de l'origine et sites de prélèvement des isolats fongiques.

Dénomination des isolats	Wilayas	Sites de prélèvement	Dates des isolements	Variétés d'oliviers
Vdm1	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm2	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm3	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm4	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm5	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm6	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm7	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm8	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm9	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vdm10	Mascara	Nesmot	Avril 2011	Sigoise
Vds 1	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 2	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 3	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 4	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 5	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 6	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 7	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 8	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 9	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Vds 10	Sidi Bel Abbès	Sfifef	Juin 2011	Chemlal
Sbo	Oran	El Kerma	Février 2011	Introduite
Rbo	Oran	El Kerma	Février 2011	Introduite

6. Caractérisation morphotypique des isolats de *V. dahliae*

Dans le but de distinguer les différents morphotypes possibles au sein de 20 isolats de *V. dahliae*, une approche statistique de l'Analyse en Composante Principale (ACP) est appliquée. Cette analyse exploratoire est effectuée selon les données descriptives culturales (couleur mycélienne, mycélium aérien et densité de microsclérotés). Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel Statistica 8.1 (2008, France).

7. Étude de l'influence des facteurs physiologiques sur la croissance fongique

Les trois espèces fongiques isolées sont *Verticillium dahliae* (20 isolats), *Rhizoctonia bataticola* (1 isolat) et *Stemphylium botryosum* (1 isolat). L'étude physiologique est effectuée uniquement sur trois isolats différents: Vdm9 choisi au hasard, Sbo et Rbo. Parmi les facteurs

physiologiques qui influencent la croissance fongique, quatre paramètres sont étudiés : la composition du milieu de culture, la température, le pH et la lumière.

7. 1 Influence du milieu de culture

L'influence de la composition de milieu de culture sur la croissance mycélienne des champignons est effectuée sur deux séries différentes de milieux de culture communément utilisés en phytopathologie:

- ✎ des milieux de culture organiques: PDA, MEA et V8 agar (**Annexe**).
- ✎ Et des milieux de culture minéraux: Richards, Czapek et Petri (**Annexe**).

Les isolats fongiques sont ensemencés sur les différents milieux de culture par dépôt d'un disque de 5mm de diamètre sur la surface de milieu de culture PDA. Les cultures sont incubées pendant vingt-quatre, neuf et huit jours pour respectivement Sbo, Rbo et Vdm9 à l'obscurité, à 25°C, température favorable pour la croissance de la plupart des champignons (Ramualde, 1992; Attrassi *et al.*, 2005). Quatre boîtes de Pétri sont ensemencées par milieu de culture pour chaque isolat.

7. 2 Influence de la température

L'effet de la température sur la croissance mycélienne des champignons est effectué par ensemencement comme précédemment dans des boîtes de Pétri sur les milieux qui ont favorisé mieux leur croissance: milieu V8 agar pour la culture de Vdm9, milieu PDA pour Sbo et milieu MEA pour Rbo. Les cultures sont ensuite incubées à l'obscurité, à différentes températures: (10, 15, 20, 25, 30 et 35°C) pendant vingt-quatre, neuf et huit, jours pour respectivement Vdm9, Rbo et Sbo. En cas d'absence de développement fongique des isolats incubés à des températures de 10, 15 et 35°C, les cultures sont incubées de nouveau à l'obscurité, à une température de 25°C afin de vérifier si ces températures inhibent la croissance fongique (Tlemsani, 2010). Pour chaque isolat, quatre boîtes de Pétri sont ensemencées par milieu de culture.

7. 3 Influence du pH

L'influence du pH sur la croissance mycélienne des champignons est étudiée sur les milieux de culture retenus précédemment, mais ajustés à des valeurs différentes de pH 5, 6, 7, 8 et 9. La préparation des milieux de culture tamponnés, à différents pH est faite avec le tampon phosphate à 0.05 M, adapté à la croissance fongique (Cochrane, 1958) selon la méthode de Geigy (1968) (**Annexe**). L'ajustement de chaque valeur de pH est fait avec HCl à 1N ou NaOH (1N) à l'aide d'un pH-mètre, les tampons sont ensuite ajoutés au milieu de culture avant leur autoclavage. Les milieux de culture en boîtes de Pétri sont ensuite ensemencés avec

les isolats fongiques et incubés comme précédemment. Pour chaque expérience, il y a quatre répétitions.

7. 4 Influence de la lumière

L'influence de la lumière et l'obscurité sur la croissance mycélienne des champignons est étudiée sur des cultures, ensemencées en boîte de Pétri comme précédemment sur leurs milieux de culture placés dans les conditions de culture suivantes:

- une série dans l'obscurité continue.
- Une série sous un éclairage continu.
- Une série sous un cycle alternatif de 12 heures d'éclairage et 12 heures d'obscurité.

La source lumineuse utilisée est un tube « lumière du jour » (réf. Claude U 40 RS) qui dégage une lumière blanche à une intensité de 400 lux. Les cultures de chaque série sont incubées pendant vingt-quatre, neuf et huit jours respectivement pour Vdm9, Rbo et Sbo à une température de 25°C à l'obscurité (Tlemsani, 2010).

7. 5 Évaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne des isolats fongique est mesurée régulièrement tous les deux jours à l'aide d'une règle graduée par mesure de la moyenne de deux diamètres perpendiculaires des colonies au verso de la boîte de Pétri. La différence entre la valeur du diamètre et du disque mycélien initial donne la croissance des isolats, selon la formule suivante (Rapilly, 1991):

$$L = D - d$$

L: croissance mycélienne (mm).

D: diamètre moyen de la colonie (mm).

d: diamètre du disque mycélien initial (mm).

Les résultats sont analysés statistiquement par l'Anova 1 avec une probabilité d'erreur de 5%.

8. Recherche du pouvoir pathogène des isolats de *V.dahliae*

8. 1 Matériel fongique

Six clones de *V. dahliae* issus de culture monospore ont servi à l'étude du pouvoir pathogène, dont trois (Vds1, Vds3, Vds5) originaires de Sidi Bel Abbès et trois (Vdm2, Vdm4, Vdm9) de Mascara.

8. 2 Matériel végétal

La recherche du pouvoir pathogène des six clones de *V. dahliae* (Vds1, Vds3, Vds5, Vdm2, Vdm4, Vdm9) est effectuée sur la tomate (*Lycopersicum esculentum*), cultivar «Saint- Pierre»; une plante au cycle moins long permettant d'obtenir rapidement les symptômes. Le choix de ce cultivar de tomate est porté sur sa sensibilité documentée à la verticilliose (Harir, 2010) et

sa référence comme plante « piège » dans l'estimation du potentiel infectieux des sols naturellement infectés par *V. dahliae* (Regragui, 2005). Les graines sont gracieusement fournies par le service des semences de l'INPV de Misserghine (Oran). Les graines sont désinfectées pendant cinq minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à une concentration de 5% pour élimination de toute contamination superficielle, rincées à l'eau distillée stérile, séchées sur de papier filtre stérile, mises en germination dans du terreau stérile, contenu dans des bacs métalliques (20 x 35 cm) préalablement désinfectés avec l'eau de javel, percés dans leur fond de quelques trous pour faciliter le drainage lors des arrosages (Malik, 2008; Bounoua, 2008; Malik, 2008; Harir, 2010, Tlemsani, 2010).

8. 3 Récolte des plants

Après une semaine de germination, les plantules de tomate sont plantées dans des pots en plastique (7 x 4.7 x 8.3cm) contenant chacun un volume de 150 cm³ de terreau. Les plants sont maintenus dans une chambre de culture à une température de 25°C avec 60 à 80% d'humidité et une photopériode contrôlée de 12 heures (l'intensité lumineuse est assurée par six lampes de 20W de puissance, disposées à une hauteur d'environ 60cm au-dessus des plants). Les plants sont ensuite arrosés une fois par semaine avec de l'eau de robinet jusqu'au stade requis pour l'inoculation, soit deux feuilles par plantule (Tlemsani, 2010), car selon Douira (1995) les plantes jeunes sont plus réceptives que les plantes âgées. Ensuite, seuls les plants ayant des tailles identiques sont choisis pour la suite de l'expérience (Malik, 2008; Harir, 2010; Tlemsani, 2010).

8. 4 Préparation de l'inoculum fongique

L'inoculum fongique est préparé à partir des précultures âgées de 15 jours sur le milieu de culture PDA. La surface de la gélosé contenant la colonie, est inondée par un volume de 10ml d'eau distillée stérile, détachée du milieu de culture par un léger grattage à l'aide d'une pipette Pasteur. La suspension mycélienne est ensuite filtrée à travers quatre couches de mousseline autoclavée (toile de coton) pour l'élimination des débris mycélium et du milieu de culture et la récupération d'une suspension sporale après agitation à l'aide d'un vortex. La concentration en conidies est estimée à l'aide de la cellule Malassez (**Annexe**), l'ajustement des conidies à 10⁷ conidies/ml (**Figure 15**), semble être suffisant pour la reproduction des symptômes observés au champ (Rouhani, 1979; Boukenadel, 2001; Bhat *et al.*, 2003; Regragui, 2005; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2007; Harir, 2010).

8. 5 Méthode d'inoculation

Les plantules de tomate au stade deux feuilles, âgées de 21 jours, délicatement retirées de leur pot, leurs racinaires sont lavées avec de l'eau du robinet, trempé pendant 30 minutes dans

l'inoculum fongique fraîchement préparé. Les racines des plantules témoins sont trempées uniquement dans de l'eau distillée stérile. Les plantules inoculées et témoins sont de nouveau plantées dans le même substrat à raison de trois plantules par pot. Elles sont élevées en serre non climatisée pendant 49 jours et périodiquement arrosées avec l'eau de robinet (**Figure 15**). Pour chaque clone de *V. dahliae*, 15 plantules sont inoculées et 15 témoins sont préparés (Ramualde, 1992, Boukenadel, 2001; Tlemsani, 2010).

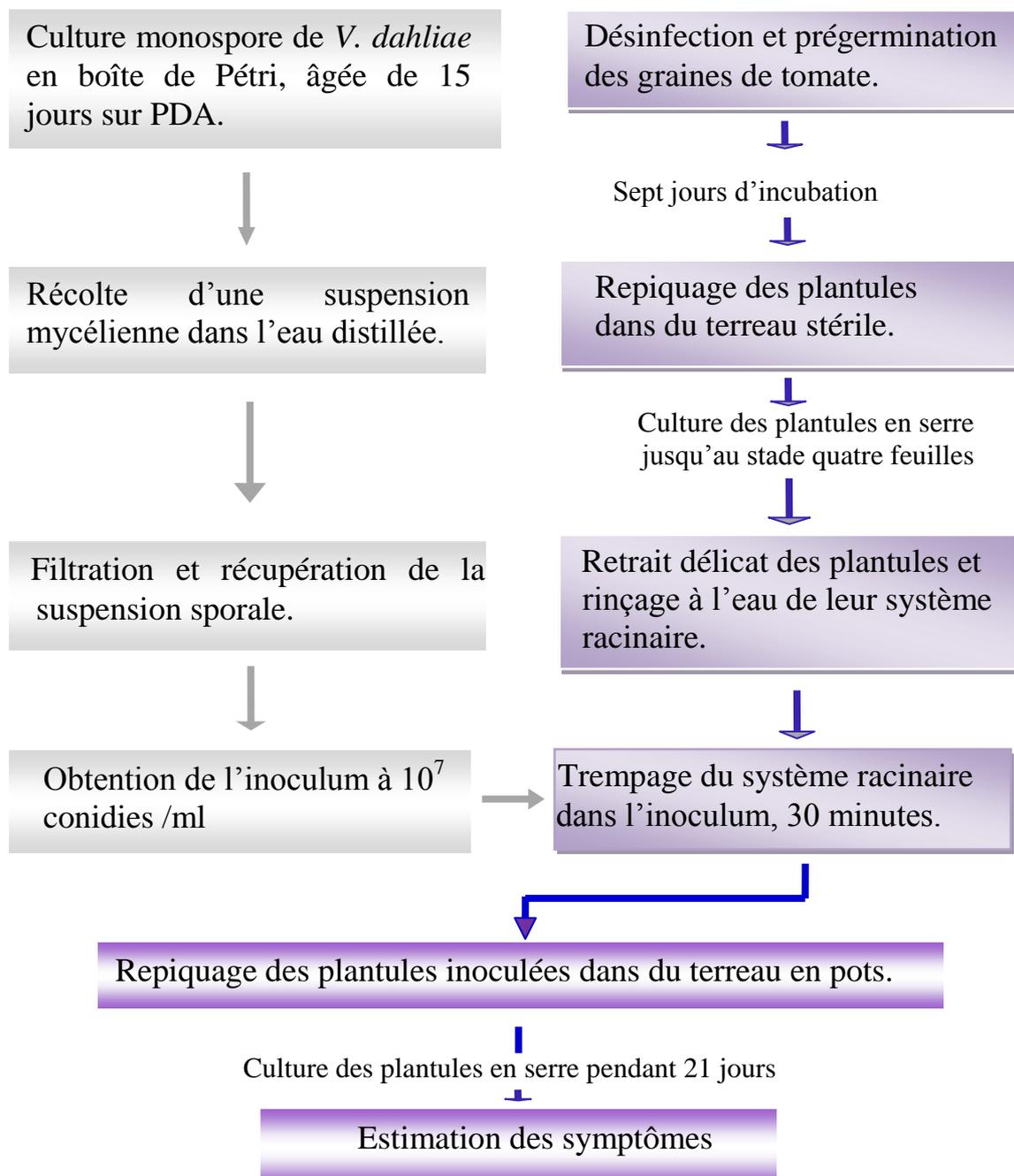


Figure 15: L'inoculation de plantules de tomate cv. Saint-Pierre avec *V. dahliae* (Boukenadel, 2001; Malik, 2008; Harir, 2010, Tlemsani, 2010).

8. 6 Estimation des symptômes

Le pouvoir pathogène des six clones *V. dahliae* est estimé par l'observation des symptômes externes (rabougrissement, symptômes foliaires) et des symptômes internes, le brunissement vasculaire des plants de tomate. Ces trois paramètres sont utilisés pour l'estimation des symptômes causés par *V. dahliae* chez le cotonnier (Ramualde, 1992), l'aubergine, le poivron (Malik, 2008) et la tomate (Jabnoun-Khiareddine, 2004; Regragui, 2005; Harir, 2010).

8.6. 1 Indice de rabougrissement

L'indice de rabougrissement (I.R) représente la réduction de la croissance des plants de tomate inoculés par rapport aux plants témoins. L'I.R est déterminé par la mesure de la différence entre l'allongement des plants inoculés et des plants témoins. Cet indice est calculé deux, trois et sept semaines après l'inoculation des plants selon la formule rapportée par Boukenadel (2001): $I.R = (T - X) / T \times 100$

I.R: indice de rabougrissement d'un plant inoculé.

T: taille moyenne des plants témoins.

X: taille moyenne des plants inoculés.

8.6. 2 Indice d'altération foliaire

L'indice d'altération foliaire (I.A.F) permet l'expression l'intensité des dégâts foliaires des plants de tomate provoqués par le champignon (Beye et Lafay, 1985). Les symptômes sont progressifs et commencent par le jaunissement des feuilles puis leur flétrissement pouvant aboutir à la nécrose et à la chute. Les notations sont effectuées deux, trois puis sept semaines après l'inoculation. Les symptômes observés sont répartis en six classes selon l'échelle de notation décrite par Regragui (2005).

Notes (N): -----**Symptômes**

0: ----- Feuille saine

1: ---- Feuille cotylédonaire jaunie ou flétrie

2: -----Feuille cotylédonaire tombée

3: -----Feuille vraie jaunie

4: -----Feuille vraie jaunie

5: -----Feuille vraie tombée

L'indice d'altération foliaire de chaque plant est calculé selon la formule suivante (Ramualde, 1992): $I.A.F = \sum^N / (4 + 5 n)$

I.A.F: Indice d'altération foliaire d'un plant inoculé.

\sum^N : Somme des notes de toutes les feuilles de la plante.

4: la valeur maximale attribuée aux feuilles cotylédonaire.

5: la note maximale pour une feuille vraie.

n: le nombre de feuilles vraies.

La somme des notes rapportée au nombre de feuilles constitue l'indice d'altération foliaire. Un indice moyen est ensuite calculé pour chaque lot de plants. L'indice I.A.F varie de 0 à 100, plus il est élevé, plus la maladie est sévère, la note 0 correspond à une plante saine, la note 100 est donnée pour une plante totalement flétrie ou morte.

8.6. 3 Brunissement

La présence ou l'absence de brunissement est vérifiée sur des coupes longitudinales et transversales faites dans deux parties: collet et tige des plants de tomate après sept semaines d'inoculation avec *V. dahliae*. Ce paramètre permet l'évaluation de l'intensité du brunissement des vaisseaux d'un plant (Daayf, 1993).

8.6. 4 Interprétation statistique des résultats

Les tests du pouvoir pathogène de chaque clone de *V. dahliae* sont effectués sur un lot de 15 plants. Les résultats obtenus sont traités statistiquement par une analyse de variance (Anova1). Les différences entre les moyennes sont considérées significatives au seuil de $p < 0.05$.

8. 7 Réisolement de *V.dahliae*

Dans le but d'explorer l'incrimination des isolats de *V. dahliae* dans l'infection des plants de tomate inoculés et son absence chez les plants témoins, la recherche des isolats de *V. dahliae* est effectuée sept semaines après l'inoculation dans trois parties: racines, collet et tige, selon la méthode rapportée par Jabnoun-Khiareddine *et al.* (2005), Regragui (2005), EL Hadji Djibo *et al.* (2012). Après arrachage, les plantes sont soigneusement lavées à l'eau de robinet. Des petites rondelles et segments de chaque partie sont désinfectés dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% pendant deux minutes, transférés dans de l'éthanol 70% pendant 30 secondes, rincées à l'eau distillée stérile et séchés rapidement sur du papier-filtre stérile. Chaque segment est ensuite aseptiquement sectionné longitudinalement, déposé sur milieu PDA en boîte de Pétri, incubé à 25°C (Malik, 2008; EL Hadji Djibo *et al.*, 2012). Les observations sont effectuées dix jours après incubation à l'obscurité à une température de

25°C. Le développement mycélien à la périphérie des segments témoigne de sa présence. La culture de ce mycélium (forme et couleur des mycéliums, couleur de la pigmentation et conidies produites) est comparée à la culture ayant servi à l'inoculation des plants. Si ces cultures ainsi que les symptômes causés sur la plante sont identiques, le postulat de Koch est vérifié.

9. Sensibilité *in vitro* des isolats fongiques aux fongicides

9.1 Choix des isolats fongiques et des fongicides

L'investigation de la sensibilité du champignon aux fongicides *in vitro* est mise en évidence. À cet effet, six clones de *V. dahliae* sont retenus à l'encontre de trois fongicides de différentes familles chimiques. Ces fongicides sont inscrits dans l'index phytosanitaire de l'Algérie (Anonyme, 2008); leurs caractéristiques sont présentées dans le **tableau 6**.

Tableau 6: Présentation des caractéristiques des trois fongicides testées vis-à-vis de *V. dahliae* responsables de la verticilliose de l'olivier (Serghat, 2004; Attrassi *et al.*, 2005).

Nom commun	Nom commercial	% matière	Famille chimique	Formulation
Méthyl-thiophanate	Pelt 44	70	Benzimidazole	Poudre mouillable
Azoxystrobine	Ortiva	50	Strobylurine	Granulés mouillables
Mancozèbe + métalaxyl	Ridomil Gold	48 + 10	Dithiocarbamates + Phénylamides	Granulés mouillables

9.2. Test *in vitro* de l'effet du fongicide sur la croissance fongique

Une solution mère de chaque fongicide est préparée par la solubilisation des produits du commerce dans un volume d'éthanol concentré à 70%, à raison de 0.04mg/10ml. Cette dilution correspond à une concentration de 4 ppm (partie par million, 1ppm = 1mg/l), des dilutions décimales sont préparées pour l'atteinte des concentrations voulues (3, 2 et 1 ppm). Les différentes dilutions sont obtenues en respectant la loi suivante:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

C₁: concentration de la solution mère.

C₂: concentration de la solution à préparer.

V₁: volume pris de la solution mère.

V₂: volume final du milieu PDA (20 ml).

Le volume obtenu de fongicide est incorporé dans un volume de 20ml de milieu de culture PDA, maintenu en surfusion à 45°C, le mélange coulé dans des boîtes de Pétri de 90mm de

diamètre est ensuite homogénéisé. Un milieu de culture additionné du même volume d'éthanol est utilisé comme témoin négatif non traité (0 ppm) (Braffio *et al.*, 2004). Après solidification du milieu, un disque mycélien de 5mm de diamètre est prélevé à partir d'une préculture sur milieu PDA, âgée de 15 jours, placé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA-fongicide ou sur le milieu PDA sans fongicide. Les cultures sont incubées à 25°C pendant 15 jours (Attrassi *et al.*, 2005; Daami-Remadi et El Mahjoub, 2006). Pour chaque concentration de fongicide, trois répétitions et un témoin sont effectués.

9. 3 Estimation du pourcentage d'inhibition des isolats fongiques

La croissance mycélienne est estimée quotidiennement par la moyenne des mesures de deux diamètres perpendiculaires de la colonie fongique (Rappily, 1991). Le pourcentage d'inhibition est déterminé par rapport au témoin et calculé selon la formule de Leroux et Gredet (1978): $I (\%) = \frac{Dt - Df}{Dt} \times 100$

I (%): le pourcentage d'inhibition.

Dt: diamètre moyen des colonies en absence de fongicide (témoin).

Df: diamètre moyen des colonies en présence de fongicide.

Les résultats permettent de répartir les isolats en quatre classes de sensibilité selon Bonnen et Hopkins (1997):

- Très sensible = 0 – 15% de la croissance sur le milieu témoin.
- Sensible = 20 – 40%.
- Moyennement sensible = 45- 65%.
- Peu sensible = 70% ou plus.



Chapitre III

Résultats et discussion

1. Prospection et symptomatologie des maladies de l'olivier au champ

Les prospections effectuées dans cinq oliveraies, ont permis le recensement de cinq maladies parasitaires de l'olivier, dont quatre d'origine fongique à savoir la verticilliose, la pourriture racinaire, la fumagine, et la tavelure, et une d'origine bactérienne, la tuberculose de l'olivier. Les symptômes de chaque maladie sont notés.

1. 1 Verticilliose de l'olivier

Les prospections effectuées en février dans l'oliveraie de Nesmot (W. Mascara) et en Avril dans celle de Sfisef (W. Sidi Bel Abbès) ont permis l'observation des flétrissements généralisés ou unilatéraux. Les branches ont manifesté sur l'écorce une couleur brune violacée, une défoliation à leur extrémité, avec quelques feuilles desséchées attachées à leur base. Les jeunes pousses sont totalement défoliées à la base et ont conservé quelques feuilles de couleur brune à leur extrémité. Dans certains cas, des feuilles desséchées, très cassantes, enroulées en gouttière sont observées sur les jeunes rameaux (**Figure 16B, C**).



Figure 16: Présentation de l'oliveraie de Nesmot (A), arbres d'olivier de variété Sigoise (B), variété Chemlal (C), atteints de la verticilliose.

Les symptômes sont apparus de bas en haut, ce qui explique que la propagation de l'agent pathogène dans les tissus vasculaires est causée principalement par les conidies transportées dans le flux de transpiration. Des coupes longitudinales de quelques rameaux ont décelé

l'absence de brunissement des tissus vasculaires témoignant la colonisation par l'agent pathogène, mais l'infection est confirmée par l'isolement et l'identification de l'agent pathogène.

Les symptômes caractéristiques de la verticilliose de l'olivier sont clairement observés pendant la saison printanière, période propice à l'expression des symptômes, humidité élevée et température du sol diminuée. Des travaux antérieurs réalisés par Levin et ces collaborateurs (2003) ont rapporté des symptômes similaires en cette période. En Algérie, les mêmes symptômes observés ont été rapportés sur l'olivier (Benchabane *et al.*, 1990 et 2010; Matallah *et al.*, 1996 et 1997; Bellahcene *et al.*, 2000 et 2004) et dans d'autres pays oléicoles (Blanco-López *et al.*, 1984; Al Ahmed, 1988; Tjamos *et al.*, 1991; López-Escudero et Blanco-López, 2001; Levin *et al.*, 2003; Sanei *et al.*, 2008; Rodríguez- Jurado *et al.*, 2009; López-Escudero et Mercado-Blanco, 2010).

L'importance de cette maladie vasculaire est de l'ordre de 5 et 70 % respectivement dans les oliveraies de Nesmot et de Sfisef. L'apparition de la maladie dans ces oliveraies est probablement due à la plantation dans un sol déjà contaminé, car ces oliveraies ont préalablement servi à la culture de la pomme de terre considérée comme plante hôte. L'infection semble être due aux débris végétaux et aux particules des sols contaminés par l'agent pathogène, explication rapportée par Tjamos, (1993), Serrhini et Zeroual, (1995), Blanco-López et Jiménez-Díaz, (1995), Morales-Sillero *et al.*, (2009).

En plus, l'oliveraie de Nesmot avoisine une culture de melon, considérée comme plante hôte, ce qui suggère que la maladie est apparue suite à la présence de cette culture. Selon López-Escudero *et al.* (2010), l'incidence de la maladie des vergers d'olivier intercalés par les cultures sensibles est très élevée que les vergers d'olivier intercalés par les cultures non sensibles (Mercado-Blanco et López-Escudero, 2011). La présence abondante d'herbes telle que le laiteron maraîcher (*Sonchus oleraceus*) dans l'oliveraie de Nesmot (**Figure 16A**), explique que l'infection est probablement due à ces herbes, qui peuvent jouer un rôle très important dans la survie, l'accumulation d'inoculum dans le sol ainsi que le transfert de l'agent pathogène, phénomène rapporté par Vargas-Machuca *et al.*, (1987); Ligoxigakis *et al.*, (2002) et Yildiz *et al.*, (2009).

1. 2 Pourriture racinaire de l'olivier

Les prospections effectuées dans l'oliveraie d'El Kerma (W. Oran) ont permis l'observation d'un dessèchement des branches et des rameaux total ou partiel en hiver (février), accompagnée d'une défoliation des branches et des rameaux (**Figure 17B, C**) et parfois une décoloration de feuilles entraînant le dessèchement de nouvelles pousses (**Figure 17D**). Les

symptômes sont caractéristiques de la pourriture racinaire de l'olivier, qui conduit dans un stade avancé à la mort de l'arbre. Cependant, la sévérité des symptômes observés a varié d'un arbre à un autre dans ce verger enregistrant une incidence de 7 %.

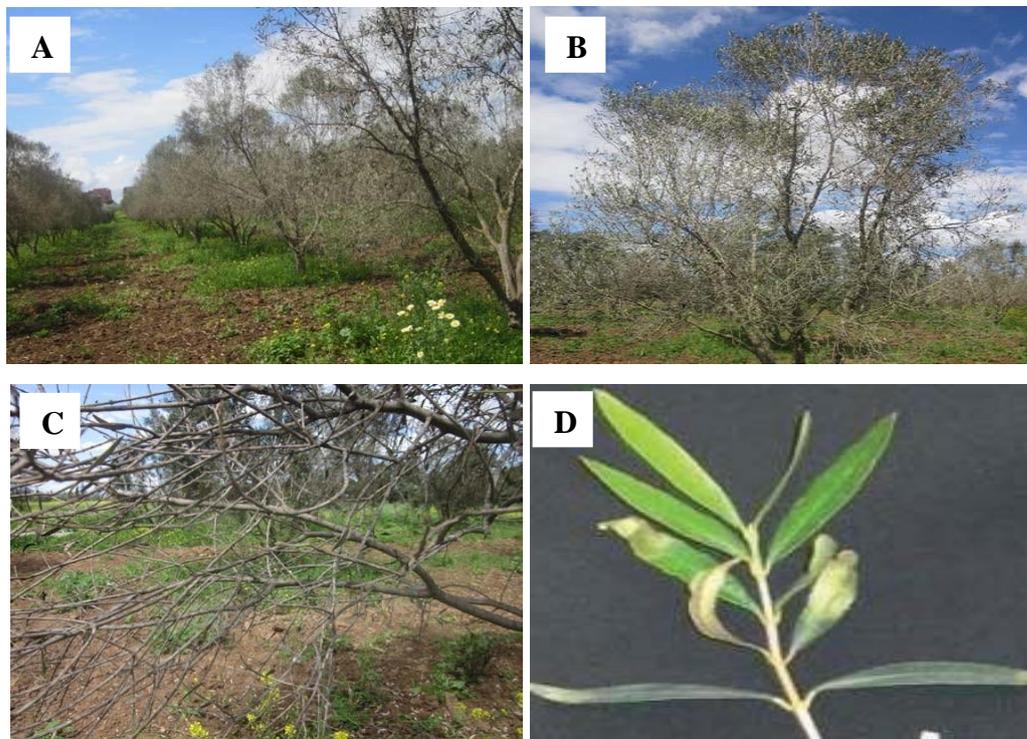
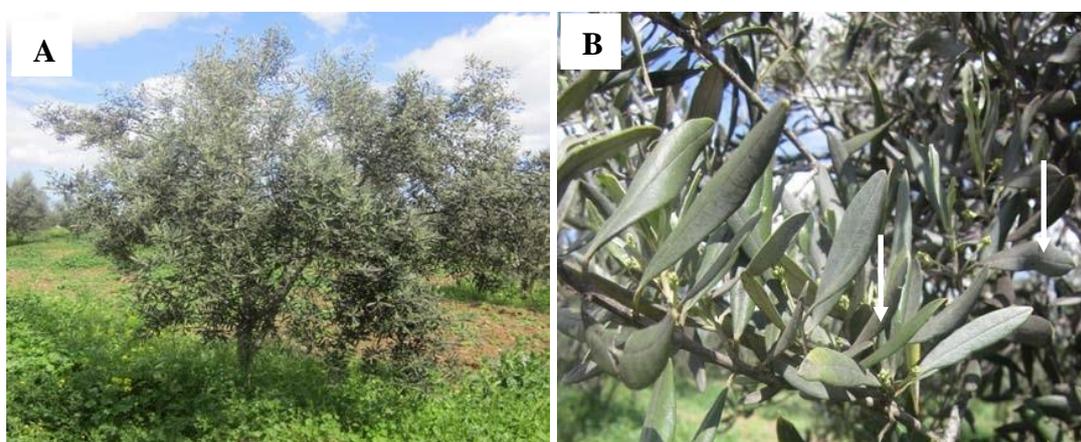


Figure 17: Présentation des oliviers du verger d'El Karma (A), olivier de variété introduite (B), atteint de pourriture racinaire aux branches et rameaux défoliés (C), et de nouvelle pousse desséchée (D).

1. 3 Fumagine de l'olivier

Les prospections effectuées dans l'oliveraie d'El Karma (W. Oran) ont permis l'observation d'une fine pellicule noirâtre, installée d'abord sur les feuilles (**Figure 18B et C**) et finie dans l'ensemble des branches de l'arbre (**Figure 18D**). Le symptôme noté dans cette oliveraie est caractéristique de la fumagine dont la sévérité est aux alentours de 10 %.



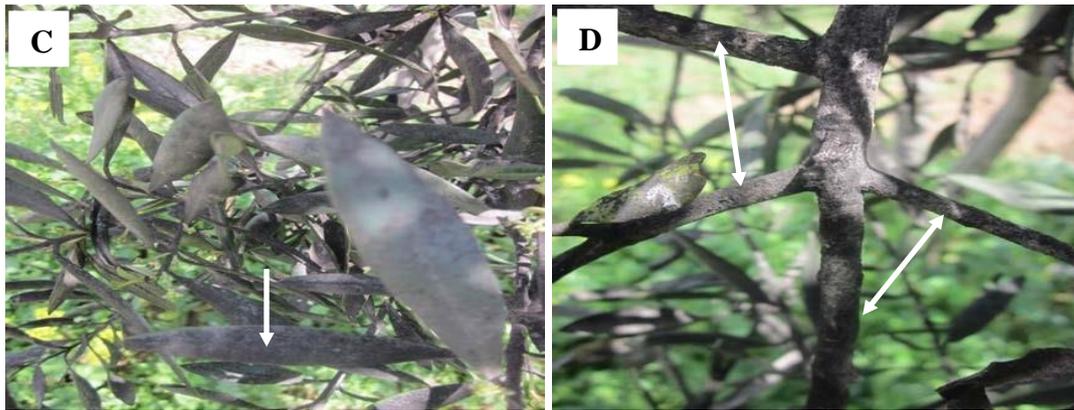


Figure 18: Présentation d'un olivier de variété introduite atteint de la fumagine (A); feuilles recouvertes d'un poudre noire (flèche en B et C); branches au feutrage noir (flèche en D).

1. 4 Tavelure de l'olivier

Les prospections effectuées dans les oliveraies d'El Karma et Benfreha (W. Oran) ont permis l'observation sur la face supérieure des feuilles âgées des taches (1 à 5 taches) régulièrement arrondies, de 2 à 10mm de diamètre (**Figure 19E, F**), avec des zones concentriques quelque peu estompées.

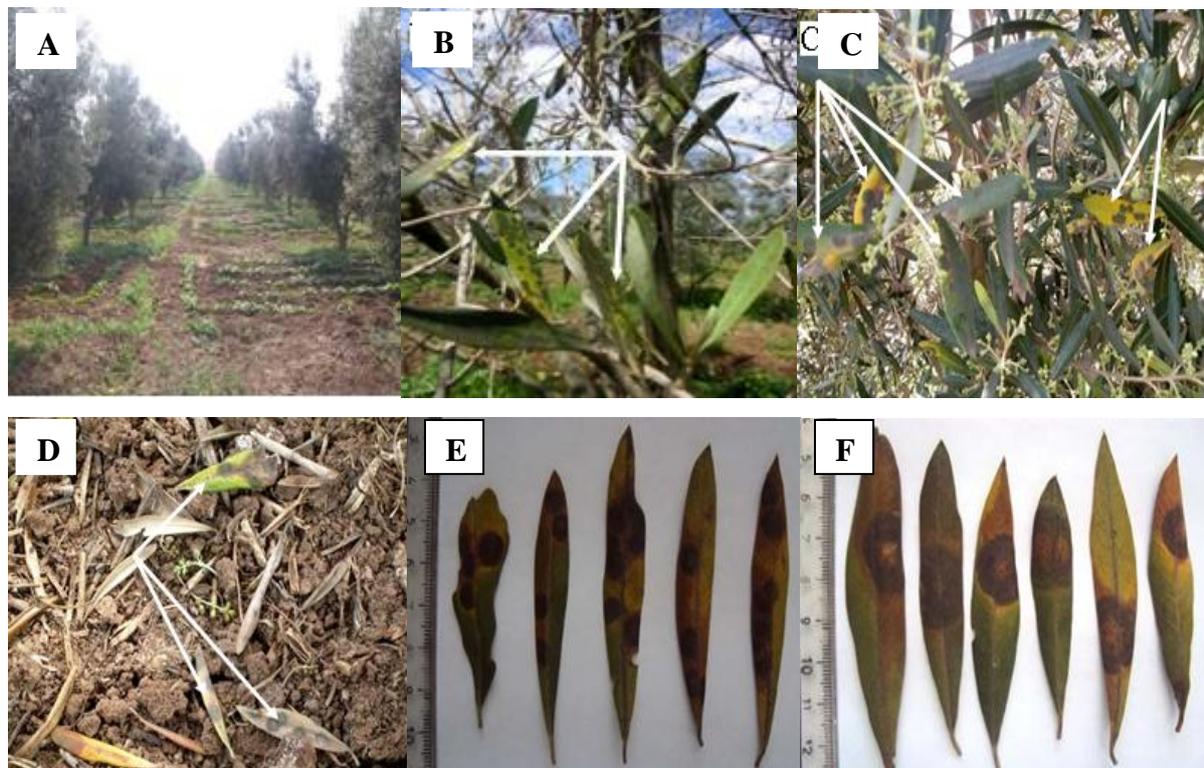


Figure 19: Présentation de l'oliveraie d'El Kerma (A); un olivier de variété Sigoise atteint de la tavelure (flèche en B), taches rondes sur les feuilles (flèche en C), chute des feuilles atteintes (flèche en D); diamètre et distribution des taches sur les feuilles (E, F).

Les taches observées sont de couleur variant du brun noirâtre au jaune verdâtre. En cas d'attaque sévère une nécrose atteint les nervures principales, les feuilles jaunissent et chutent prématurément (**Figure 19D**). L'ensemble des symptômes observés dans les deux oliveraies est caractéristique de la tavelure chez l'olivier. L'importance de cette maladie est aux alentours de 90% et 10% respectivement dans les oliveraies d'El Karma et Benfreha.

1. 5 Tuberculose de l'olivier

Les prospections effectuées dans l'oliveraie d'Ain Tessa (W. Oran) ont permis l'observation sur la partie aérienne de l'arbre, notamment sur les branches, les jeunes brindilles et les rameaux de l'année des excroissances de bois ressemblant à des verrues ou des tumeurs parenchymateuses typiques de la tuberculose de l'olivier (**Figure 20**). L'importance de cette bactériose dans l'oliveraie d'Ain Tessa est aux alentours de 10%.



Figure 20: Présentation des formes des galles et leur positionnement sur les rameaux d'un arbre d'olivier du verger d'Ain Tessa.

Les prospections effectuées dans les oliveraies situées dans les wilayas d'Oran, de Mascara et de Sidi Bel Abbès ont permis le recensement de quatre maladies d'origine fongique (verticilliose, pourriture racinaire, fumagine, la tavelure) et une d'origine bactérienne (tuberculose). Cependant, leur importance est variable selon l'agent causal de la maladie, l'âge et l'entretien des arbres.

Les résultats obtenus ont révélé que la présence de la verticilliose de 5 à 70 %, la tavelure de 10 à 90% et les autres maladies entre 7 et 10%. La verticilliose et la tavelure sont les plus fréquentes et les plus importantes en Algérie, comme l'ont signalé les travaux de Bellahcene (1997, 2004, 2005) sur la verticilliose et ceux de Guechi (1994 et 2002) sur la tavelure de l'olivier.

2. Isolement des champignons

Les résultats obtenus ont montré que les isolements réussis sont de l'ordre de 40-90%, cette variation considérable est en fonction du lieu de prélèvement des échantillons, la saison, les foyers d'infestation et la sévérité de la maladie. Les isolements fongiques sont facilement

effectués à partir des échantillons provenant de l'oliveraie de la Wilaya de Mascara par rapport à ceux des autres (W. Sidi Bel Abbes et Oran).

Les prélèvements effectués ont permis l'isolement de 22 isolats sur le milieu de culture (PDA), dont 20 de *Verticillium dahliae*, un *Stemphylium botryosum* et un *Rhizoctonia bataticola*. Les isolements sont effectués en mois de mai, juin et juillet, périodes qui correspondent à la fin de la végétation intense de l'olivier. Des travaux antérieurs réalisés par Serrhini et Zeroual, (1995) et Boukenadel, (2001) ont montré que le taux d'isolement a augmenté durant le printemps et l'été, périodes caractérisées par une activité plus accrue.

Des difficultés d'isolement de ce champignon sont souvent rencontrées avec les tissus de plantes malades (Chang et Eastburn, 1994; Montes *et al.*, 1997; Cherrab *et al.*, 2002; Benchabane *et al.*, 2010). Boughalleb *et al.*, (2011) ont effectué des isolements à partir des racines, de la couronne et des tiges d'oliviers de Tunisie, onze espèces fongiques: *Alternaria solani*, *Alternaria tenuis*, *Bispora punctata*, *Cladosporium fulvum*, *Cycdrocarpon. sp*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia bataticola*, *Rhizoctonia solani*, *Phoma sp.* et *Verticillium dahliae*. Des travaux antérieurs réalisés par Jardak *et al.* (2004) ont rapporté l'isolement de quatre espèces fongiques: *Verticillium dahliae*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Rhizoctonia solani* chez l'olivier atteint de dépérissement. Par ailleurs Al-Shebel et ces collaborateurs (2005) ont également rapporté l'isolement de six espèces fongiques: *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Rhizoctonia bataticola*, *Verticillium dahliae*, *Alternaria sp*, *Stemphylium botryosum* comme agents responsables du dépérissement de l'olivier en Arabie saoudite. Les isolements fongiques variables peut s'expliquer par les conditions environnementales (les chaleurs printanières); le type de vascularisation de la variété de l'olivier (Boukenadel, 2001); la densité du pathogène au sein du xylème de l'arbre (Wilhem et Taylor, 1965; Sedra *et al.*, 2002; López-Escudero *et al.*, 2010a; Martin-Lapierre, 2011).

3. Identification des espèces fongiques

3.1 Études macroscopiques et microscopiques du *V.dahliae*

3.1.1 Caractéristiques culturelles

Après quatre à cinq jours de culture sur milieu de culture PDA, les colonies de *V. dahliae* ont présenté un mycélium blanc et dense plus au moins cotonneux, devient ensuite crème à brun foncé puis noir après six à huit jours de culture en raison d'une abondante production de microsclérotés (**Figure 21**).

Tableau 7: Présentation des caractères cultureux et biométriques de 20 isolats de *Verticillium dahliae* algériens collectés sur l'olivier.

Isolats	Caractères cultureux			Dimensions des spores en μm	
	Code	Couleur de mycélium	Mycélium aérien	Densité de microsclérotés	Longueur
Vdm 1	Blanc-laiteux	Moyenne	Clairsemée	4,38	2,15
Vdm 2	Noir-grisâtre	Ras	Dense	4,49	2,11
Vdm 3	Noir-grisâtre	Ras	Dense	4,95	2,3
Vdm 4	Blanc-laiteux	Moyenne	Clairsemée	3,76	1,56
Vdm5	Blanc et noir	Abondant	Moyenne	4,56	2,01
Vdm 6	Noir-grisâtre	Ras	Dense	3,5	1,66
Vdm 7	Blanc-laiteux	Moyenne	Clairsemée	4,5	2,2
Vdm 8	Blanc-grisâtre	Moyen	Clairsemée	4,85	2
Vdm 9	Blanc-laiteux	Moyenne	Clairsemée	4,3	2,12
Vdm 10	Blanc-laiteux	Abondant	Clairsemée	4,38	2,04
Vds 1	Blanc-grisâtre	Moyen	Clairsemée	4,96	2,4
Vds 2	Blanc et noir	Abondant	Moyenne	4,5	1,88
Vds 3	Noir-grisâtre	Ras	Dense	4,15	2,05
Vds4	Blanc-laiteux	Abondant	Clairsemée	3,85	1,8
Vds 5	Noir-grisâtre	Ras	Dense	3,91	1,9
Vds 6	Blanc-grisâtre	Moyen	Clairsemée	4,32	2,01
Vds 7	Blanc et noir	Abondant	Moyenne	4,95	2,25
Vds 8	Blanc-grisâtre	Moyen	Clairsemée	4,5	2,24
Vds 9	Noir-grisâtre	Ras	Dense	4,45	2,2
Vds 10	Blanc-laiteux	Moyenne	Clairsemée	4,2	1,9

Les caractéristiques culturelles des souches de *V. dahliae*, ont distingué quatre types de colonies descriptives (**Tableau 7; Figure 21**):

- ✓ Sept isolats, blancs-laiteux au mycélium aérien abondant, épais et dense ayant un aspect cotonneux lisse, le contour de la colonie est régulier. Ces isolats ne produisent de microsclérotés que de façon très faible, clairsemée et très tardive (**Figure 21C**).
- ✓ Quatre isolats blancs-grisâtres au mycélium aérien floconneux et relativement dense, au contour irrégulier. Ces isolats ne produisent de microsclérotés que tardivement et de densité moyenne (**Figure 21F**).
- ✓ Trois isolats au contour irrégulier, blancs et noirs d'aspect cotonneux au mycélium aérien blanc et dense au centre avec des périphéries noirâtres dues à la production intense de microsclérotés (**Figure 21D, E**).
- ✓ Six isolats noirs-grisâtres au mycélium aérien ras compact et très mélanisé par la production abondante des microsclérotés, le front de croissance est irrégulier (**Figure 21B**).

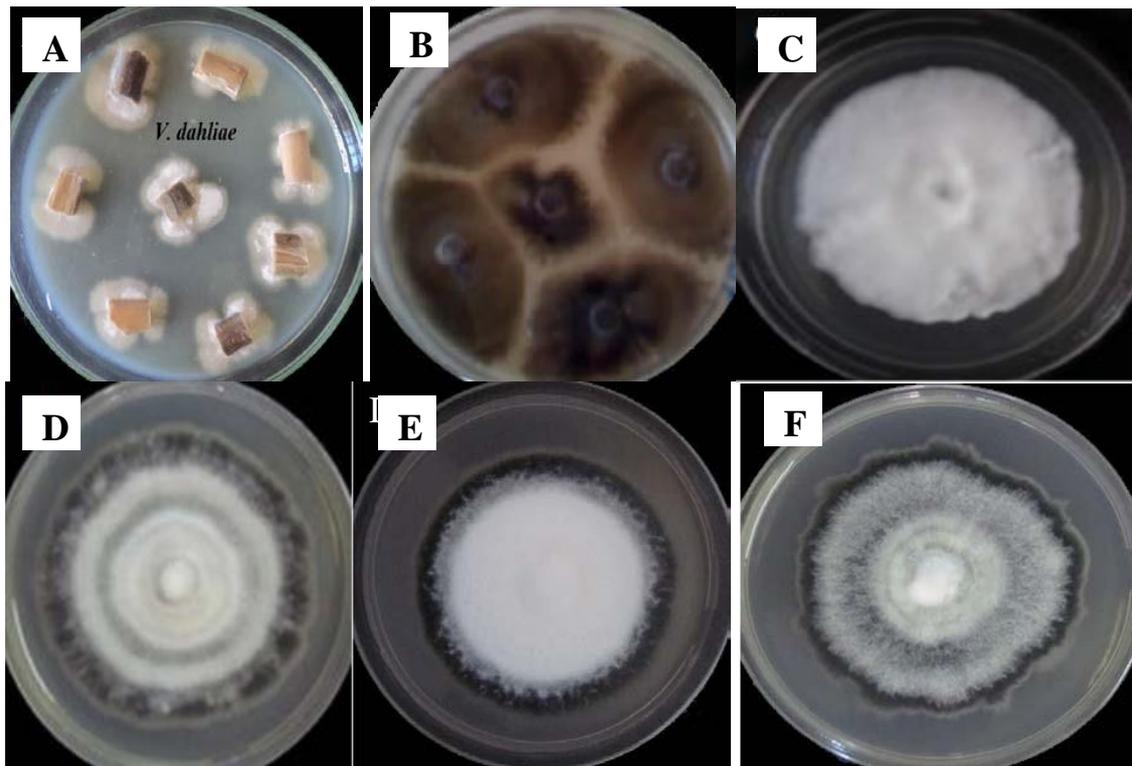


Figure 21: Observation macroscopique des colonies de *V. dahliae* issues de fragments malades (A), culture sur PDA de 15 jours de *V. dahliae* à plusieurs morphotypes; noir-grisâtre (B), blanc-laiteux (C), blanc et noir (D, E) et

3.1. 2 Examens microscopiques

Les observations microscopiques ont montré la présence d'hyphes mycéliens ramifiés et des conidiophores (Co) portant des phialides (ph) verticillées par groupe de trois, avec des conidies plus ou moins arrondies à leur extrémité (C) (**Figure 22B**).

Dans les cultures âgées, un amas de cellules brunes foncées et noires en masse sont notées représentant les microsclérotés (**Figure 22A**).

Les conidies se manifestent hyalines, unicellulaires et leurs dimensions (longueur et largeur) varient entre 3.76 à 4.96 et de 1.56 à 2.40 micromètres (**Tableau 7**). Le test t de student ($P = 0,01$) de comparaison des moyennes de mensurations (largeur et longueur) des isolats n'a démontré aucune différence significative ($P < 0.05$).

L'étude des caractéristiques culturales, morphologiques et biométriques ont permis l'observation des cultures correspondant à la description morpho-culturelle typique de *V. dahliae*. Par ailleurs, certains auteurs (Pegg et Brady, 2002; Goud *et al.*, 2003; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010) ont rapporté que les critères d'identification utilisés (culturelle et morphologique) peuvent parfois prêter à confusion entre les espèces de *verticillium* (*V. dahliae*, *V. albo-atrum* et *V. tricorpus*).

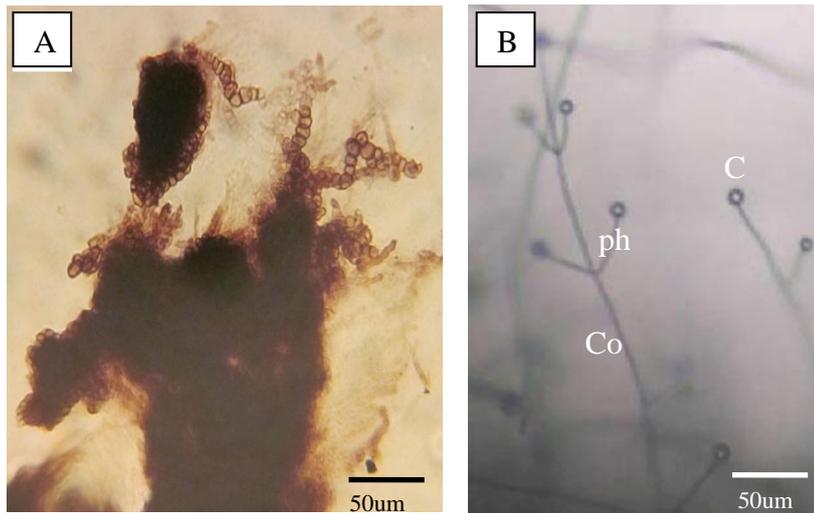


Figure 22: Observation microscopique des microsclérotés mélanisés en amas de *V. dahliae* (A) Gx200. Conidiophores portant les phialides en forme de V avec des conidies à leur extrémité (B) Gx400.

3.1.3 Caractérisation morphotypique des isolats de *V. dahliae* par ACP

L'étude de caractérisation morphotypique des isolats de *V. dahliae* par ACP a porté sur l'organisation régionale de contingence. **Le tableau 08** croisant les caractères cultureux (mycélium aérien, contour, densité, densité de microsclérotés) à la couleur de mycélium a démontré que:

- ✓ La couleur de mycélium des isolats ne prend qu'une seule densité de mycélium aérien: abondante pour les isolats BN, moyenne pour BG et rase pour NG, exception faite pour les isolats BL qui ont dévoilé une densité moyenne à abondante.
- ✓ La couleur de mycélium des isolats ne prend qu'une seule densité microsclérotique: dense pour les NG, moyenne pour les isolats BN et clairsemée pour les isolats BL et BG.
- ✓ La couleur de mycélium des isolats ne prend qu'une seule forme de contour: régulier pour les isolats BN, BG, et BL et irrégulier pour les isolats NG, ceci veut dire que le contour des isolats n'explique aucunement la variabilité des couleurs mycéliennes.

Il en résulte que la forte densité de mycélium aérien des isolats de *V. dahliae* est associée à une faible densité de microsclérotés. Ainsi, le morphotype dense est d'une faible abondance microsclérotique et le morphotype à mycélium ras est d'une forte abondance microsclérotique.

Tableau 8: Illustration de la contingence régionale et ouest des isolats de *V. dahliae*.

		Couleur de mycélium											
		Organisation régionale								Organisation Ouest			
		BN		BL		BG		NG		N	L	G	G
		Vdm BN	Vds BN	Vdm BL	Vds BL	Vdm BG	Vds BG	Vdm NG	Vds NG				
Mycélium aérien	Abondant	1	2	1	1	0	0	0	0				
	Moyenne	0	0	4	1	1	3	0	0				
	Ras	0	0	0	0	0	0	3	3				
Contour	Régulier	1	2	5	2	1	3	0	0				
	Irrégulier	0	0	0	0	0	0	3	3				
Densité de microsclérote	Dense	0	0	0	0	0	0	3	3				
	Moyenne	1	2	0	0	0	0	0	0				
	Clairsemée	0	0	5	2	1	3	0	0				

(BN: Blanc et noir, BG: Blanc-grisâtre, BL: Blanc-laiteux, NG: Noir-grisâtre).

Les matrices de corrélation régionale et ouest des isolats de *V. dahliae* réalisée ont permis l'appréciation des associations plus marquées (**Tableau 09**).

- ✓ Les corrélations les plus marquées sur le plan ouest sont observées chez les isolats BG et BL (0,93), notamment, au niveau régional où l'isolat Vds BG et Vdm/Vds BL (0.98/0.86).
- ✓ Par ailleurs les isolats NG ont démontré des coefficients de corrélations significativement négatives avec le BN (-0,6) ainsi que le BL (-0,67) et le BG (-0,59).
- ✓ Les corrélations de l'organisation régionale sont significativement positives pour la même couleur de mycélium des isolats de *V. dahliae* à Nesmoth (Vdm) et Sfifef (Vds): le BN (1,00) ainsi que le BL (0,94), le BG (0,74) et NG (0,98).

Tableau 9 : Illustration des matrices de corrélation régionale et ouest des isolats de *V. dahliae*.

	Organisation régionale								Organisation Ouest				
	Vdm BN	Vds BN	Vdm BL	Vds BL	Vdm BG	Vds BG	Vdm NG	Vds NG	BN	BL	BG	NG	
Vdm BN	1,00								BN	1,00			
Vds BN	1,00	1,00							BL	0,1	1,00		
Vdm BL	0,04	0,04	1,00						BG	-0,02	0,93	1,00	
Vds BL	0,23	0,23	0,94	1,00					NG	-0,6	-0,67	-0,59	1,00
Vdm BG	0,15	0,15	0,69	0,52	1,00								
Vds BG	-0,07	-0,07	0,98	0,86	0,74	1,00							
Vdm NG	-0,59	-0,59	-0,65	-0,69	-0,44	-0,59	1,00						
Vds NG	-0,60	-0,60	-0,66	-0,70	0,45	-0,60	0,98	1,00					

L'analyse des correspondances a permis l'illustration simultanée de toutes les relations (**Figure 23**):

✓ L'inertie totale ouest ($64,43+31,23 = 95,66$) est plus importante que l'inertie totale régionale ($60,19+28,22 = 88,41$). Donc, la variabilité et le niveau de similitude sont mieux exprimés si les isolats sont regroupés indépendamment de leurs sites d'isolement (Nesmot et Sfifef), ce qui explique que la localité géographique n'intervient pas dans la distribution morphotypique, ce qui concorde avec les résultats descriptifs du profil régional discutés préalablement.

✓ L'analyse de correspondance ouest (décomposé en trois « sous-nuages correspondants à trois groupe d'isolats dissemblables) à deux principaux axes représente 64.43 et 31.23 % de l'inertie totale. Le premier axe oppose les isolats noir- grisâtre (NG) au reste des couleurs de mycélium (coefficient de corrélation négatif). Le deuxième axe oppose les isolats blanc et noir (BN) du groupe blanc-laiteux (BL) et blanc-grisâtre (BG) (coefficient de corrélation presque nulle: respectivement, 0,1 et -0,02).

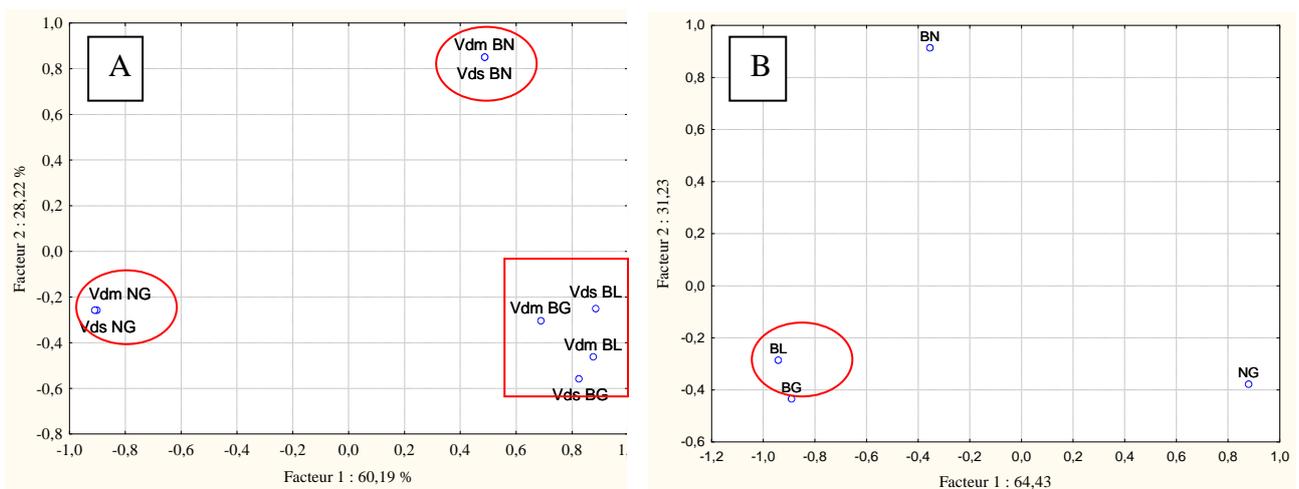


Figure 23: Présentation analytique des correspondances régionales (A), ouest (B) de 20 isolats de *V. dahliae*.

Selon l'analyse des correspondances, l'étude morphotypique des vingt isolats de *V. dahliae* algériens individualise trois morphotypes analytiques, chacun d'eux réunit par affinité les isolats présentant plusieurs caractères en commun (**Figure 23**).

✓ **Morphotype 1:** Les isolats au mycélium noir-grisâtre (NG) caractérisés par une production de microsclérote dense et un contour irrégulier (**Figure 23**), décrit par Cherrab *et al.* (2002), Pegg et Brady (2002), Bellahcene (2004), Malik (2008) et Harir (2010), Boisson et

Lahlou (1983) qui ont également montré sa variabilité morphologique contrairement au morphotype blanc.

✓ **Morphotype 2:** Les isolats au mycélium blanc et noir (BN) caractérisé par une densité microsclérotique moyenne et un mycélium aérien abondant (**Figure 23**); décrit également par Cherrab *et al.* (2002), Bellahcene (2004), Malik (2008) et Jabnoun-Khiareddine *et al.* (2010).

✓ **Morphotype 3:** Les isolats au mycélium blanc-laiteux (BL) et blanc-grisâtre (BG) caractérisé par une densité microsclérotique clairsemée (**Figure 23**), décrit par Bellahcene, (2004); Jabnoun-Khiareddine, (2006) et (2010); Malik, (2008); Harir, (2010); Loula *et al.*, (2011). Boisson et Lahlou (1983) qui ont montré sa stabilité et sa faible variation culturale d'un repiquage à un autre.

Des études antérieures réalisées par Pegg et Brady, (2002) ont rapporté deux morphotypes descriptifs chez *V. dahliae*; forme noire et forme blanche, trois: hyalin, sauvage et intermédiaire (Bellahcene, 2005) ou mycélien, sclérotique et mycélien-sclérotique (Xu *et al.*, 2013) et même quatre morphotypes: blanc-laiteux à mycélium dense, blanc-grisâtre à mycélium dense, blanc à mycélium dense au centre avec des marges noirâtres, noir-grisâtre à mycélium ras (Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010). Cherrab *et al.* (2002) par contre, a décrit six morphotypes: noir total, gris généralisé, noire à la périphérie et blanc au centre, noire avec des touffes de mycélium floconneux, blanc total et orange.

L'identification macro-morphologique de *V. dahliae*, a démontré la variabilité de la densité de microsclérotés (clairsemée, moyenne et abondante), de la couleur mycélienne (blanc laiteux, blanc grisâtre, blanc et noir, noir grisâtre), de l'aspect du mycélium aérien (ras, moyen et abondant), et du contour (régulier et irrégulier). Les différences culturelles observées *in vitro* chez *V. dahliae* sont probablement dues à la composition de milieu et l'âge de la culture (Henni *et al.*, 1994), elles peuvent s'expliquer aussi par des phénomènes de mutation (d'origine cytoplasmique ou d'origine nucléaire) (Loula *et al.*, 2011). D'autres auteurs l'ont attribué à des recombinaisons mitotiques *via* le cycle parasexuel ou la présence d'éléments génétiques transposables (Hastie, 1964; Nelson *et al.*, 1981; Mc Geary et Hastie, 1982; Daboussi *et al.*, 1987; Loula *et al.*, 2011), par mutagenèse artificielle ou par transformation à l'aide de fragments d'ADN (Daboussi *et al.*, 1989; Malardier *et al.*, 1989).

Les résultats obtenus ont démontré que la localité géographique est loin d'être impliquée dans la détermination morphotypique de champignon. L'inexistence de tel lien a été signalée par d'autres auteurs (Joaquim et Rowe, 1990; Daayf *et al.*, 1995; Lachquer *et al.*, 2002; Bellahcene *et al.*, 2005; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010; Loula *et al.*, 2011; Xu *et al.*, 2013; Gharbi *et al.*, 2014) qui ont suggéré une transmission du pathogène *via* les microsclérotés

d'une localité (Sfisef) à une autre voisine (Nesmoth). Des explications similaires sont été rapportées par Benchabane *et al.* (2010) et Jabnoun-Khiareddine *et al.* (2010). Au contraire, Cherrab *et al.* (2002) ont suggéré la caractérisation des groupes d'isolats de *V. dahliae* collectés sur l'olivier au Maroc, en fonction de leur origine géographique.

Les résultats obtenus ont démontré que le morphotype de champignon est inassocié à la variété d'olivier dont il est originaire (Chemlal et Sigoise). L'absence de tel lien a été rapportée par Carder et Barbara, (1991); Okoli *et al.*, (1993); Lachquer *et al.*, (2002) qui ont confirmé l'absence de relation entre *V. dahliae* et leur plante hôte. En outre, Jabnoun-Khiareddine *et al.* (2010) ont rapporté que les isolats de même morphotype provenant de différentes plantes hôtes peuvent montrer une morphologie variable vis-à-vis de mêmes plantes.

Les mensurations sporales en longueur et largeur des isolats de trois morphotypes de *V. dahliae* ont révélé des dimensions homogènes situées dans l'intervalle rapporté par Roger, (1953); Hawksworth et Talboys, (1970) ; Cherrab *et al.*, (2002); Sanei, (2008); Benchabane *et al.*, (2010); Xu *et al.*, (2013); Darai *et al.*, (2014) (**Tableau 7**). Ces mensurations ont révélé que la dimension des spores ne caractérise pas le morphotype de ce champignon. L'inexistence de tel rapport a été signalée par Darai *et al.* (2014) qui ont suggéré une relation entre la mensuration sporale et la taille des microsclérotos chez *V. dahliae*.

Selon, Tolmsoff (1972); Blanco-Lopez *et al.*, (2005), les microsclérotos sont le siège de la conservation morphologique chez le genre *Verticillium* et la production variable de microsclérote implique des morphologies variables. Darai *et al.*, (2014) ont rapporté un polymorphisme dans l'extrait d'ADN microsclérotique de *V. dahliae* induit par une activation variable des voies de synthèse génique de pigment (mélanogène) et de microsclérogène chez *V. dahliae*.

La diversité morphologique chez *V. dahliae*, a fait l'objet d'intenses recherches depuis plusieurs décennies (Tolmsoff, 1972). Bien que des progrès sont réalisés dans la compréhension des caractères morfo-cultureux de champignon, notamment son existence sur l'olivier algérien en patrimoine génétique homogène, et son évolution en sous-population hétérogène (Bellahcene *et al.*, 2004), mais les mécanismes moléculaires qui en régissent ne sont pas encore bien compris (Metoui et Zarrouk, 2007; Klimes *et al.*, 2008).

3. 2. Études macroscopiques et microscopiques des deux autres espèces fongiques

3.2. 1 *Rhizoctonia bataticola*

L'isolement de *R. bataticola* sur le milieu de culture de culture PDA, a permis le développement d'une colonie au duvet mycélien régulier, dense de couleur hyaline grisâtre et

brun après deux semaines (**Figure 24A**). Après purification du champignon, la culture âgée de sept jours a développé un mycélium blanc au contour bien régulier (**Figure 24B**). L'examen microscopique de *R. bataticola* a révélé la présence d'un mycélium stérile, constitué de plusieurs hyphes hyalins à brun clair, ramifié produisant ainsi des branches à des angles aigus avec l'hyphe principal (Hp), l'hyphe de branche (Hb) est légèrement resserré à l'origine de branche, et il y a souvent un septum (S) près de l'origine de branche (**Figure 24C**). L'utilisation des caractères cultureux et morphologiques conformément à la clé d'identification de Barnett et Hunter (1972), notamment les caractéristiques des hyphes ont permis le rapprochement de l'espèce isolée à *R. bataticola*.



Figure 24: Observation macroscopique des colonies de *Rhizoctonia bataticola* de quinze jours, sur milieu de culture PDA, après isolement (A); après purification (B) et microscopique des Hyphes à Gx1000 (C).

3.2. 2 *Stemphylium botryosum*

L'isolement de *S. botryosum* sur le milieu de culture PDA a montré une colonie de couleur blanche à crème de texture cotonneuse à contour régulier et à croissance mycélienne bien rayonnante, limitée par une marge blanchâtre (**Figure 25A**).

Après purification, la colonie de *S. botryosum* a présenté un mycélium blanc de texture rase à contour bien régulier, dépourvue de zones noires contrairement à la forme isolée (**Figure 25B**). L'examen microscopique de *S. botryosum* a révélé la présence de conidiophores (C) sous forme de filaments marron, septés, non ramifiés, dont l'extrémité supérieure est renflée en vésicule. Les conidies germent en émettant des tubes germinatifs, qui donneront les futurs conidiophores qui à leur tour bourgeonnent de jeunes conidies (Cj) petites, ovales à cylindriques, brunes avec une à deux cloisons transversales. Les conidies mures (Cm) sont brunes foncées, cylindriques avec un apex pointu presque toujours excentré, elles revêtent à ce stade-là des septations longitudinales et transversales avec une construction typique au septum central (**Figure 25C**). La comparaison de ces caractères cultureux et morphologiques

avec la clé d'identification de Rieuf (1985) a révélé l'appartenance de cet isolat à l'espèce fongique *Stemphylium botryosum*.

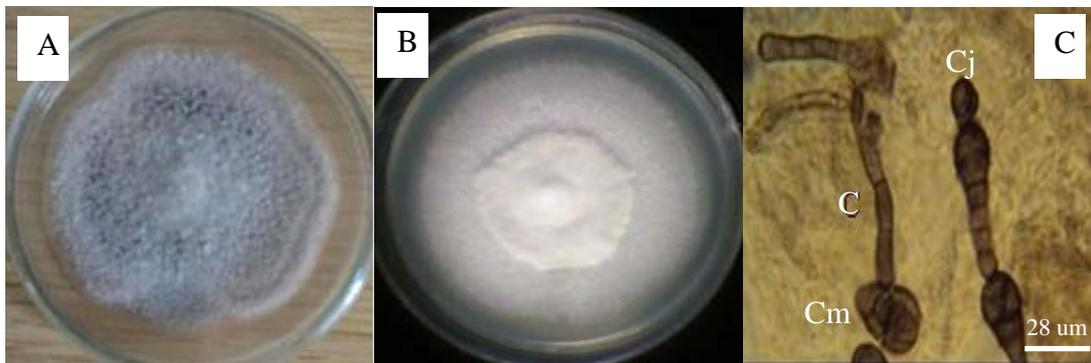


Figure 25: Observation macroscopique des colonies âgées de sept jours de *Stemphylium botryosum* sur milieu de culture PDA, après isolement (A); après purification (B) et microscopique des conidiophores et conidies à Gx1000 (C).

4. Influence des facteurs physiologiques sur la croissance mycélienne de trois espèces fongiques

4. 1 Influence du milieu de culture

Les résultats obtenus *in vitro* ont montré que les champignons se développent assez bien sur la plupart des milieux de culture utilisés à l'exception du milieu Pétri où la croissance est faible et même nulle pour *S. botryosum* (Figure 26). La croissance mycélienne de *S. botryosum* et *R. bataticola* est plus rapide (7 à 8 jours) que celle de *V. dahliae* (24 jours).

L'utilisation de milieu de culture V8 agar pour la culture de *V. dahliae*, semble être très favorable à la croissance, après 24 jours de culture (84mm) que les milieux de culture de Richards (72mm), MEA (52mm), Czapek (50mm) et PDA (47mm). Par ailleurs, des travaux antérieurs ont montré que les milieux de culture PDA et MEA sont favorables à la croissance de *V. dahliae* (Metoui et Zarrouk, 2006; Malik, 2008).

Cependant, la meilleure croissance de *S. botryosum* est obtenue sur le milieu de culture PDA après sept jours de culture (84mm) par rapport aux quatre autres milieux de culture V8 agar (71mm), Richards (60mm), MEA (56mm) et Czapek (54mm). SY-Ndir et ces collaborateurs (1993) ont rapporté des résultats similaires sur l'influence des milieux de culture sur la croissance de *Stemphylium solani*.

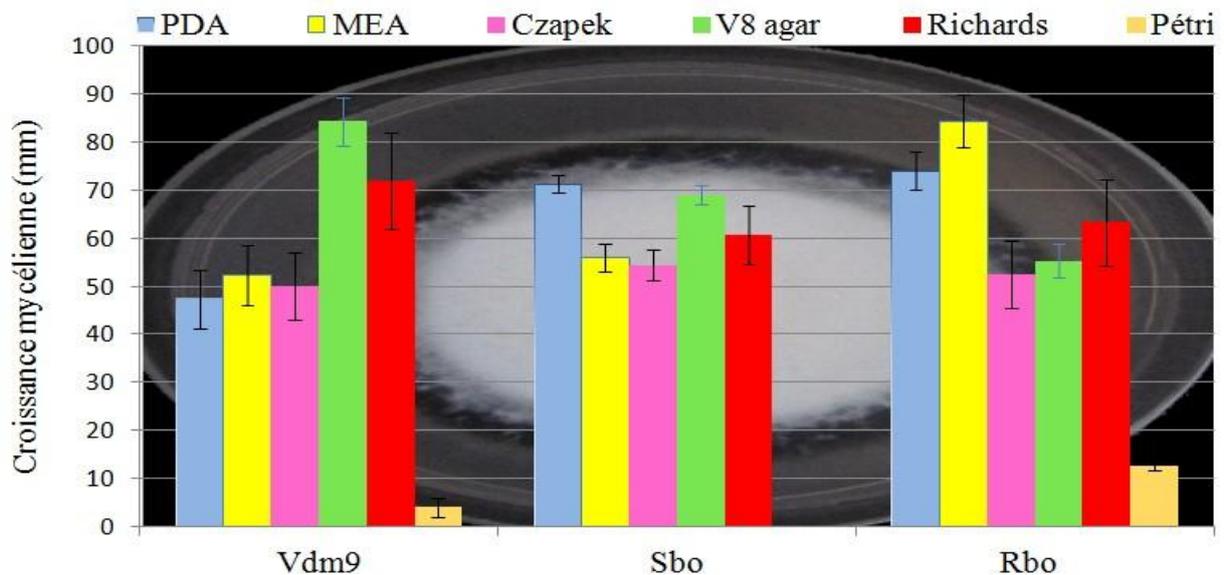


Figure 26: Influence de la composition des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, respectivement, après 24, 9 et 8 jours de culture à une température de 25°C.

L'utilisation de milieu de culture MEA est très favorable pour la croissance de *R. bataticola*, après sept jours de culture (84 mm) que les milieux PDA (74mm), V8 Agar (56mm) et Czapek (52mm). Des travaux antérieurs réalisés par Mathieu et Mathieu (1976) et Csöndes *et al.* (2012) ont rapporté que le milieu de culture MEA est le plus adéquat à la croissance de ce champignon.

L'analyse de variance de la croissance mycélienne par le test F, révèle des différences significatives entre les trois champignons étudiés dans les six milieux de culture ($p < 0, 05$). L'interaction significative démontre que la croissance du mycélium est affectée par les milieux testés: la comparaison des milieux de culture deux à deux démontre que les milieux Czapek et Richards ont donné des croissances similaires chez la totalité des souches testées, bien que le milieu Richards a présenté une variabilité plus importante.

Lors de cette étude, les champignons étudiés ont manifesté une très bonne croissance sur les milieux synthétiques et les milieux organiques par rapport aux milieux purement minéraux (Pétri). Les milieux organiques (PDA et MEA) sont favorables à la croissance des champignons filamenteux (Attrassi *et al.*, 2005), car ce sont des milieux nutritifs de base pour la culture de ces champignons (Ramualde, 1992; Malik, 2008; Csöndes *et al.*, 2012); le milieu V8 agar est souvent utilisé pour la stimulation de la sporulation (SY- Ndir, 1993).

4. 2 Influence de la température

Les résultats obtenus *in vitro* montrent que la croissance mycélienne des champignons varie en fonction des températures testées (Figure 27). L'analyse de la variance de la croissance

mycélienne par le test F, a mis en évidence des différences significatives entre les trois souches étudiées ($p < 0, 05$). Ce résultat a montré que la température influence significativement la croissance du mycélium chez *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*.

D'après les résultats, la température optimale de croissance de *V. dahliae* et *S. botryosum* est de 25°C, celle de *R. bataticola* est de 30°C.

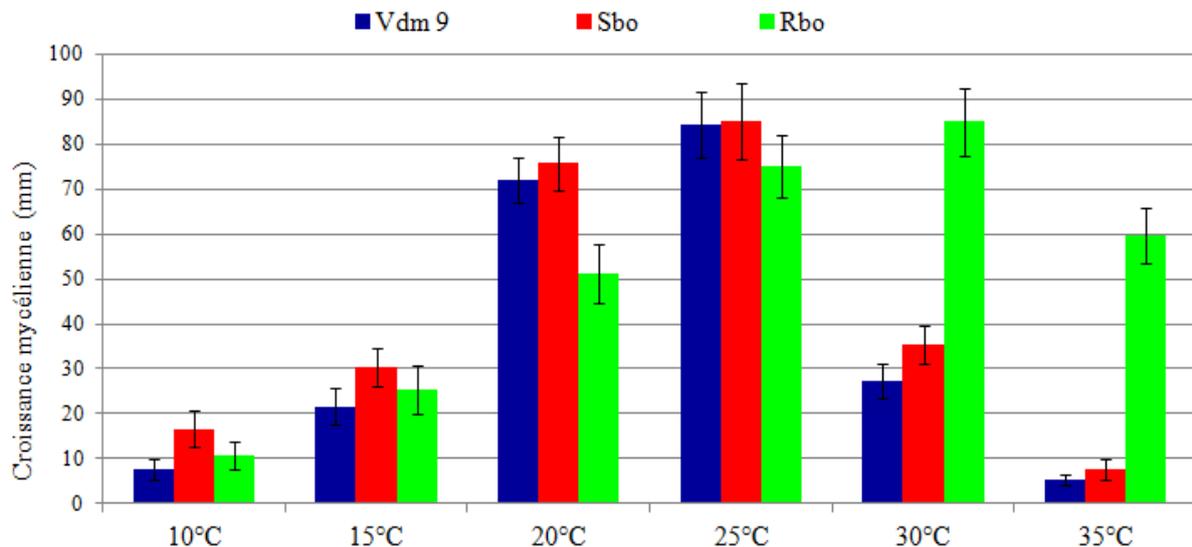


Figure 27: Influence de la température sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, après 24, 9, 8 jours d'incubation sur milieu de culture V8 agar, MEA, PDA respectivement à une température de 25°C.

Un ralentissement de croissance mycélienne est observé chez les trois espèces fongiques aux températures $< 25^{\circ}\text{C}$ et $> 25^{\circ}\text{C}$ à l'exception de *R. bataticola* dont la croissance est relativement plus élevée.

Les températures $< 25^{\circ}\text{C}$ ou $> 25^{\circ}\text{C}$ ne sont pas létales pour les trois espèces fongiques, mais elles ralentissent la croissance fongique qui d'ailleurs redémarre normalement quand les cultures sont réincubées à 25°C. Cette reprise de la croissance mycélienne des champignons est constatée dans divers travaux (Malik, 2008).

Le ralentissement de la croissance aux températures élevées est un phénomène connu chez les champignons (Deveral, 1965; Doneche et Pucheu-Plante, 1986; Hosen *et al.*, 2009), car à ces températures le champignon ne peut plus synthétiser certaines substances nécessaires à sa croissance telles que des vitamines (Moore-Landecker, 1982).

Des travaux antérieurs réalisés par Boisson et Lahlou, (1983), Jabnoun-Khiareddine, (2006), Metoui et Zarrouk, (2006), Regragui, (2005), Malik, (2008), Pegg et Brady, (2002) ont rapporté que les températures comprises entre 21 et 28°C sont favorables à la croissance de *V.*

dahliae. Par ailleurs, d'autres auteurs (Ramualde, 1992; Bejarano- Alcázar *et al.*, 1996) ont rapporté une relation entre le facteur thermique et la pathologie de *V. dahliae* et ont classé deux pathotypes de *V. dahliae* en fonction de leurs optima thermiques: le pathotype non défoliant dont la croissance mycélienne maximale est comprise entre 21 et 24°C et le pathotype défoliant dont la croissance est comprise entre 24 et 27°C.

La température optimale de la croissance mycélienne de *R. bataticola* est de 30°C. Mathieu, (1976), Dhingra et Sinclair, (1978), Singh et Chohan, (1982), Maholay, (1992), Sergeeva *et al.*, (2005), Csöndes *et al.*, (2012) ont rapporté des températures relativement similaires de 30 à 35°C. Quant à la croissance mycélienne de *S. botryosum*, elle est optimale à 25°C. Certains auteurs (Clériver, 1985; Hosen *et al.* 2009 et 2011) ont rapporté des températures de 25°C et 27°C pour *S. botryosum* et *S. floridanum* respectivement.

Il ressort de cette étude, que *V. dahliae*, *S. botryosum* et *R. bataticola* sont des champignons, mésophiles avec une température optimale de 25 à 30°C (Fargues *et al.*, 1992; Pfohl-Leskowicz, 2001). Mwakutuya, (2006), a suggéré que les températures confèrent une remarquable adaptabilité aux différentes conditions climatiques. D'autres travaux (Henry, 2003; Walid *et al.*, 2003) ont rapporté une concordance entre l'optimum thermique de l'activité végétative des champignons et celui de l'infection fongique sur l'olivier. Par ailleurs, le facteur thermique d'un phytopathogène constitue une étude informative sur sa vitalité et sa virulence, et fourni des indications sur l'infection *in vivo* (Békési, 2007; Malik, 2008).

4. 3. Influence du pH

Les résultats obtenus *in vitro* ont montré que la valeur de pH n'a manifesté aucun d'effet sur la croissance de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum* (**Figure 28**) bien qu'en général les champignons se développent mieux sur des milieux à pH acides ou proches de la neutralité qu'à pH neutres.

Divers travaux ont montré que le pH optimal de *V. dahliae* sur le milieu de culture PDA se situe entre 6.0 et 8.0 (Pegg et Brady, 2002; Malik, 2008) ou à pH < 6 (Sedra, 2002), le pH de *S. botryosum* est de 5.5 (Hossen, 2011) et celui de *R. bataticola* entre 3.6 et 5.0 (Bruton *et al.*, 1995) ou entre 5.0 et 6.0 (Ratnoo et Bhatnagar, 1991), ou encore entre 4.0 et 6.0 (Csöndes *et al.*, 2012).

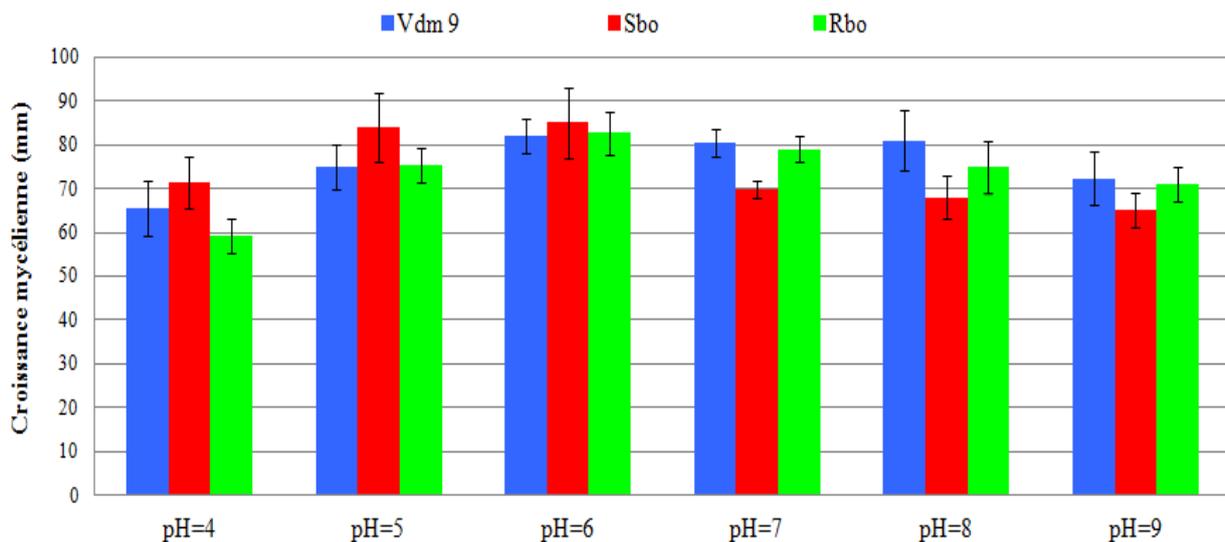


Figure 28: Influence des valeurs de pH sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, après 24, 9, 8 jours d'incubation respectivement sur milieu de culture PDA à une température de 25°C.

Les résultats obtenus ont montré que l'influence du pH sur la croissance des champignons étudiés est négligeable. Cependant, l'analyse de la variance par le test F, n'a révélé aucune différence significative entre les croissances mycéliennes des trois souches étudiées pour les pH testés ($p > 0,05$), ce qui explique que la croissance mycélienne des trois souches est faiblement affectée par les valeurs du pH.

De nombreux travaux ont rapporté que le pH affecte considérablement le métabolisme des champignons, en neutralisant *in vitro* le pH de leur milieu de culture (Batcho et Dubois, 1976; EL Abdellaoui *et al.*, 2005).

Dans un milieu à valeur de pH acide, la membrane mycélienne est saturée en ions hydrogène, limitant le passage des cations essentiels. Cependant, la valeur du pH élevée induit une saturation en ions hydroxyle et l'entrée des anions essentiels est limitée (Notteghem *et al.*, 1980), ce qui permet aux champignons de maintenir la neutralité interne nécessaire au fonctionnement des enzymes intracellulaires (Doneche et Pucheu-Plante, 1986; Ravolanirina, 1986). Chez certains champignons phytopathogènes, la valeur de pH du milieu de culture constitue un facteur très important dans la détermination de l'agressivité des maladies vasculaires (Lemanceau *et al.*, 1989).

4. 4 Influence de la lumière

Les résultats obtenus *in vitro* ont montré que la lumière n'a manifesté aucune influence sur la croissance mycélienne des champignons, en présence de différentes conditions d'éclairage adoptées (**Figure 29**). L'analyse de la variance par le test F, n'a révélé aucune différence

significative entre les croissances mycéliennes des trois souches étudiées pour les trois régimes de lumière ($p > 0, 05$).

L'absence d'une interaction significative a montré que la croissance mycélienne des champignons est faiblement affectée en présence de la lumière. À cet effet, la majorité des champignons se développent et sporulent mieux à l'obscurité, ce qui explique que les cultures fongiques *in vitro* sont généralement incubées dans une étuve à l'obscurité.

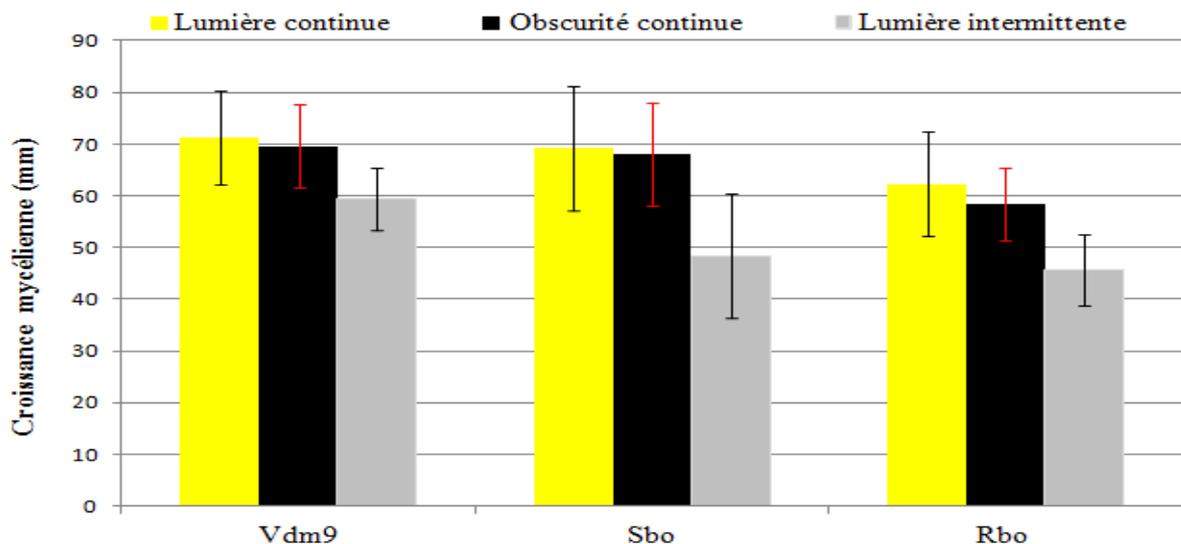


Figure 29: Influence de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne de *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum*, après 24, 9, 8 jours d'incubation respectivement sur milieu de culture PDA, ajusté à pH 6, à une température de 25°C.

Cependant, le régime de lumière intermittent (12h de lumière / 12h d'obscurité) a permis de faire les constatations suivantes:

- La croissance mycélienne des trois champignons est ralentie (**Figure 30**).
- La culture de *V. dahliae*, est hyaline rase, accompagnée d'une absence de production de microsclérotés (**Figure 30A**). Les résultats obtenus se concordent avec les travaux de Malik (2008) qui a suggéré que cette variation est due probablement à des mutations spontanées.
- La culture de *S. botryosum* a présenté une zonation (**Figure 30B**) constituée par une alternance de bandes blanches claires avec des bandes relativement noires, ce qui explique que ces dernières sont riches en spores contrairement aux bandes blanches qui en sont pauvres (SY-Ndir, 1993).
- La culture de *R. bataticola* a présenté un contour blanc grisâtre, plus dense au centre (**Figure 30C**). Cependant, les autres régimes de lumière en présence et en absence de la lumière continue, la zonation chez *S. botryosum* et le changement d'aspect cultural chez *R. bataticola*

et *V. dahliae* sont disparues. Des résultats similaires chez d'autres mycètes tels que le *Fusarium oxysporum* ont été rapportés par Pfohl-Leszkowicz, (2001), Tlemsani, (2010).

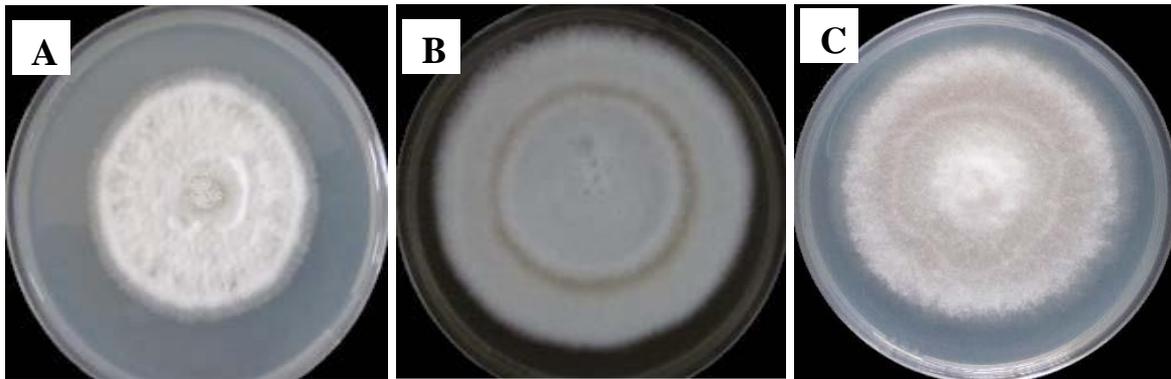


Figure 30: Présentation macroscopique des colonies de *V. dahliae* (A) *R. bataticola* (B) et *S. botryosum* (C) de 15, 9 et 8 jours de culture respectivement sur le milieu de culture PDA en présence d'une lumière intermittente de 12 h d'obscurité /12 h lumière.

Par ailleurs, certaines espèces fongiques sont au contraire très exigeantes en lumière pour leur sporulation (Leach, 1962). Une bonne sporulation des champignons nécessite deux phases; une phase de formation des conidiophores et le développement des filaments mycéliens favorisé par la lumière, suivie d'une phase de conidiogénèse favorisée par l'obscurité (Aragaki, 1961; Douglas, 1972; SY-Ndir, 1993).

5. Le pouvoir pathogène des six souches de *V.dahliae*

5. 1 Indice de rabougrissement

L'indice de rabougrissement a permis l'estimation du déficit de croissance des plants de tomate cv. Saint-Pierre inoculés avec les six souches de *V. dahliae* (**Figure 31**). Après 21 jours d'inoculation, les valeurs des I.R ont varié en fonction des souches fongiques testées, Le meilleur I.R est obtenu de l'inoculation avec la souche Vds1 (36.09 %) et le plus faible avec la souche Vdm4 (9.77%). Des I.R moyens de 12.44 à 27.44% sont obtenus de l'inoculation avec les souches Vds3, Vds5, Vdm2 et Vdm9 (**Figures 31 et 32**).

L'analyse de variance par le test F, a révélé une différence significative des I.R obtenus avec les souches de *V. dahliae* ($p < 0,05$), ce qui explique que le pouvoir rabougrissant des souches de *V. dahliae* est affecté par leurs provenances géographiques.

Des I.R relativement similaires (entre 10 et 60%) ont été rapportés par Boukenadel (2001), Reguragui, (2002), Malik, (2008), Castroverde *et al.*, (2010), Harir, (2010), Bellahcene (2004) chez plusieurs cultivars de tomate (Marmande, Saint-Pierre, industrielle et Craigella).

Les degrés de rabougrissement chez la tomate inoculée avec *V. dahliae* sont variables, ce qui explique que la tomate peut être infectée par certaines souches issues de l'olivier. À l'opposé, l'aubergine est attaquée par toutes les souches de *V. dahliae*, expliqué par l'absence de gène de résistance « *Ve* » au *Verticillium* (Cirulli, 1969; Vigoureux (1971)).



Figure 31: Présentation de rabougrissement des plantules de tomate, cv. Saint-pierre, après 21 jours d'inoculation par les six clones de *Verticillium dahliae*.

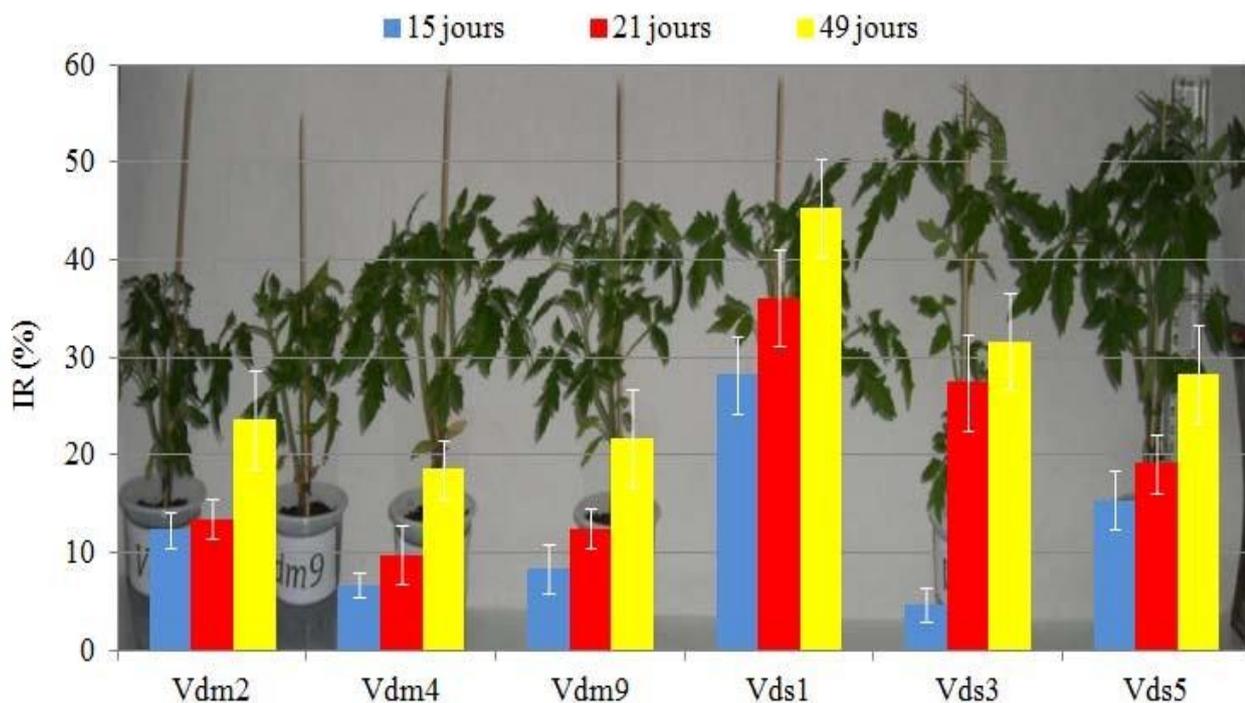


Figure 32: Présentation de variation des IR selon l'âge des plantules de tomate, cv. Saint-pierre infectées par les six souches de *Verticillium dahliae*.

Le rabougrissement causé par *V. dahliae* est également observé chez d'autres espèces végétales telles que le coton, la pomme de terre, le poivron, l'aubergine, le fraisier, l'olivier et une plante ornementale (*Lagunarai patersonii* A.) (Ramualde, 1992; Daayf, 1993; Pennisi *et al.*, 1993; Ferrandino 1995; Bejarano Alcàzar *et al.*, 1996; Polizzi 1996; Cherrab *et al.*, 2002; Pegg et Brady, 2002; Malik, 2008; Tohidfar *et al.*, 2012).

5. 2 Indice d'altération foliaire

L'indice d'altération foliaire a permis la quantification de l'agressivité des six souches de *V. dahliae* sur la tomate cv. Saint-Pierre. Toutes les souches de *V. dahliae* ont extériorisé des symptômes foliaires sur des plantules de tomate après une durée d'incubation moyenne de 20–30 jours selon les souches testées.

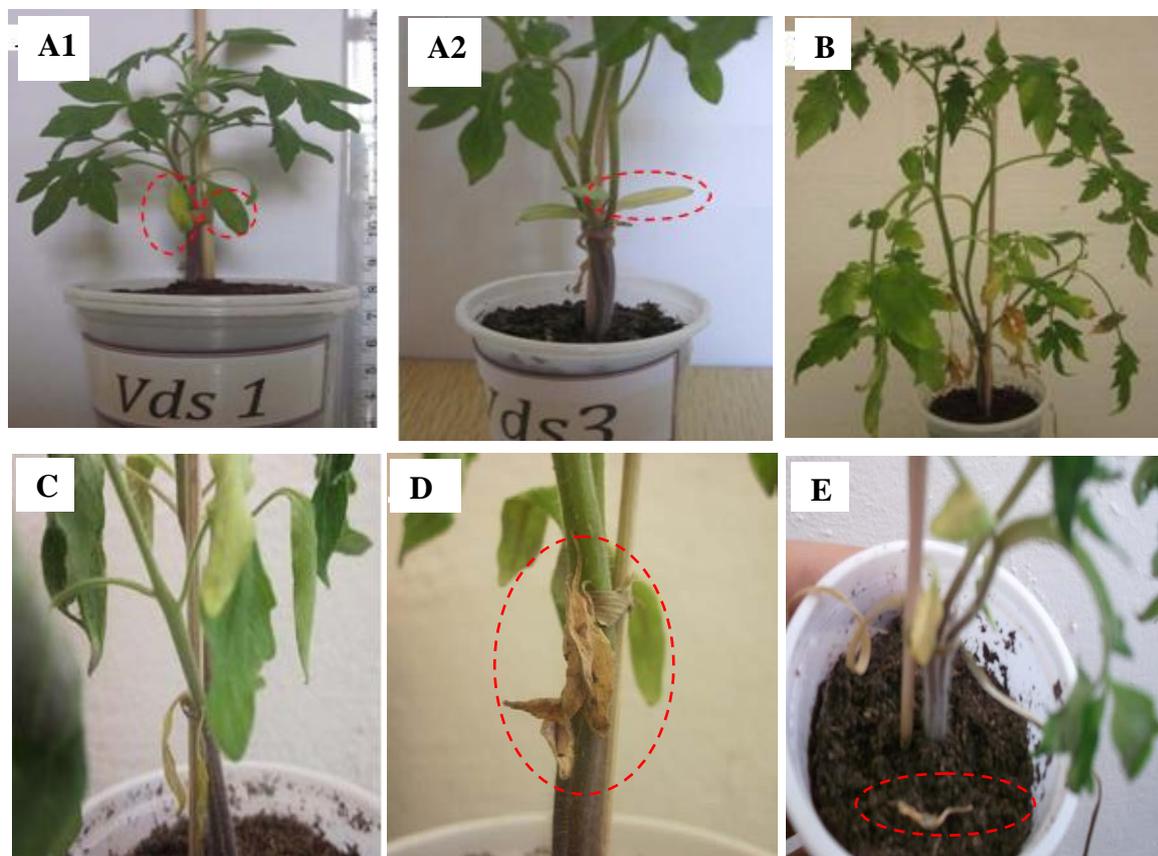


Figure 33: Observation de jaunissement progressif des premières feuilles d'un plant de tomate inoculé avec Vds1 (A1) et avec Vds3 (A2); leur dessèchement (B), leur flétrissement (C) et la chute foliaire (E).

À la base de la partie aérienne, un jaunissement progressif des feuilles les plus âgées (feuilles cotylédonaire) est observé, suivi par leur dessèchement et de leur chute (**Figure 33A1, A2, B, C, D, E**). Après 21 jours d'inoculation, les valeurs des I.A.F ont varié sensiblement selon les souches fongiques, l'I.A.F, le plus élevé est obtenu avec la souche

Vds1 (9.66 %) et le plus faible avec Vdm9 (6.12%). Des I.A.F intermédiaires sont obtenus (6.33 - 8 %) avec les souches Vds3, Vds5, Vdm2 et Vdm4 (**Figures 34**). Les résultats obtenus se concordent avec ceux de Boukenadel (2001) lors de l'inoculation avec *V. dahliae* le cultivar Saint-Pierre de tomate ($4 < \text{I.A.F} < 10\%$), Bellahcene (2005) le cultivar Marmande ($7,5 < \text{I.A.F} < 29,86\%$), Malik (2008) les cultivars Marmande ($12 < \text{I.A.F} < 24\%$) et industrielle ($13 < \text{I.A.F} < 20\%$). L'estimation des I.A.F moyens (7.79%) ont montré que la tomate cv. Saint-Pierre est sensible au champignon, bien que les altérations foliaires provoquées par les six souches de *V. dahliae* sont moins importantes comparativement aux résultats de certains travaux (Lahlou et Boisson, 1984; Boisson 1988; Daayf, 1993; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2005).

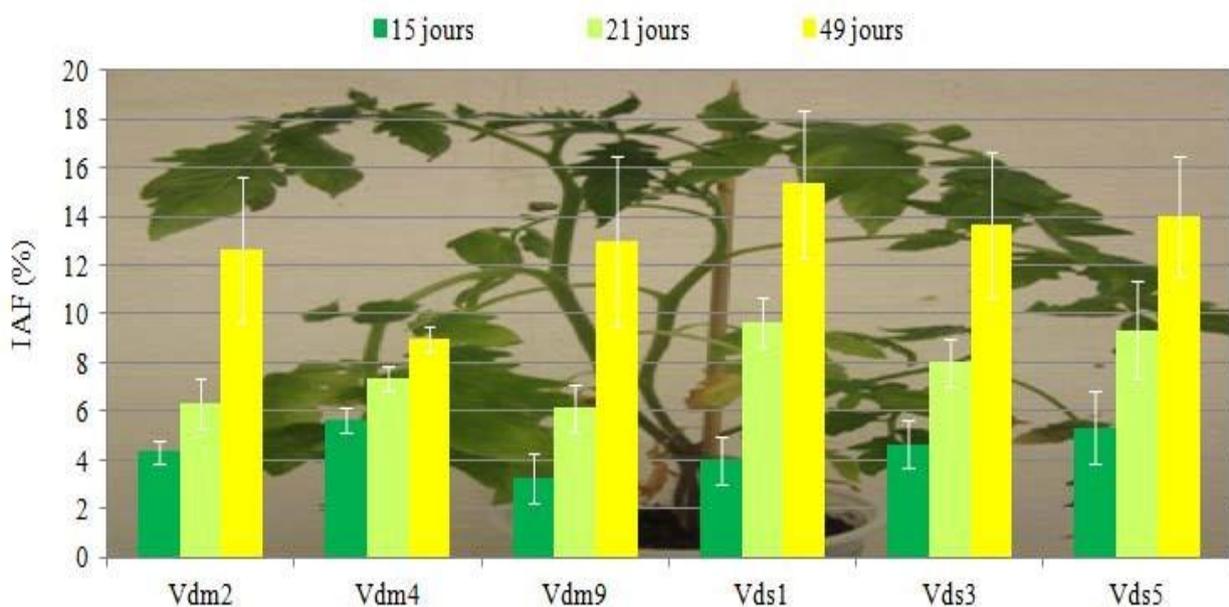


Figure 34: Présentation de variation des I.A.F selon l'âge des plantules la tomate cv. Saint-pierre, infectées par les six souches de *Verticillium dahliae*.

Les résultats de l'analyse de variance par le test F ont révélé une différence significative des I.A.F enregistrées avec les souches de *V. dahliae* ($p < 0,05$), ce qui explique que le pouvoir d'altération foliaire des souches est affecté par leurs provenances géographiques..

Par ailleurs, les altérations foliaires provoquées par *V. dahliae* sont aussi observées chez certaines espèces végétales telles que le coton, le poivron, l'aubergine, l'épinard, la pomme de terre et une plante ornementale (*Hebe x fracisan cv. Variegata*) (Ramualde, 1992; Daayf, 1993; Ferrandino, 1995; Conca et Infantino, 2004; Du Toit *et al.*, 2005; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2006; EL Hadji-Djibo *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2012; Tohidfar *et al.*, 2012). L'apparition des symptômes chez les plantes inoculées par *V. dahliae* est expliquée par une réaction de la plante à l'infection; le champignon libère des métabolites toxiques dans les tissus de l'hôte, en réponse à l'infection, la tomate en contrepartie, élabore aussi certains

métabolites qui induisent le jaunissement, la flétrissure du feuillage et la défoliation des plants infectés (Bellahcene, 2004).

Certains plants de tomate inoculés avec la souche Vds3, très rabougris ne présentent pas des symptômes foliaires importants, ce qui suppose que l'origine de rabougrissement chez la tomate est déterminée par des éléments du génome indépendants de ceux responsables des altérations foliaires comme rapporté par Douira (1995).

5. 3 Brunissement

L'absence de brunissement a été observée au niveau des collets et des tiges des plants de la tomate inoculés par les six souches de *V. dahliae*. Des résultats similaires ont été rapportés, sur la tomate, l'aubergine, le poivron (Regragui, 2005; Malik, 2008), sur l'olivier (Wilhelm et Taylor 1965; Thanassouloupoulos *et al.*, 1979; Blanco-Lopez *et al.*, 1984; Al-Ahmad et Mosli, 1993; Cherrab *et al.*, 2002; Bellahcene, 2004) et sur d'autres plantes (Eastburn et Chang, 1994). Des travaux antérieurs ont attribué l'absence de brunissement chez des plantes infectées par *V. dahliae* à la distribution hétérogène de l'agent pathogène dans les tissus de l'hôte (Woolliams, 1966), l'absence de l'oxydation de certains composés phénoliques présents dans les vaisseaux de la plante sensible, en quinones, qui se polymérisent par la suite en mélanines (produits bruns) qui font brunir les tissus de la plante (El Modafar, 2002).

5. 4 Le réisolement de l'agent pathogène

Les réisolements fongiques ont révélé l'absence de *V. dahliae* dans toutes les parties chez les plants témoins et dans les racines et les collets chez les plants inoculés, et sa présence dans les tiges (**Figure 35A, B, C**). Ce qui explique que l'infection est bien due à *V. dahliae* traduite par les symptômes observés (flétrissement, jaunissement, défoliation et rabougrissement).

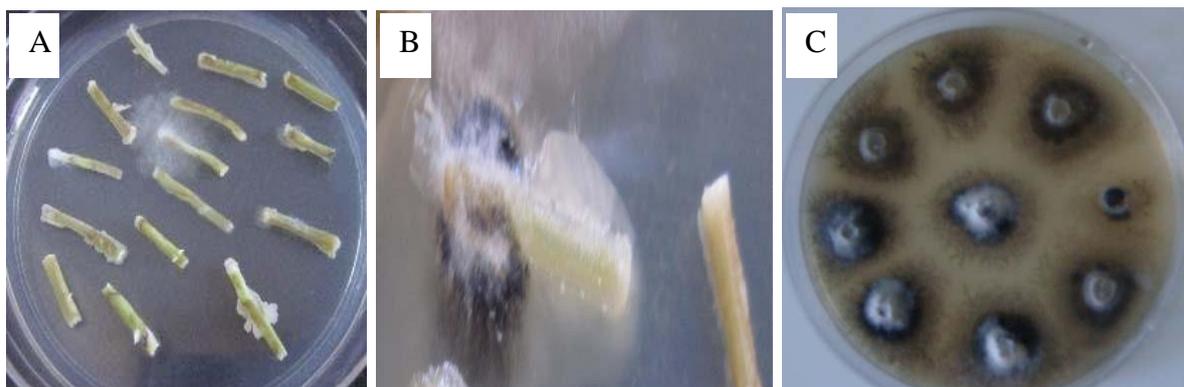


Figure 35: Observation macroscopique des thalles de *Verticillium dahliae* issus des tiges de la tomate (A), colonie noire de *V. dahliae* provenant de la tige (B) et leur repiquage sur milieu de culture PDA (C).

Des études antérieures réalisées par Tsrer *et al.* (1998) ont rapporté un taux de réisolement de *V. dahliae* plus élevé dans les tiges que dans les feuilles sur le milieu de culture PDA. Regrui (2005) a également signalé un taux de colonisation élevé de *V. dahliae* dans la base de la tige par rapport à celui des racines chez la tomate. EL Hadji-Djibo *et al.* (2012) a rapporté que la pénétration du *V. dahliae* s'effectue au niveau des jeunes racines, près de l'apex et au niveau de l'émergence des racines latérales, ce qui constitue un tissu approprié pour le réisolement. Le réisolement positif est élevé quand l'I.R et l'I.A.F sont faibles; c'est le cas de quelques plants de tomate inoculés par les souches Vdm4 et Vdm9. Douira (1995) a rapporté que le pouvoir parasitaire des souches de *V. dahliae* (pénétration et l'installation dans la plante) est faiblement lié avec son pouvoir pathogène (induction de rabougrissement et d'altération foliaire). Cependant, leur aptitude parasitaire est déterminée par un ensemble de gènes, contrôlant la pénétration et l'installation du champignon dans les racines puis dans l'hypocotyle et ensuite dans l'épicotyle des plantes. Des travaux antérieurs réalisés par Malik (2005) ont rapporté des résultats similaires sur le taux de réisolement positif élevé de *V. dahliae* chez trois cultivars de deux plantes (tomate cv. Marmande, poivron cv. doux d'Espagne et aubergine cv. Pimento Rosso) ayant un indice de maladie faible. Douira (1995), a rapporté que l'origine du pouvoir parasitaire permettant, la pénétration et l'installation de *V. dahliae* dans les différents niveaux de la plante est déterminée par des éléments du génome indépendants de ceux induisant le rabougrissement et de ceux provoquant des altérations foliaires.

5. 5 Évaluation du pouvoir pathogène des six souches de *V.dahliae*

L'analyse des deux paramètres étudiés (I.R et I.A.F) a permis l'estimation du pouvoir pathogène des six souches de *V. dahliae* et les répartir en trois groupes:

- 1- Les souches provoquant en même temps des rabougrissements prononcés et des altérations foliaires relativement remarquables (Vds1 et Vds3);
- 2- Les souches provoquant des rabougrissements moins prononcés et des symptômes foliaires remarquables par rapport aux autres (Vds5 et Vdm2);
- 3- Les souches provoquant des rabougrissements peu importants et peu d'altérations foliaires (Vdm9 suivi du Vdm4).

Les résultats obtenus ont montré que les souches de *V. dahliae* isolées à partir des oliviers de Sidi Bel Abbès (Vds1, Vds3 et Vds5) ont une agressivité plus importante que celles des oliviers de Mascara (Vdm9, Vdm2 et Vdm4), ce qui explique l'existence d'une relation pouvoir pathogène - localisation géographique. Bellahcene (2004) au contraire, a démontré

l'absence de cette relation chez les souches *V. dahliae* issus de trois régions du monde (Algérie, France et Syrie).

La variabilité du pouvoir pathogène des souches de *V. dahliae* étudiées est probablement liée soit à la présence de cultures intercalaires sensibles à la verticilliose qui influencent leur degré de pathogénicité (Cherrab *et al.*, 2002; Loula *et al.*, 2011), soit au système de culture, qui élargit la spécificité de parasite en cas d'un système faisant intervenir des espèces variées en rotation (Vigouroux, 1971).

De nombreux auteurs (Reguragui, 2002; Hajlaoui *et al.*, 2003; Bellahcene, 2004; Jabnoun-Khiareddine, 2004; Harir, 2010; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2010; EL Hadji Djibo *et al.*, 2012) ont attribué la diversité du pouvoir pathogène chez *V. dahliae* à l'hétérogénéité génétique de la tomate qui a subi l'inoculation.

D'autres auteurs (Miller, 1945; Boisson et Lahlou, 1980; Nelson *et al.*, 1981) ont rapporté qu'à chaque morphotype de *V. dahliae* correspondrait un niveau différent de pouvoir pathogène tel est le cas du morphotype hyalin qui présente une pathogénicité atténuée par rapport au morphotype sauvage (Miller, 1945; Pegg et Brady, 2002).

Au terme de ce travail, l'évaluation du pouvoir pathogène des souches de *V. dahliae* isolées de deux régions en Algérie (Sidi Bel Abbès et Mascara) semble être quelque peu subjective en raison des conditions expérimentales effectuées *in vivo*. D'ailleurs, de nombreux facteurs sont susceptibles d'influencer les expérimentations tels que la température, la méthode de l'inoculation, l'âge de la plante, la gamme d'hôte (Schnathorst et Sibbett, 1971; Kraft et Haglund, 1978; Armstrong et Armstrong, 1981; Jabnoun-Khiareddine *et al.*, 2005; Malik, 2008).

6. Activité des fongicides sur la croissance *in vitro* des souches de *V. dahliae*

Les résultats obtenus ont montré que les trois fongicides testés (Pelt44, Ridomil Gold, Ortiva) ont réduit la croissance des six souches de *V. dahliae* quelle que soit leur concentration surtout aux concentrations les plus élevées.

L'utilisation du fongicide Pelt 44 à une concentration de 4ppm a permis une inhibition totale (100%) des souches Vds3, Vdm4, Vdm9, à 90% Vdm2 et à moins de 80% les souches Vds1 et Vds5 (**Figures 36 et 37**).

Par ailleurs, le fongicide Ridomil Gold à une concentration de 4 ppm a permis une inhibition totale (100%) des souches Vdm4, à 90% les souches Vdm2, Vds3 et Vds5 et à plus de de 60% Vds1 et Vdm9 (**Figures 38 et 39**).

Cependant, l'utilisation du fongicide Ortiva a permis une inhibition moyenne (60%) des souches Vdm2, Vdm4 et Vdm9 et à 50% Vds1, Vds3 et Vds5 (**Figures 40 et 41**).

L'utilisation de la classification de Bonnen et Hopkins (1997), a révélé que les six souches de *V. dahliae* se manifestent très sensibles au Pelt 44 à une concentration de 4ppm, sensibles à très sensibles au Ridomil Gold et moyennement sensibles à l'Ortiva à cette même dose.

Il ressort des résultats que la souche Vdm4 se manifeste la plus sensible aux trois fongicides testés tandis que la souche Vds1 est la moins sensible par rapport aux autres souches. Le Pelt44 se manifeste le plus actif contre *V. dahliae* comparativement au Ridomil Gold et l'Ortiva. Les résultats obtenus se concordent avec ceux rapportés par Boukenadel, (2001), Corbaz, (1990), Ciancio et Mukerji, (2008), Boughalleb-M'Hamdi *et al.*, (2011) qui ont rapporté l'efficacité de Pelt44 sur *V. dahliae in vitro*. En outre, Rekanović *et al.* (2011) ont démontré son efficacité *in vivo* contre *V. dahliae* de la verticilliose du poivron. L'activité antifongique du Pelt 44 sur la croissance de *V. dahliae* est due à sa matière active, méthylthiophanate qui bloque la division cellulaires et la germination des spores *V. dahliae* (Paternelle et Lhoutellier, 2002; Leroux, 2003; Rocher, 2004).

Quant au Ridomil Gold, celui-ci contient deux matières actives, le M-métalaxyl et le mancozèbe qui génèrent de l'isothianate, inactivant le groupement thiol des enzymes et des métabolites dans les cellules (Ragsdal, 1992). Boughalleb-M'Hamdi *et al.* (2011) ont rapporté que Ridomil Gold peut inhiber *in vivo V. dahliae* à 1000ppm.

En ce qui concerne le fongicide Ortiva, il contient une matière active appelée azoxystrobine qui agit sur la chaîne respiratoire de *V. dahliae* (Brooks et Roberts, 1999; Paternelle et Lhoutellier, 2002; Leroux, 2003). Bubicic *et al.* (2006) ont montré que l'azoxystrobine est active *in vivo* contre la verticilliose de l'aubergine.

Au terme de cette étude, il est à rappeler que le Pelt 44 possède un large spectre d'action et son efficacité est prouvée sur une large gamme de maladies fongiques (Garibaldi *et al.*, 1986; Rocher, 2004). Néanmoins, son utilisation en traitement contre la verticilliose exigerait toutefois une certaine prudence et une bonne surveillance, car il ya un risque d'apparition de souches résistantes, la situation deviendrait critique et aucun moyen alternatif ne serait disponible (Leroux, 2003).

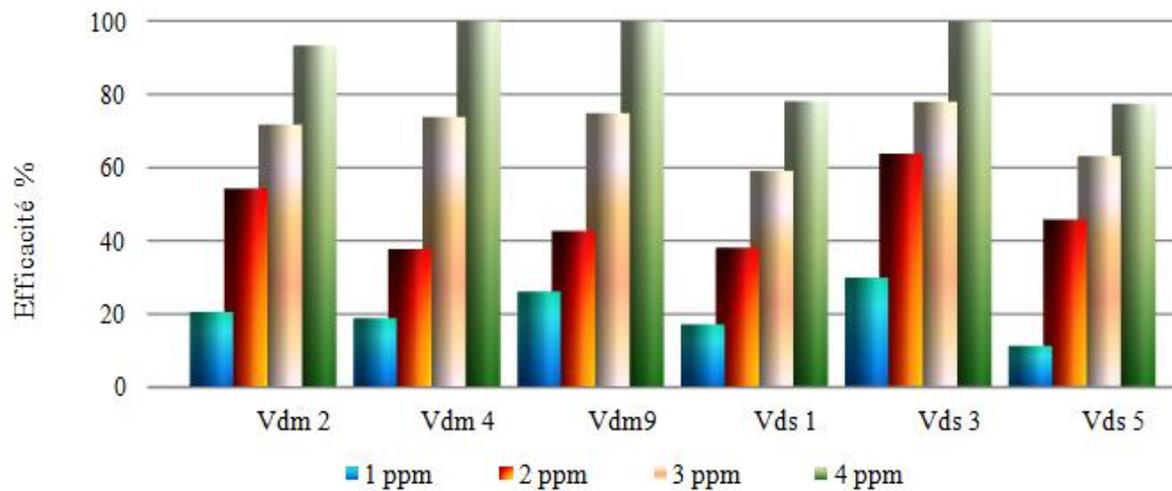


Figure 36: L'activité antifongique de Pelt 44 vis-à-vis de la croissance mycélienne des six isolats de *Verticillium dahliae*.

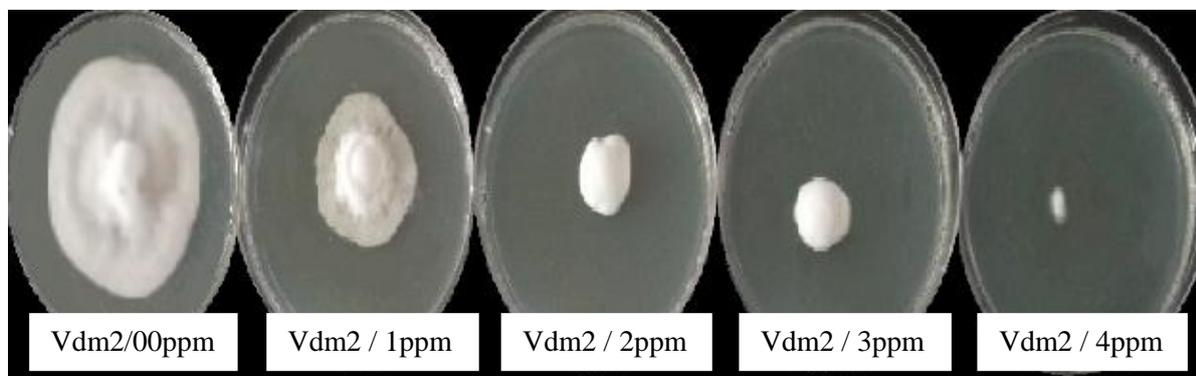


Figure 37: La croissance mycélienne de Vdm2 sur milieu de culture PDA additionné de Pelt 44 de différentes concentrations après 15 jours de culture à une température de 25°C.

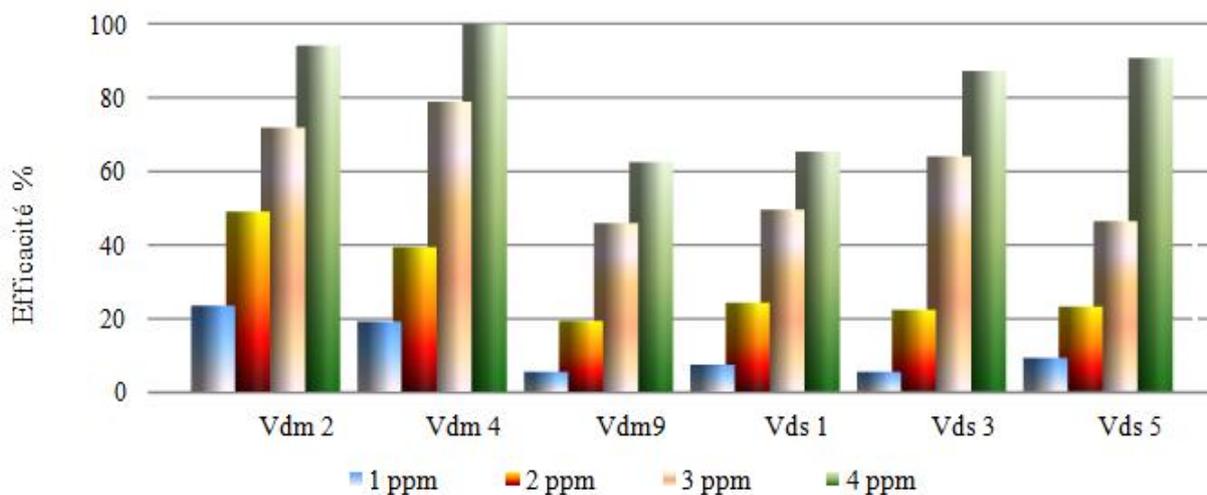


Figure 38: L'activité antifongique de Ridomil Gold vis-à-vis de la croissance mycélienne des six isolats de *Verticillium dahliae*.

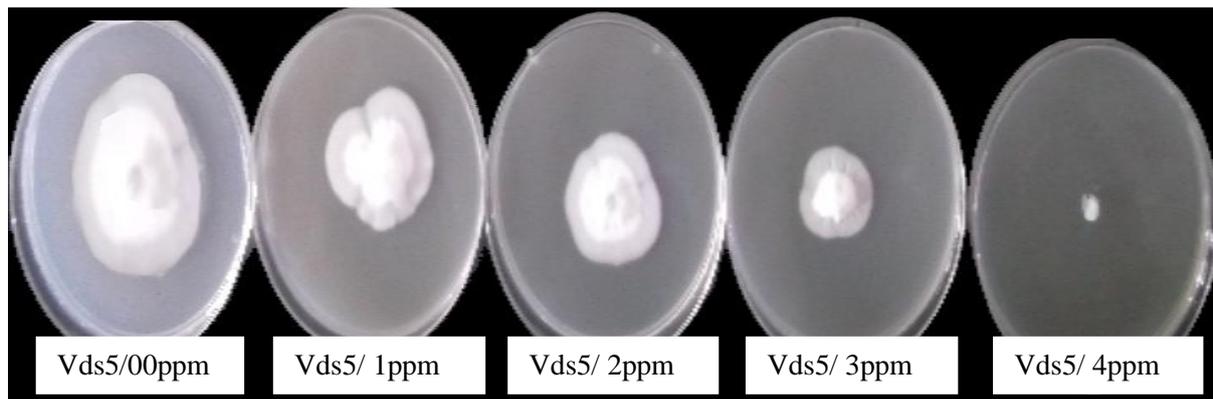


Figure 39: La croissance mycélienne de Vds5, sur milieu de culture PDA, additionné de différentes concentrations de Ridomil Gold, après 15 jours d'incubation à une température de 25°C.

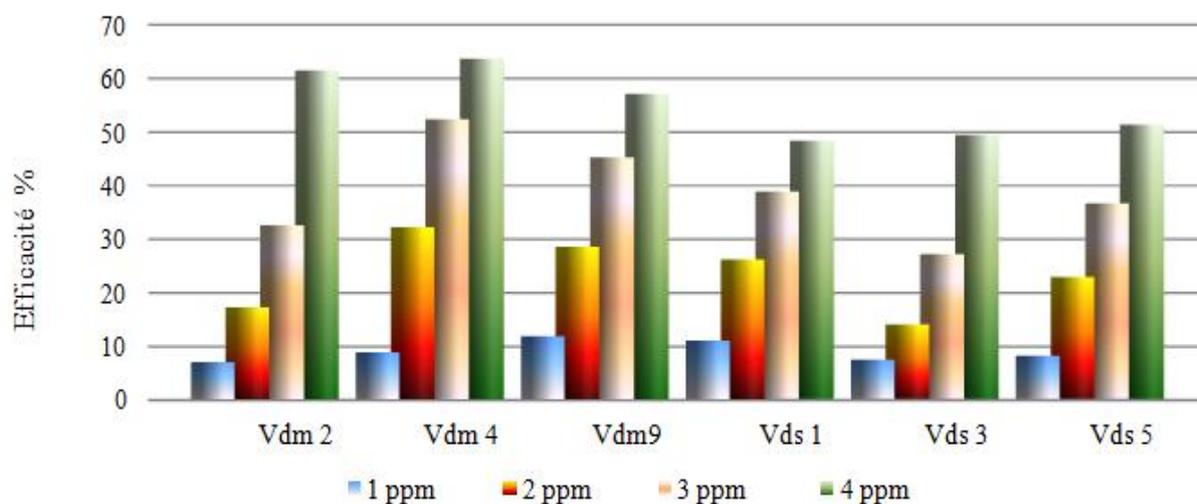


Figure 40: L'activité antifongique d'Ortiva vis-à-vis de la croissance mycélienne des six isolats de *Verticillium dahliae*.



Figure 41: La croissance mycélienne de Vds5, sur milieu de culture PDA, additionné de différentes concentrations d'Ortiva, après 15 jours d'incubation à une température de 25°C.



Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La culture de l'olivier occupe une place de choix dans le commerce international, elle peut générer des revenus importants pour l'Algérie. Cependant, la pression parasitaire exercée sur cette oléacée se traduit par des pertes de récoltes importantes. Parmi, les parasites de l'olivier, figure les champignons, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia bataticola*, *Stemphylium botryosum*. La connaissance morphologique, physiologique et pathogénique de ces pathogènes s'avère indispensable pour mieux comprendre leur biologie et par conséquent les méthodes de lutte pour sauver le verger oléicole du pays.

Dans ce contexte, des prospections sont effectuées dans cinq oliveraies au Nord-Ouest algérien (Sidi Bel Abbès, Mascara et Oran) pour la localisation des foyers de quelques maladies de l'olivier, l'isolement, l'identification des espèces fongiques. Les tournées de prospections ont révélé que les vergers d'oliviers prospectés sont principalement atteints de verticilliose [5 – 70 %] et de tavelure [10 - 90%] par contre, la pourriture racinaire, la fumagine et la tuberculose [7 à 10 %] semblent être moins importantes.

Les isollements des champignons effectués à partir des rameaux prélevés d'arbres atteints de verticilliose et de pourriture racinaire de l'olivier ont permis d'identifier 22 isolats dont 20 de *Verticillium dahliae*, un *Rhizoctonia bataticola*, un *Stemphylium botryosum*, en se basant sur des caractéristiques morphologiques et culturales. Les résultats des isollements ont montré que le pourcentage de réussite [40 - 90 %] varie selon le lieu de prélèvement des échantillons, la saison, les foyers d'infestation et la sévérité de la maladie.

L'étude des caractéristiques culturales des isolats de *V. dahliae* a permis la distinction de trois morphotypes par A.C.P. Les deux autres champignons (*R. bataticola* et *S. botryosum*) ont révélé une variabilité dans l'aspect, la pigmentation de la colonie et la sporulation.

L'étude de l'influence de quelques paramètres physiologiques sur la croissance mycélienne a révélé que *V. dahliae*, *R. bataticola* et *S. botryosum* se développent mieux respectivement sur les milieux V8 agar, MEA et PDA, et indifféremment sur un intervalle de pH [5 – 8]. La température optimale de croissance est de 25°C pour *V. dahliae* et *S. botryosum* et de 30°C pour *R. bataticola*. L'alternance de 12h obscurité / 12h lumière par rapport aux autres régimes (obscurité continue et lumière continue) a provoqué un ralentissement de croissance et un changement d'aspect cultural des trois champignons.

Les essais en serre, sur la tomate cv. Saint Pierre inoculés par *V. dahliae* ont permis l'observation de divers symptômes (rabougrissement, flétrissure du feuillage, jaunissement et chute des feuilles) et l'estimation des I.A.F et des I.R qui diversifient les aptitudes

Conclusion et perspectives

pathogéniques des souches. C'est ainsi que les souches isolées de l'oliveraie de Sidi Bel Abbès semblent être plus pathogènes que celles de Mascara.

Le réisolement de *V. dahliae* effectué à partir de fragments de collets et des tiges des plants de tomate inoculés a confirmé que les symptômes observés sont bien dus à cette espèce fongique.

Les tests *in vitro* des trois fongicides (Pelt 44, Ridomil Gold, Ortiva) ont démontré leur efficacité sur la croissance mycélienne des souches de *V. dahliae* (même à faibles concentrations). La souche Vdm4 est la plus sensible aux trois fongicides testés, la souche Vds1 en est la moins sensible. Le Ridomil Gold et l'Ortiva sont moins fongitoxiques que le Pelt 44. Ce dernier a inhibé totalement la croissance mycélienne de Vdm4, Vdm9 et Vds3 à la dose de 4ppm. L'application de ces trois fongicides semble être intéressante contre la verticilliose.

En perspectives, les résultats de ce travail nous ouvrent des voies de recherche intéressantes telles que:

- ✓ L'élargissement des prospections dans d'autres oliveraies algériennes afin d'évaluer leur état phytosanitaire et d'estimer leur incidence économique.
- ✓ Le test d'un nombre d'isolats de *V. dahliae* plus important en diversifiant les origines géographiques, afin d'évaluer leur hétérogénéité pathogénique et établir un lien entre cette dernière et leur adaptation physiologique.
- ✓ L'étude de la diversité génétique de *V. dahliae* par la compatibilité végétative et les marqueurs RAPD pour pouvoir dégager une image synthétique de l'apport de chacun dans l'évolution de *V. dahliae* en sous populations.
- ✓ L'étude de l'interaction hôte / pathogène, pour mieux comprendre le mode pathogénique de *V. dahliae*.
- ✓ Le test *in vitro* d'autres fongicides et évaluation de leur efficacité.
- ✓ Et enfin la recherche d'autres méthodes de lutte telle que la lutte biologique ou la lutte biologique combinée avec la lutte chimique à moindres doses.

Références bibliographiques



Références Bibliographiques

- Abdelguerfi A. (2003).** Rapport de Synthèse sur « La Biodiversité Importante pour l'Agriculture en Algérie ». MATE-GEF/PNUD: Projet ALG/97/G31.123p.
- Argenson C., Regis S., Jourdain J., M., Yaysse P. (1999).** Centre technique interprofessionnel des fruits et légume (Ctifl), Paris, 204 p.
- Armstrong GM., Armstrong J.K. (1981).** Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum*. In: Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J. (eds) *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy* The Pennsylvania State University, University Park. pp. 391-399.
- Arslan M., Dervis S. (2010).** Antifungal activity of essential oils against three vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 26:1813–1821.
- Attrassi K., Selmaoui K., Ouazzani Touhami A., Badoc A., Douira A. (2005).** Biologie et physiologie des principaux agents fongiques de la pourriture des pommes en conservation et lutte chimique par l'azoxystrobine *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.*, 144 : 47-62.
- Aveling T.A.S., Snyman H.G. (1993).** Infection studies of *Stemphylium vesicarium* on onion leaves. *Mycol. Res.*, 97: 984-988.
- Bakr M.A., Ahmed F. (1992).** Development of *Stemphylium* blight of lentil and its chemical control. *Bangladesh J. Plant. Pathol.*, 8 : 39-40.
- Barbara H. (2001).** Olive diseases in South Australia. Australian Olive Association LTD, the olive press, winter.
- Barnett H.L., Barry Hunter B. (1972).** Illustrated genera of imperfecti fungi. Third Edition. Burgess Publishing Company. 239p.
- Basallote-Ureba M.J., Prados-Ligero A.M., Melero-Vara J.M. (1998).** Effectiveness of tebuconazole and procymidone in the control of *Stemphylium* leaf spots in garlic. *Crop Protection*, 17: 491- 495.
- Bashi E., Rotem J. (1975).** Sporulation of *Stemphylium botryosum* f. sp. *lycopersici* in tomatoes and of *Alternaria porri* f. sp. *solani* in potatoes under alternating wet–dry regimes. *Phytopathology*, 65: 532-535.
- Batcho M., Dubois I. (1976).** Etude de quelques effets de l'*Ustilago violacea* (Pers.) Roussel sur la croissance de colonies tissulaires et de suspensions cellulaires du *Silene alba* (Miller) E.H.L. Krause. *Bull. Soc. Bot. N. Fr.*, 28-29 (3-4): 51-56.
- Bhat R.G., Koike S.T., Smith R.F., Subbarao K.W., Wu B.M. (2003).** Characterization of *Verticillium dahliae* isolates and wilt epidemics of pepper. *Plant Disease*, 87: 789-797.
- Bhattacharya D., Dhar T.K., Siddiqui K.A.I., Ali E. (1994).** Inhibition of seed germination by *Macrophomina phaseolina* is related to phaseolinone production. *J. Appl. Bacteriol.*, 77: 129 -133.
- Bejarano-Alcázar J., Blanco-López M.A., Melero-Vara J.M., Jiménez-Díaz R.M. (1996).** Etiology, importance, and Plant Soil distribution of *Verticillium* wilt of cotton in southern Spain. *Plant Dis* 80:1233–1238.
- Békési P. (2007).** Sunflower diseases in 2007. *Agrofórum*, 18:17–19.
- Belabid L. (2003).** La fusariose vasculaire de la lentille (*Lens culinaris* Med.) dans le Nord Ouest Algérien: morphologie et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) Emend. S. & H. f.sp.
-

Références Bibliographiques

- lentis* (Vasud. & Srin.) en relation avec la répartition géographique et le pouvoir pathogène. Doct. D'Etat. Univ. Oran (Algérie), 178p.
- Bellahcene M., Fortas Z., Henni D., Matallah A., Geiger J.P., Nicole M. (1997).** Importance and epidemiology of *Verticillium dahliae* (Kleb.) on olive in Kabylie. In: Proceeding oh 10th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, june 1-5, Montpellier, France, 661p.
- Bellahcene M., Fortas Z., Geiger J.P., Matallah A., Henni D. (2000).** *Verticillium* wilt in olive in Algeria: geographical distribution and extent of the disease. *Olive*, 82: 41–43.
- Bellahcene M. (2004).** La verticilliose de l'olivier : étude épidémiologique et diversité génétique de *Verticillium dahlia* kleb., Agent de la verticilliose. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Oran (Algérie). 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.
- Belaj A., Munoz-Diez C., Baldoni L., Satovic Z., Barranco D. (2010).** Genetic diversity and relationships of wild and cultivated olives at regional level in Spain. *Sci. Hortic.*, 124: 323–330.
- Benjama A. (1988).** Les maladies parasitaires de l'olivier au Maroc. *Olivæ* n° 20.
- Benchabane M. (1990).** Observation des cas de verticilliose de l'olivier à cap Djinet et Sidi-Aïch. Rapport de mission. ITAF, Algérie. p 5.
- Benchabane M., Alia A., Fadil J., Toual D. (2010).** Etat de la verticilliose dans quelques oliveraies algériennes. *Revue Ezzaitouna*, 11(1)
- Benyoub K. (2010).** Isolement de souches de *Pseudomonas* à partir des sols et des nécroses d'oliviers de l'Ouest Algérien : Identification et caractérisation biochimique, sérotypique et phytopathologique. Recherche de l'antibiorésistance, d'antagonisme (bactériocine) et d'ADN plasmidique. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 156p.
- 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.
- Besnard G., Bervillé A. (2000).** Multipleorigins for Mediterranean olive (*Olea europaea* L. ssp.*europaea*) based upon mitochondrial DNA polymorphisms. *Life. Sci.*, 323:173–181.
- Besnard G., Breton C., Baradat P., Khadari B., Bervillé A. (2001).** Cultivar identification in the olive (*Olea europea* L.) based on RAPDS. *J. Amer. Hort. Sci.*, 126: 668-675.
- Besnard G., Garcia-Verdugo C., Rubio De Casas R., Treier U.A., Galland N., Vargas P. (2008).** Polyploidy in the olive complex (*Olea europaea*): evidence from flow cytometry and nuclear microsatellite analyses. *Ann. Bot.*, 101 : 25–30.
- Besnard G., Rubio de Casas R., Christin P.A., Vargas P. (2009).** Phylogenetics of *Olea* (*Oleaceae*) based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequences: tertiary climatic shifts and lineage differentiation times. *Ann. Bot.*, 104: 143–160.
- Beye I., Lafay J.P. (1985).** Etude des critères de sélection pour une résistance générale à la verticilliose chez la tomate. *Agronomie*, 5(4): 305-311.
-

Références Bibliographiques

- Blanco-Lopez M.A., Jimenez-Diaz R.M., Caballero J.M. (1984).** Symptomatology, incidence and distribution of *Verticillium wilt* in olive trees in Andalusia. *Phytopathol. Mediterr.*, 23 : 1-8.
- Bonnen A.M., Hopkins C. (1997).** Fungicide resistance and population variation in *Verticillium fungicola*, a pathogen of the button mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycol. Res.*, 101: 89-96.
- Bonjar G.H.S., Aghighi S. (2005).** Chitinolytic and microsclerostatic activity of Iranian strains of *Streptomyces plicatus* and *Frankia* sp. On olive isolate of *Verticillium dahliae*. *Biotechnology*, 4:108–113.
- Boisson C., Lahlou H. (1980).** Etude du polymorphisme intraclonal chez *Verticillium albo-atrum*, forme à microsclérotés. I. La morphogénèse des thalles à partir des microconidies et ses variations. *Can. J. Bot.*, **58** : 2407-2419.
- Boisson C., Lahlou H. (1983).** Etude du polymorphisme intraclonal chez le *Verticillium albo-atrum* , forme à microsclérotés. II - L'aptitude à varier chez les variants morphologiques. *Cano I Bot.*, Vol. 61 (12) pp. 3536-3542.
- Boisson C. (1988).** Intéret des variants hyalins du *Verticillium dahliae* pour la selection des variétés de tomates résistantes à la verticilliose. 2^{ème} conférence internationale sur les maladies des plantes. Bordeaux. Novembre : 1-8.
- Boiteux L.S., Lima M.F., Menezes Sobrinho J.A., Lopes C.A. (1994).** A garlic (*Allium sativum*) leaf blight caused by *Stemphylium vesicarium* in Brazil. *Plant. Pathol.*, 43: 412-414.
- Boosalis M.G., Scharen A.L. 1959.** *Phytopathology*, 49 : 192-198.
- Booth C. (1971).** The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 237p.
- Boudi M., Chehat F., Cheriet F. (2013).** Compétitivité de la filère huile d'olive en Algérie : cas de la wilaya de Bejaia. Les cahiers des CREAD n 105/106. pp 89-112.
- Boughalleb-M'Hamdi N., Souli M., Ben Salem I., Selmi S., Romdhani M.E. (2011).** Screening of fungi implicated in the dieback of olive trees (*Olea europaea*) in Chebika's area in Tunisia. *Research in Plant Biology*, 1(4): 33-38.
- Boukenadel F. (2001).** Contribution à l'étude de *Verticillium dahliae* Kleb., agent de la verticilliose de l'olivier. Mém. Magister, Univ. Tlemcen (Algérie), 103p.
- Boullinger M. (1970).** Cultures maraichère.-phytopathologie, phytochimie, projet Algerie. Formation professionnelle agricole, 70p.
- Boulila M., Mahjoub M., Romdhani M.S., Ben Othmen M.N. (1993).** La maladie du pourridié-agaric observée dans des oliveraies tunisiennes. Conf. UPM/OEPP sur les maladies de l'olivier, Sounion (Grèce), 05-08/05/92, Bulletin OEPP, 23 : 447-448.
- Boulila M., Mahjoub M. (1994).** Inventaire des maladies de l'olivier en Tunisie. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 24 : 817-823.
- Boulila M. (2001).** Olive diseases in Tunisia : state of the art. *Olivae*. No. 85 : 22-25.
-

Références Bibliographiques

- 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.
- Bouzar H., Daouzli N., Krimi Z., Alim A., Khemici E. (1991).** Crown gall incidence in plant nurseries of Algeria, characteristics of *Agrobacterium tumefaciens* strains, and biological control of strains sensitive and resistant to agrocin 84. *Plant pathology*, 11 : 901-908.
- Braffio C.A., Kivrak E., Heller W.E. (2004).** Vulgarisation en cultures maraichères: Mise en évidence de champignon du genre *Alternaria* résistants à l'iprodione utilisé pour la désinfection des semences de carottes, le maricher, 210p.
- Breton C., Medial F., Pinatel C., Berville A. (2006a).** De l'olivier à l'oléastre : Origine et domestication de l'*Olea europea* L. dans le Bassin méditerranéen. *Cahiers agricultures* vol.15, n°4: pp. 329-335.
- Breton C., Besnard G., Berville A.A. (2006b).** Using multiple types of molecular markers to understand olive phylogeography. In: Zeder MA, Bradley DG, Emshwiller E, Smith BD (eds) *Documenting domestication: new genetic and archeological paradigms*. University of California Press, Berkeley, 143–152
- Brooks G.T., Roberts T.R. (1999).** *Pesticides chemistry and bioscience, the food environment challenge*. R. Soc. Chem., Cambridge, UK. 438 p.
- Bruton BD., Biles C.L., Dunlap J.R. (1995).** Nutrient utilization of *Macrophomina phaseolina*: a chromogenic isolate from cantaloupefruit. *Subtrop. Plant. Sci.*, 47:46–52.
- Bubici G., Amenduni M., Colella C., D'Amico M., Cirulli, M. (2006).** Efficacy of acibenzolar-S-methyl and two strobilurins, azoxystrobin and trifloxystrobin, in the control of corky root of tomato and *Verticillium wilt* of eggplant. *Crop Protection*, 25: 814-820.
- 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.
- Caballero J.M., Del Rio C. (2008).** The olive world germplasm bank of Spain. *Acta. Hortic.*, 791:31–38.
- Cacciola S.O., Agosteo G.E., Magnano S.L.G. (2001).** Collar rot and rot of olive trees caused by *Phytophthora megasperma* in Sicily. *Plant. Diseases.*, 85: 96.
- Campbell C.L., Van der Gaag D.J. (1993).** Temporal and spatial dynamics of microsclerotia of *Macrophomina phaseolina* in three fields in North Carolina over four to five years. *Phytopathology*, 83: 1434–1440.
- Carrión Y., Ntinou M., Badal E. (2010).** *Olea europaea* L. in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews*, 29 :952–968.
- Castroverde C.D.M., Nazar R.N., Robb J. (2010).** Defense genes in tomato. In E.D. Aubé and F.H. Poole (eds.) *Tomatoes: Agricultural Procedures, Pathogen Interactions and Health Effects*. Hauppauge, New York: Nova Publishers (in press).
- Ciancio A., Mukerji K.G. (2008).** Integrated Management of *Verticillium Wilt* of Tomato. A. Ciancio & K. G. Mukerji (eds.), *Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria*, Bari (Italy), 225–242.
-

Références Bibliographiques

- Cirulli M. (1969).** Un isolato di *Verticillium dahliae* Kleb. virulento verso varietà resistenti di pomodoro. *Phytopathol. Mediterr.*, 8 : 132-136.
- Civantos L. (1999).** Contrôle des parasites et des maladies de l'olivier. (eds.). Conseil Oleicole International, Madrid, (Espagne). 207p.
- Civantos L. (2008).** La olivicultura en el mundo y en España. In: Barranco D, Fernández-Escobar R, Rallo L (eds) *El cultivo del olivo*, 6th edn. Junta de Andalucía and Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 17–35.
- Chang R.J., Eastburn D.M. (1994).** Host range of *Verticillium dahliae* from horseradish and pathogenicity of strains. *Plant Dis*, 78: 503-506.
- Chaux C. (1955).** Méthodes de recherches adoptées en matière de biologie florale de l'olivier- fruits et primeurs de l'Afrique du nord, 25 : 202-207.
- Chawla S., Woodward J.E., 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.
- 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.
- Chowdhury A.M. Ahmed A., Zaman M., Bakr M.A. (1996).** Sporulation of *Stemphylium botryosum* Wallr. *J. Mycopathol. Res.*, 34: 69-71.
- Clive-James W. (1974).** Assessment of plant diseases and losses. *Annu. Rev. Plant. Path.*, 12 : 27-48.
- Cloud G.L., Rupe J.C. 1991.** Comparison of three media for enumeration of sclerotia of *Macrophomina phaseolina*. *Plant. Dis.*, 75 : 771- 772.
- Conca G., Inantino A. (2002).** First report of *Verticillium dahliae* on *CordHebe x fracsan cv. Variegata* in Italy Istitutio Sperimentale per la Patologia Vegetale. Via C.G. Bertero, Rome (Italy), 22 : 100- 165.
- Corbaz R. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Pres polytechnique et universitaires romandes* : 103-226.
- Cordeiro A.I., Sanchez-Sevilla J.F., Alvarez-Tinaut M.C., Gomez-Jimenez M.C. (2008).** Genetic diversity assessment in Portugal accessions of *Olea europaea* by RAPD markers. *Biologia Plantarum*, 52 (4): 642-647.
- Correll J.C., Morelock T.E., Black M.C., Koike S.T., Brandenberger L.P., Dainello F.J. (1994).** Economically important diseases of spinach. *Plant. Dis.*, 78:653-660.
- Costache M., Lacatusu V., Tomescu A., Mandricel M. (1979).** Studies on the factors predisposing cucumber plants to infection by *Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum* and *Verticillium dahliae*. *Probleme de Protectia Plantelor*, 7(1): 51-60.
- Crous P.W., Slippers B., Wingfield M.J., Rheeder J., Marasas W.F.O., Philips A.J.L., Alves A., Burgess T., Barber P., Groenewald J.Z. (2006).** Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *J. Mycol.*, 55 (3): 235–253.
-

Références Bibliographiques

- CsÖndes I., Cseh A., Taller J., Poczai P. (2012).** Genetic diversity and effect of temperature and pH on the growth of *Macrophomina phaseolina* isolates from sunflower fields in Hungary. *Mol Biol Rep*, 39: 3259–3269.
- Daami-Remadi M., El Mahjoub M. (2006).** Présence en Tunisie d'isolats de *Fusarium sambucinum* résistants aux benzimidazoles : développement *in vitro* et agressivité sur tubercules de pomme de terre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10 (1) : 7–16.
- Davis V.M., Stack M.E. (1991).** Mutagenicity of stemphytoxin III, a metabolite of *Alternaria alternata*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 : 180–182.
- Daayf F. (1993).** La verticilliose du cotonnier, pouvoir pathogène et diversité génétique de *Verticillium dahliae*. Réaction de la plante à l'infection. Doct. D'Etat Univ. Montpellier II, (France), 202 p.
- Daboussi M.J., Djebali A., Gerlinger C., Blaiseau P.L., Bouvier L., Cassan M., Lebrun M.H., Parisot D., Brygoo Y. (1989).** Transformation of seven species of filamentous fungi using the nitrate reductase gene of *Aspergillus nidulans* CUIT. *Genet.*, 15 : 00-00, 4 p.
- Daboussi M.J., Devos C., Gerlinger C., Brygoo Y. (1987).** Etude d'instabilités génétiques chez *Fusarium oxysporum*. In: 1er Congrès de la S.F.P., p 21.
- Davet P., Rouxel H. (1997).** Détection et isolement des champignons du sol. *Inra. Techniques et pratiques*, 203 p.
- De Andrés Cantero A. (1975).** Catálogo de parásitos del olivo. *Bol. Serv. Plagas*, 2 : 1- 189.
- Dervis S., Erten L., Soylu S., Tok F.M., Kurt S., Yildiz M. 2007.** Vegetative compatibility groups in *Verticillium dahliae* isolates from olive in Western Turkey. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 119 : 437–447.
- Dervis S., Mercado-Blanco J., Erten L., Valverde-Corredor A., Pérez-Artés E. (2010).** *Verticillium* wilt of olive in Turkey: a survey on disease importance, pathogen diversity and susceptibility of relevant olive cultivars. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 127: 287–301.
- Deverall B.J. (1965).** The physical environment for fungal growth, In: AINSWORTH, G.C.; Sussman, A.S. (Eds.): *The Fungi*, Vol. I. *The Fungal Cell*, 543-550. Academic Press, New York.
- Diener U.L. (1955).** Sporulation in pure culture by *Stemphylium solani*. *Phytopathology*, 45:141-145.
- Di Rita F., Magri D. (2009).** Holocene drought, deforestation and evergreen vegetation development in the central Mediterranean: a 5500 year record from Lago Alimini Piccolo, Apulia, southeast Italy. *The Holocene* 19 (2): 295–306.
- Dhingra O.D., Sinclair J.B. (1973).** Location of *Macrophomina phaseoli* on soybean plants related to culture characteristics and virulence. *Phytopathology*, 63: 934–936.
- Dhingra O.D., Sinclair J.B. (1977).** An annotated bibliography of *Macrophomina phaseolina*. Universidade Federal de Vicosa, Minas Gerais, Brazil, 1905-1975.
- Dhingra O.D., Sinclair J.B. (1978).** Biology and pathology of *Macrophomina phaseolina*. Imprensa Universitaria Universidade Federal De Vicosa, Vicosa, Minas Gerais, Brasil, 166p.
- D'hondt-Defrancq M. (1984).** Les principales maladies bactériennes et cryptogamiques de la pomme de terre. Cours International sur la culture de la Pomme de Terre. Cambérène, 19-21.
-

Références Bibliographiques

- Doneche B., Pucheu-Plante B. (1986).** Influence de divers effecteurs sur le developpement de *Botrytis cinerea* en milieu synthetique: Definition d'un cycle conidial. *Vitis*, 25: 21-30.
- Douglas D.R. (1972).** The effect of flight and temperature on the sporulation of different isolates of *Alternaria solani*. *Can. J. Bot.*, **50**: 629-634.
- Du Toi L.J., Derie M.L., Hernandez-Perez P. (2005).** *Verticillium* Wilt in Spanish Seed Production., Washington State University, Northington REC, Mount Vernon. The American Phytopathological Society. *Plant Disease/ Vol. 89 No.1*
- Eastburn D.M., Chang R.J. (1994).** *Verticillium dahliae* : A causal agent of root discoloration of horseradish in Illinois. *Plant. Dis.*, 78 : 496-498.
- EL Abdellaoui F., Ouazzani Touhami A., Badoc A., Douira A. (2005).** Culture *in vitro* de deux isolats de *curvularia tuberculata* et pouvoir pathogène sur six cultivars de riz. *Bull. Soc. Pharm.*, 144 : 7- 26.
- EL Hadji Djibo H., Boukharta N., Benkirane R., Boussalwa E, Ouazzani Touhami A., Douira A. (2012).** Effet du phosphonate dissodique sur le développement du *Verticillium dahliae* à l'intérieur des vaisseaux conducteurs des plantes de tomate Auteur : Science Lib Editions Mersenne : Volume 4, N ° 120710.
- EL Mahjoub M., Bouzaidi A., Joughri A., Hamrouni A., EL Beji M. (1987).** Influence de la salinité des eaux d'irrigation sur la sensibilité du tournesol au *Macrophomina phaseoli*. *Annales de Phytopathologie*, 11: 61-67.
- El Modafar C., El Boustani E., Aganchich B., Rahioui B., Boulouha B. (2002).** Mecanismes biochimiques impliqués dans la defense de l'olivier vis-a-vis de la verticilliose. Séminaire internationale sur l'olivier, acquis de recherche et contraintes du secteur oléicole. 14 au 16 mars, Marrakech (Maroc), 296-309.
- Fargues J., Maniania N.K., Delmas J.C., Smits N. (1992).** Influence de la température sur la croissance *in vitro* d'hyphomycètes entomopathogènes. *Agronomie*, 12:557-564.
- Faustino de Andres C. (1965).** Enfermedades y plagas del olives. Pub. Del Ministerio de l'Agricultura, Madrid, Spain, 296pp.
- Ferrandino F.J. (1995).** How *Verticillium* wilt affect yields of eggplants, tomato and potatoes. *Plant Science*, 32 :2-5.
- Fouin J., Sarfati C. (2002).** Le guide des huiles d'olive. Editions du Rouergue, 335p.
- 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.
- Garber R.H., Houston B. (1966).** Penetration and development of *Verticillium albo-atrum* in cotton plants. *J. Phytopathol.*, 56:1121–1126.
-

Références Bibliographiques

- Garibaldi A., Piglionica V., Lodovica-Gullino M. (1986).** "Fungicidi sistemici in Italia : Impiego, problemi e prospettive". La difesa delle piante, **9** (2) : 85-132.
- García-Verdugo C., Forrest A.D., Balaguer L., Fay M.C., Vargas P. (2010).** Parallel evolution of insular *Olea europaea* subspecies based on geographical structuring of plastid DNA variation and phenotypic similarity in leaf traits. Bot. J. Linn. Soc., 162 : 54–63.
- Gaussorgues R. (2009).** L'olivier et son pollen dans le bassin méditerranéen. Un risque allergique ? Revue française d'Allergologie, 49 : S3.
- Ghoneim S.S.H., Abdel-Massih M.I., Mahmoud F.A.F. (1996).** Interaction between root-knot nématode and mot rot on olive trees. Annals of Agricultural Science, 41 : 445-461.
- Gigon F., Le Jeune R. (2010).** Huile d'olive, *Olea europaea* L. Phytothérapie, 8: 129-135, 1-2
- Goud J.K., Termoshuizen A.J., Gams W. (2003).** Morphology of *Verticillium dahliae* and *Verticillium tricorpus* on semiselective media used for the detection of *V. dahliae* in soil, Mycol. Res. 107: 822-830.
- Graham J.H. (1957).** A *Stemphylium* disease on ladino white clover. Phytopathology, 47: 213-215.
- Graniti A. (1993).** Olive scab: a review. Bulletin OEPP. 23:377-384.
- Green P.S. (2002).** A revision of *Olea* L. (*Oleaceae*). Kew Bull, 57 (1): 91–140.
- Guario A., Laccone G., La Notte F., Murolo O., Percaro A. (2002).** Le principali avversità parassitarie dell'olivo. Assessorato Agricoltura, Alimentazione, Foreste, Caccia e Pesca, Riforma Fondiaria. 134 p.
- Guzman-Alvarez J.R. (2007).** Olivier et écologie : l'état de la question en Espagne. *Olivæ* n° 78 – octobre 1999.
- Guechi A., Girre L. (1994).** Sources of *Cycloconium oleaginum* (Cast.) conidia for infection of olive leaves and conditions determining leaf spot disease development in the region of Sétif, Algeria. Mycopathologia, 125: 163–171.
- 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, Algérie, 18 :96-100.
- Hajlaoui M.R., Gargouri S., Guermech A., Hamza N. (2003).** Emergence en Tunisie d'un nouveau pathotype de *Verticillium albo-atrum* pouvant attaquer les cultivars de tomate possédant le gène de résistance *Ve*. Bulletin OEPP/EPPO **33**, 343–345.
- Hall R., Ly H. (1972).** Development and quantitative measurement of microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Can. J. Bot., 50: 2097–2102.
- Hammerschlag G., Macem E. (1975).** Antifungal activity of extracts from *Fusarium* wilt-susceptible and resistant tomato plants. Phytopathology, 65 :93-94.
- 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'Actinomycètes et le *Verticillium dahliae* Kleb., agent de la verticilliose de l'olivier. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 77p.
- Hartmann H., Schnathorst W.C., Whisler J. (1971).** Oblonga, a clonal olive rootstock resistant to *Verticillium* wilt. Calif. Agr. 25 : 12-25.
-

Références Bibliographiques

- Hashemi P., Vandenberg A., Banniza S. (2005).** Developing a protocol for large scale inoculation of lentil germplasms with *Stemphylium botryosum*. Plant Canada poster. In Proceedings of Plant Canada, Edmonton, June 15-18.
- Hawksworth D.L., Talboys P.W. (1970).** CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 256. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- 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.
- Henry S. (2003).** L'huile d'olive : son intérêt nutritionnel, ses utilisations en pharmacie et en cosmétique. Thèse Doct. D'Etat. Pharmacie. Univ. Henry Poincaré, Nancy 1 (France), 10-90.
- Hernandez M.E.S., Davila A.R., Algaba A.P., Lopez M.A.B., Casas A.T., Algaba A.P. (1998).** Occurrence and etiology of death of young olive trees in southern Spain. Eur. J. plant. Pathol., 104: 347-357.
- Hiemstra J.A., Harris D.C. (1998).** Some general features of *Verticillium* wilts in trees. In: Hiemstra JA, Harris DC (Eds) A compendium of *Verticillium* wilts in tree species. Ponsen and Looijen, Wageningen. 5–11.
- Hoad T.F. (1991).** The concise Oxford Dictionary of English Etymology.
- Hosen M.I., Ahmed AU., Zaman J., Ghosh S., Hossain K.M.K. (2009).** Cultural and Physiological Variation Between Isolates of *Stemphylium botryosum* the Causal of *Stemphylium* Blight Disease of Lentil (*Lens culinaris*). World. J. Agric. Sci., 5 (1): 94-98.
- Hosen M.I. (2011).** Cultural, physiological comparison and fungicidal sensitivity between two
- Inderbitzin P., Mehta J.Y.R., Berbee M.L. (2009).** *Pleospora* species with *Stemphylium* anamorphs: a four locus phylogeny resolves new lineages yet does not distinguish among species in the *Pleospora herbarum* clade. Mycologia, 101(3): 329–339.
- Inderbitzin, P., Davis, R.M., Bostock, R.M., and Subbarao, K.V. (2011).** The Ascomycete *Verticillium longisporum* Is a Hybrid and a Plant Pathogen with an Expanded Host Range. PLoS ONE 6 66 6: e18260.
- Inderbitzin, P., Davis, R.M., Bostock, R.M., and Subbarao, K.V. (2013).** Identification and Differentiation of *Verticillium* Species and *V. longisporum* Lineages by Simplex and Multiplex PCR Assays. PloS One 8 88 8: e65990.
- INPV. Institut Nationale Protection des Végétaux. (2010).** Rapport national sur l'état de la verticilliose en Algérie. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques.
- Isaac I. (1976).** Speciation in *Verticillium*. Ann Fu. Rev. Phytopathol., 5: 201-222.
- Jabnoun-Khiareddine H. (2004).** La verticilliose des cultures légumières en Tunisie: Agent causal, pathogénicité et moyens de lutte. Mémoire de Diplôme des Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement de l'Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage, Chott-Mariem (TN).
- 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.
-

Références Bibliographiques

- Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi M., Father ayed, Hibar K., El Mahjoub M. (2006).** Pathogenicity of tunisian isolates of three *Verticillium* species on Tomato and Aggplant. *Plan. Pathol. Journal* 5(2): 199-207.
- 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 Science and Biotechnology.*, 1(1) : 10-15.
- Jabnoun-Khiareddine H., Daami-Remadi M., Barbara D.J., et El Mahjoub M. (2010).** Morphological variability within and among *Verticillium* species collected in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 5: 19-38.
- Jardak T., Jerraya A., Mahjoub M. (2004).** La protection intégrée de l'oléiculture dans les pays de l'Afrique de Nord. Edition FAO. SNEA Tunis, 120 p.
- Jiménez-Díaz R.M. (1985).** Les maladies de l'olivier : la verticilliose (1^{ère} partie). *Olivæ* n° 6.
- Jiménez-Díaz R.M., Tjamos E.C., Cirulli M. (1998).** *Verticillium* wilts of major tree hosts. In J. Hiemstra & D. Harris (Eds.), *Compendium of Verticillium wilt in tree species*. Ponsen and Looijen, Wageningen: Ponsen and Looijen. 55–57.
- Johnson D.A. (1990).** Effect of crop debris management on severity of stemphylium purple spot of asparagus. *Plant Dis* 74: 413–415.
- Kaisar S.A.K.M., Das S.N. (1988).** 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.
- Khadari B., Ahtaki H., Hmimsa Y., Ater M., Kjellberg F., Aumeeruddy-Thomas Y. (2005).** Comprendre les processus de domestication et de diversification variétale chez les espèces fruitières méditerranéennes. XI^{es} Journées Scientifiques du réseau "Biotechnologies végétales / Amélioration des plantes et sécurité alimentaire" de l'Agence universitaire de la Francophonie. Page 17.
- Kiffer E., Morelet M. (2000).** *The Deuteromycetes: mitosporic fungi, classification and generic keys*. Science Publishers, Enfield, NH., 120p.
- Klebahn H. (1913).** Beiträge zur Kenntnis der Fungi Imperfecti I. Eine *Verticillium*-Krankheit auf Dahliaen. *Mycologisches Zentralblatt* 3: 49–66.
- Klosterman SJ, Atallah ZK, Vallad GE, Subbarao K.V. (2009).** Diversity, pathogenicity and management of *Verticillium* species. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47:39–62.
- Kraft J.M., Haglund W.A. (1978).** A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *prsl*. *Phytopathology*, 68: 273-275.
-

Références Bibliographiques

- Kumar R., Tapwal A., Kumar Borah R. (2012).** *Verticillium* Wilt infecting *Parkia roxburghii* seedling in manipur india. Academic Journal Inc., 1-6.
- Lahlou H., Boisson C. (1984).** Variabilité intraclonale du pouvoir pathogène du *Verticillium albo-atrum* R. et B. forme à microsclérotes, vis-à-vis de la Tomate. In : Les Colloques de l'INRA, 26 : 70-78.
- Lemanceau P. (1989).** Role of competition for carbon and iron in mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium wilt*. In : Tjamos EC and Bechman CH (eds) *Vascular Wilt diseases of Plants*, 385-396.
- 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. *Biol. Fertil. Soils.*, 48:191–203.
- Larone D.H. (1995).** *Medically Important Fungi: A Guide to Identification*. 2nd Ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 135pp.
- Laviola C. (1992).** Phytopathological problems and the protection of olive diseases caused by pathogen. *Difesa delle Piante*, 15:1011-1114.
- Lavee S. (1997).** Biologie et physiologie de l'olivier. In: *Encyclopedie mondiale de l'olivier*. COI (Ed.), Madrid (Espagne), 60-110.
- Lazzeri Y. (2009).** L'olivier en Méditerranée. Conférence Centre Culturel Français de Tlemcen–Algérie. Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne. Centre d'Etudes et de Recherches Internationales et Communautaires (CERIC) – UMR CNRS 6201, Université Paul Cézanne Aix Marseille III, 1-10.
- Leach C.M. (1962).** The quantitative relationship of UV and visible radiation to the induction of reproduction in *Ascochyta pisi*. *Can. J. Bot.*, 40 : 1577-1602.
- Leroux P., Credet A. (1978).** Document sur l'étude de l'activité des fongicides. Institut National de Recherche Agronomique, Versailles (France), 188pp.
- Leroux P. (2003).** Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *Biol. Pathol. Vég.*, 326 : 9-21.
- Leroy I. (2011).** L'huile d'olive dans tous ses états. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Lille 2 (France). 143pp.
- Levin A.G., Lavee S., Tsror L. (2003).** Epidemiology of *Verticillium dahliae* on olive (cv. Picual) and its effect on yield under saline conditions. *Plant. Pathol.*, 52:212–218.
- Liu S.P., Zhu Y.P., Xie C., Jue D.W., Hong Y.B., Chen M.A.K., Hubdar Q. (2012).** Yang Transgenic Potato Plants Expressing StVe1 Exhibit Enhanced Resistance to *Verticillium dahliae*. *Plant. Mol. Biol. Rep.*, 1-8.
- Loula 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., Martos-Moreno C., Blanco-López M.A. (2003).** Análisis y significado epidemiológico de la población de *Verticillium dahliae* en el suelo. Servicio de publicaciones de la Universidad de Córdoba.
- López-Escudero F.J., del Río C., Caballero J.M., Blanco-López M.A. (2004).** Evaluation of olive cultivars for resistance to *Verticillium dahliae*. *Eur. J. Plant. Pathol.*, 110 : 79–85.
-

Références Bibliographiques

- López-Escudero F.J., Blanco-López M.A., del Río R.C., Caballero Reig J.M. (2007).** Response of olive cultivars to stem puncture inoculation with a defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. Hort Science, 42:294–298.
- López-Escudero F.J., Roca J.M., Mercado-Blanco J., Valverde-Corredor A., Blanco-López M.A. (2009).** Effect of agronomical factors in the importance of *Verticillium* wilt of olive in the Guadalquivir Valley in Andalucía (Southern Spain). 10th Int *Verticillium* Symposium, Book of Abstracts, Corfu Island, Hellas, 96 pp.
- López-Escudero F.J., Mercado-Blanco J., Roca J.M., Valverde-Corredor A. (2010).** *Verticillium* wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. Plant. Soil., 1 -50.
- Loureiro J., Rodriguez E., Costa A., Santos C. (2007).** Nuclear DNA content estimations in wild olive (*Olea europaea* L. ssp. *europaea* var. *sylvestris* Brot.) and Portuguese cultivars of *O. europaea* using flow cytometry. Gen. Res. Crop Evol., 54 : 21–25.
- Loussert R., Brousse G. (1978).** L'olivier. Technique agricole et productions méditerranéennes. (Eds.) Maisonneuve et Larose, Paris (France), 480p.
- Lumaret R., Ouazzani N., Michaud 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.
- Ma P. (2003).** Biological control of cotton *Verticillium* wilt. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 7(3) : 38–44.
- Maholay M.N. (1988).** Seed-borne disease of cucurbits. Musk melon (*Cucumis melo* L.). Seed and Farm, 14: 11-12.
- Maholay M.N. (1992).** *Macrophomina* seed and pod rot of butter bean (*Phaseolus lunatus* L.). Indian. J. Mycol. Plant. Pathol., 22: 220–226.
- Malardier L., Daboussi M.J., Julien J., Roussel E., Scazzocchio C., Brygoo Y. (1989).** Closing of the nitrate reductase gene (*nia D*) or *Aspergillus nidulans* and its use for transformation of *Fusarium oxysporum*. Gene 78 (1989) 147-156.
- Malathrakis N.E. (1979).** A study of an olive tree disease caused by the fungus *Phom incompta* Sacc. et Mart. Dissertation, Agricultural College of Athens, 150pp.
- Malik M.S. (2010).** Contribution à l'étude du pouvoir pathogènes de *Verticillium dahliae* Kleb., agent de la verticilliose de l'olivier. Mém. Magis. Centr. Univ. Mascara (Algérie)85p.
- Manluk O., Ab-Gharbieh W.I., Shaw G. (1984).** A check list of plant diseases in Jordan. Al-Dastour, Amman.
- Manthachitra P. (1971).** Investigations on seed-borne fungi of some vegetable crops of Thailand. Summaries of research projects (1967-1988). Danish Govt. Inst. Seed Path. Dev. Countries, Denmark, 18 p.
- Mathieu J., Mathieu C. (1976).** Comportement de différentes lignées de tournesol vis-à-vis de *Macrophomina phaseoli*. Mise au point de test de la résistance variétale. Mém. Doct., ENSA de Montpellier (FR), 185p.
-

Références Bibliographiques

- Martin-Lapierre A. (2011).** Application de composts et de fumigants pour lutter contre la verticilliose (*Verticillium dahliae*) du fraisier. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Laval (Canada). 108p.
- Matallah-Boutiba A., Nicole M., Fortas Z., Bellahcène M., Henni D., Geiger J.P. (1997).** Defense responses of inoculated olive tree seedlings to *Verticillium dahliae*. In: 7th International *Verticillium* Symposium. Athens (GR).
- Mathur S.B. (1990).** Summaries of Research Project 1967-1988. Danish Govt. Inst. of Seed Path. For Dev. Countries, Denmark, 111 p.
- Menzies S.A., Bansal R.K., Broadhurst P.G. (1992).** Effect of environmental factors on severity of *Stemphylium* leaf spot on *Asparagus*. N.Z. J. Crop and Hort. Sci., 19: 135- 141.
- Mercado-Blanco J, Rodríguez-Jurado D, Pérez-Artés E, Jiménez-Díaz RM. (2011).** Detection of the nondefoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by nested PCR. Plant. Pathology., 50 : 609–619.
- Mercado-Blanco J., Rodriguez-Jurado D., Hervás A., Jiménez- Díaz R.M. (2004).** Suppression of *Verticillium* wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas spp.* Biol. Control., 30: 474–486.
- Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F., Lafon R. (1965).** Les maladies des plantes maraichères (3^e édition), INRA, Paris (France), 552.
- 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.
- Mihail D.J. (1989).** *Macrophomina phaseolina*: Spatio-temporal dynamics of inoculum and of disease in a highly susceptible crop. Phytopathology, 79: 848-855.
- Miller J.J. (1945).** Studies on the *Fusarium* of muskmelon wilt. I - Pathogenic and cultural studies with particular reference to the cause and nature of variation in the causal organism. Can. J. Res., 23, 16- 43.
- Montes F., Paez J.I., Vega J.M., Duhart M.E. (1997).** Epocas de aislamiento de *Verticillium dahliae* Kleb en olivar en la provincia de Sevilla. Bol. San. Veg. Plagas., 23 : 439-447.
- Montesinos E., Moragrega C., Llorente I., Vilardell P. (1995).** Susceptibility of selected European pear cultivars to infection by *Stemphylium vesicarium* and influence of leaf and fruit age. Plant. Dis., 79: 471-473.
- Moore-Landecker E. (1982).** Fundamentals of the fungi. 2nd ed., Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall., 578p.
- Morschel J.R. (1961).** Recorded plant diseases in and outside Australia. Part 2 – Fruit and Edible Nut Crops. Commonwealth Department of Health Division of Plant Quarantine, Canberra. 113p.
- Mugnai L., Surico G., Ragazzi A. (1993).** *Glomerella cingulata* on olive in India: morphological and pathological notes. Bulletin OEPP, Vol. 23, No. 3, pp. 449-455.
-

Références Bibliographiques

- Müller H., Tejedor-Gonzalez E., Mercado-Blanco J., Rodríguez-Jurado D., Jiménez-Díaz Jiménez-Díaz R.M., Berg G. (2007).** Effect of the biological control strain *Serratia plymuthica* HRO C48 on *Verticillium* wilt of olive trees cv. Arbequina. Bulletin OILB/SROP., 30:173–177.
- Mwakutuya E. (2006).** Epidemiology of *Stemphylium* blight of lentil (*Lens culinaris*) in Saskatchewan, M.S. Thesis Univ. Saskatchewan, Saskatchewan (Turkie), 230pp.
- 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.
- Nelson P.E., Tousson T.A., Cook R.K.J. (1981).** "*Fusarium*". Diseases, Biology and Taxonomy. Penn. Star. Univ. Press., 457 p.
- Nigro F., Gallone P., Romanazzi G., Schena L., Ippolito A., Salerno M.G. (2005).** Incidence of *Verticillium* wilt on olive in apulia and genetic diversity of *Verticillium dahliae* isolates from infected trees. J Plant. Pathol., 87 (1) : 13-23.
- Notteghem J.L., Nriatampo G.M., Chatel M., Dechanet R. (1980).** Techniques utilisées pour la sélection de variétés de riz possédant la résistance horizontale à la pyriculariose. Ann. Phytopathol, 12 : 199-266.
- ONFA : Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires (2016).** Bilan de la campagne oléicole 2015/2016 « Segment huile d'olive ». p13.
- Pagnol J. (1975).** L'Olivier. Edition Aubanel, 180p.
- Paternelle M.C., Lhoutellier C. (2002).** Index phytosanitaire ACT. Association de coordination technique agricole, Paris, France. 788 p.
- Pegg G.F., Brady B.L. (2002).** *Verticillium* wilts. (Éditeur : CAB International). CABI Publishing, Wallingford, UK. 552p.
- Pennisi A.M., Cacciolas O., Di San Lio G.M., Perrotta G. (1993).** Evaluation of the susceptibility of olive cultivars to *Verticillium wilt*. Bulletin OEPP, 23 (3): 537-541.
- Percy E., Newberry M.A. (1937).** On some African species of the genus *olea* and the original home of the cultivated olive tree. Part1. Linnean Society of London. London.
- Perry J.W., Evert R.F. (1984).** Structure of microsclerotia of *Verticillium dahliae* in roots of Russet Burbank potatoes. Can. J. Bot., 62: 396–401.
- Pfohl-Leszkowicz A. (2001).** Définition et origine des mycotoxines dans l'alimentation, évaluation et gestion du risque, Ed. Tech and Doc, 3-14.
- Polizzi G. (1996).** L'avvizzimento della *Lagunarai patersonii* da *Verticillium dahliae*. Informator fitopatologico. 5 : 46-49.
- Porrás-Soriano A., Marcilla-Goldaracena I., Soriano-Martin M.L., Porrás-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.
- Porta-Puglia A., Mifsud D. (2005).** First record of *Verticillium dahliae* on olive in Malta. J. Plant. Pathol., 87:149.
-

Références Bibliographiques

- Prados-Ligero A.M., J.L., Melero-Vara J.M., Corpas-Hervias C., Basallote-Ureba M.J. (2003).** Relationships between weather variables, airborne spore concentrations and severity of leaf blight of garlic caused by *Stemphylium vesicarium* in Spain. Eur. J. Plant. Pathol., 109: 301-310.
- Ragsdal N.N. (1992).** Fungicides - Encyclopedia of Agricultural Sciences, 2 : 445-453.
- Ramualde N. (1992).** Influence des conditions de culture sur la croissance de *V. dahliae* et diversité du pouvoir pathogène du champignon vis-à-vis du Cotonnier. Maitrise de physiologie végétale appliquée. Univ. Montpellier (France). 34p.
- Raut B.T., Somani R.B. (1987).** Efficacy of different fungicides. IV. Field trials on root rot of chickpea. PKV Research Journal, 11:182-184.
- Rappily F. (1968).** Les techniques en mycologie en pathologie végétale. Annuelles des Epiphytes, vol. 19. Institut National de Recherche Agronomique, Paris (France), 102p.
- Rappily F. (1991).** L'épidémiologie en pathologie végétale. Mycose aériennes. Institut National de Recherche Agronomique, Paris (France), 250 p.
- Ratnoo R.S., Bhatnagar M.K. (1991).** Effect of temperature and pH on growth and sclerotia formation of *Macrophomina phaseolina*. Indian. J. Mycol. Plant. Pathol., 21:279-280.
- Ravolanirina F. (1986).** Etude de l'influence de quelques facteurs sur la croissance mycélienne des terfez *in vitro* et synthèse des mycorhizes. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Clermont-Ferrand (France). 72p.
- Rekanović E., Potočnik I., Milijašević-Marčić S., Stepanović M., Todorović B., Mihajlović M. (2011).** Efficacy of Seaweed Concentrate from *Ecklonia maxima* (Osbeck) and Conventional Fungicides in the Control of *Verticillium* Wilt of Pepper Pestic. Phytomed. (Belgrade), 25(4) : 319-324.
- Regragui A. (2005).** Contribution à l'étude de l'influence de la salinité sur le couple tomate -*Verticillium* : Conséquences physiologiques et impact sur la bioprotection des tomates contre la verticilliose. Doct. D'Etat. Univ. Mohammed V-Agdal (Maroc). 257p.
- Rieuf P. (1985).** Clé d'identification des champignons rencontrés sur les plantes maraîchères. Publication INRA, Paris.
- Rhizopoulou S. (2007).** *Olea europaea* L. A botanical contribution to culture. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 2 (4): 382-387.
- Rocher F. (2004).** Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phloémienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réactions de défense. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Bordeaux (France). 144pp.
- Rouhani H., Davet P., Poinso B., Beyries A., Messiaen C.M. (1979).** Inventaire et évaluation du pouvoir pathogène des composants de la microflore fongique sur racines de maïs en France. Ann. Phytopathol., 11 (1) : 69-93.
- Rousseau H. (2002).** Développement des techniques de reproduction végétative et essais de cultivars d'argousiers, rapport, IRDA, 1- 35.
- Rubio de Casas R., Besnard G., Schoenswetter P., Balguer L., Vargas P. (2006).** Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. Theoretical and Applied Genetics 113 : 575-583.
-

Références Bibliographiques

- Rugini E., Biasi R.M., Rosari M. (1998).** Olive (*Olea europaea* var. *sativa*) transformation In Proceeding seminar on Molecular biology of woody plants. Ed. Jain S.M., S.C. Minocha., 245_279pp
- Rugini E., Patricia-Gutiérrez P. (2005).** Genetic improvement of olive Genetsko oplemenjivanje masline. Pomologia Croatica. Original scientific paper, 12 (1): 43-74.
- Ruggieri G. (1946).** Una nuova malattia dell'olivo. L'Italia Agricola, 83: 369–372 (in Italian).
- Saad D. (2009).** Etude des endomycorhizes de la variété Sigoise d'olivier (*Olea europea* L.) et essai de leur application à des boutures semi-ligneuses multipliées sous nébulisation. Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie). 124p
- Sabatier S., Barthélémy D. (2001).** Bud structure in relation to shoot morphology and position on the vegetative annual shoots of *Juglans regia* L. (Juglandaceae). Ann. Bot., 87: 117-123.
- Sahli Z. (2009).** Le Développement Local Durable des Pays Méditerranéens. Les produits de Terroir. Les Indication Géographiques et le Développement Local Durable des Pays Méditerranéens. Options méditerranéennes, A n°89. 306- 316.
- Sanchez-Hernandez M.E., Perez-de-Algaba A., Blanco-Lopez MA., Trapero-Casas A. (1996).** Vascular wilt of young olive trees. Agricultura, Revista-Agropecuaria., 65 : 928-932.
- Sanchez-Hernandez M.E., Davila R.A., Casas T.A. (1997).** First report of *Phytophthora megasperma* and *Pythium irregulare* as olive tree root. Plant. Dis., 81:101-216.
- Sanei S.J., Razavi S.I., Zarei H., Latifi N. (1996).** Verticillium wilt of Olive. Islamic Azad university, Gorgan Branch (in persian).
- Sanei S.J., Okhoavat S.M., Hedjaroude G.A., Saremi H., Javan-Nikkhah M. (2004).** Olive *Verticillium* wilt or dieback of olive in Iran. Commun. Agric. Appl. Biol. Sci., 69: 433–442.
- Sanei S.J., Okhoavat S.M., Hedjaroude G.A., Saremi H., Javan-Nikkhah M. (2008).** Olive verticillium wilt or dieback of olive in Iran. Commun Agric Appl Biol Sci 69:433–442.
- 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.
- Sasanelli N. (2009).** Olive nematodes and their control : Integrated Management of Fruit Crops and Forest Nematodes A. Ciancio & K. G. Mukerji (eds.), Bari (Italy), 1-41.
- Satischandra K.M., Hiremath R.V., Hegde R.K. (1980).** Factors affecting the survival of *Rhizoctonia bataticola* in black soil. Plant. Soil., 54 : 307-312.
- Saydam C., Copcu M. (1972).** *Verticillium* wilt of olive in Turkey. J. Turk. Phytopathol., 9:235–252.
- Schnathorst W.C., Mathre D.E. (1966).** Host range and differentiation of a severe form of *Verticillium albo-atrum* in cotton. Phytopathology, 56: 1155 – 1161.
- Schnathorst W.C., Sibbett G.S. (1971).** T-1 *Verticillium* strain: major factor in cotton and olive wilt. Calif. Agric., 25:3–5.
- Schnathorst W.C. (1981).** *Verticillium* wilt of olive and olive wilt.. Botanical Garden. J. Cramer.
- 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.
-

Références Bibliographiques

- Sergeeva V., Tesoriero L., Spooner-Hart R., Nair N. (2005).** First report of *Macrophomina phaseolina* on olives (*Olea europea*) in Australia. *Aust. Plant. Pathology.*, 34:273-274.
- Serghat S., Mouria A., Ouazzani Touhami A., Badoc A., Douira A. (2004).** Effet de quelques fongicides sur le développement *in vitro* de *Pyricularia grisea* et *Helminthosporium oryzae*. *Bull. Soc. Pharm.*, 143 : 7-18.
- Serrhini M.N., Zeroual A. (1995).** *Verticillium* wilt in Morocco. *Olivae*, 58: 58–61.
- Shabi E., Birger R., Lavee S. (1994).** Leaf spot (*Spilocaea oleaginea*) on olive in Israel and its control. *Acta Hortic.*, 356: 390-394.
- Shakir A.S., Mirza J.H. (1992).** Seed-borne fungi of Bottle gourd from Faisalabad and their control. *Pak. J. Phytopathol.*, 4: 54-57.
- Shakir A.S., Mirza J.H., Sahi S.T., Ahmad F. (1995).** Detection of seed-borne fungi associated with sponge gourd [*Luffa cylindrical* (L.) Roem.], their location in different seed components and their control. *Pak. J. Phytopathol.*, 7: 140-144.
- Sharma S., Vandana Ghoshal S.K., Arora P., Dilbaghi N., Chaudhury A. (2009).** Study of optical properties of *Macrophomina phaseolina* impregnated sol-gel derived silica matrices. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 159: 310–316.
- Shaw F.J.F. (1925).** Studies in diseases of jute plant,"11". *Mem. Dept. Agric. India., Bot. Ser.*, 13:193-199.
- Short G.E., Wyllie T.D. (1978).** Inoculum potential of *Macrophomina phaseolina*. *Phytopathology*, 68: 742–746.
- Singh R.S., Chohan J.S. (1982).** Physio-pathological studies of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot in muskmelon. *Indian. J. Mycol. Plant. Pathol.*, 12:81–82.
- Singh R.D.N., Kaiser S.A.K.M. (1982).** Evaluation of some systemic and non systemic fungicides against the charcoal rot pathogen *Macrophomina phaseolina* of maize. *J. Trop. Agr.*, 33: 54–58.
- Singh P., Bugiani R., Cavanni P., Nakajima H., Kodama M., Otani H., Kohmoto K. (1999).** Purification and biological characterization of host specific SV-toxins from *Stemphylium vesicarium* causing brown spot of European pear. *Phytopathology*, 89: 947-953.
- Simandirakis V., Lykoudi M. (2002).** The olive 'kallistephanos'. Ephesus Publishing.
- Simmons E.G. (1967).** Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. *Mycologia*, 59: 67– 92.
- Simmons E.G. (2007).** *Alternaria*: an identification manual. CBS Fungal Biodiversity Center, Utrrecht.
- Si-Tayeb H. (2015).** La transformation de l’agriculture algérienne dans la perspective d’adhésion à l’OMS. Thèse. Doct. D’Etat. Univ. Tizi-Ouzou (Algerie). 282pp.
- Sivan J., Barkai-Golan R. (1976).** *In vitro* and *in vivo* evaluation of fungicides for control of *Stemphylium botryosum* f. *lactucae* on lettuce leaves. *Phytoparasitica*, 4(1): 33-39.
- Stevens R.M., Douglas T. (1994).** Distribution of grapevine roots and salt under drip and fullground cover microjet irrigation systems. *Irrigat. Sci.*, 15:147–152.
- Taubenhaus J.J. (1913).** The black rot of sweet potatoes. *Phytopathology*, 3 : 161.
-

Références Bibliographiques

- Taylor J.M. 1965.** The olive in California: history of an immigrant tree. Ten Speed Press, Berkeley, California.
- Terral J.F., Alonso N., Buxo I., Capdevilla R., Chatti N., Fabre L., Fiorentino G., Marinval P., Pérez Jorda G., Pradat B., Rovira N., Alibert P. (2004).** Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archeological material. *Journal of Biogeography*, 31: 63-77.
- Thanassoulopoulos C.C., Biris D.A., Tjamos E.C. (1979).** Survey of *Verticillium* wilt of olive trees in Greece. *Plant. Dis. Rep.*, 63: 936–940.
- Thanassoulopoulos C.C., Biris D.A., Tjamos E.C. (1981).** Weed host as inoculum source of *Verticillium* in olive orchards. *Phytopathol. Mediterr.*, 20:164–168.
- 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. (1989).** Problems and prospects in controlling *Verticillium* wilt. In: *Vascular wilt diseases of plants* (Ed. by Tjamos, E.C.; Beckman, C.), 441-456.
- Tjamos E.C., Smith I.M. (1991).** The expression of resistance to *Verticillium albo-utrum* in monogenically resistant tomato varieties. *Physiol. Plant Pathol.* 6 : 215-225.
- Tjamos E.C. (1993).** Prospects and strategies in controlling *Verticillium* wilt of olives. *Bull OEPP/EPPO Bull.*, 23 : 505–512.
- Tjamos E.C., Rowe R.C., Heale J.B., Fravel D.R. (1999).** Effect of soil amendment on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungus. *Phytopathology*, 42:680–699.
- Tjamos E.C., Rowe R.C., Heale J.B., Fravel D.R. (2000).** Advances in *Verticillium* Research and Disease Management. APS Press, American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Tlemsani M. (2010).** Contribution à l'étude de flétrissement vasculaire du pois chiche causé par *Fusarium oxysporum* Schelch. Emend. Synd et hans.f. sp. ciceri (Padwich) : caractérisation, lutte biologique et comportement variétal. *Mém. Magis. Univ. Oran (Algérie)*. 163p.
- Tolmsoff W.J. (1972).** Diploidization and heritable gene repression as major sources for variability in morphology metabolism and pathogenicity for *Verticillium* species. *Phytopathology*, 62 (4) : 407-413.
- Tombesi A., Tombesi S., Saavedra M.S., Fernández-Escobar R., d'Andria R., Lavini A., Jardak T. (2007).** (Eds). *Conseil Oléicole Internationale. Techniques de production en oléiculture*. Madrid (Espagne), ISBN. 1^{ère} édition, 348p.
- Triki M.A., Hassaïri A., Mahjoub M. (2006).** Premières observations de *Verticillium dahliae* sur olivier en Tunisie. *Bull EPPO Bull.*, 36 (1): 69–71.
- Triki M.A., Rhouma A. (2008).** First report of *Pseudocercospora cladosporioides*, the causal agent of Cercospora leaf spot of olive trees, in Tunisia, *Phytopathol. Mediterr.*, 47 :262–265.
- Tohidfar M., Robabeh Hossaini R., Nemat SB., Meisam T. (2012).** Enhanced Resistance to *Verticillium dahlia* in Transgenic Cotton Expressing an Endochitinase Gene from *Phaseolus vulgaris*. *Genet. Plant Breed.*, 48 (1): 33–41.
-

Références Bibliographiques

- Tsopelas P., Tjamos E.C. (1999).** Inoculation studies of olive trees with *Armillaria* species from Greece. *Phytopathol. Mediterr.*, 38 : 132-136.
- Tsrer L., Erlich O., Amitai S., Hasanovshy M. (1998).** *Verticillium* wilt of paprika caused by highly virulent isolate of *Verticillium dahliae*. The American phytopathological society. *Plant. Dis.*, 82 : 737-439.
- Uppal A.K., El Hadrami A., Adam L.R., Tenuta M., Daayf F. (2008).** Biological control of potato *Verticillium* wilt under controlled and field conditions using selected bacterial antagonists and plant extracts. *Biol. Control.*, 44 : 90-100.
- 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.
- Velitzelos E., Velitzelos D. (2005).** Geohistorical evidence on the evolution of plants in the Aegean Sea. In *Biodiversity and natural heritage in the Aegean*, Eds., Karamanos, A. J. and C.A. Thanos. The Agricultural University of Athens, 133-148.
- Veronese P., Narasimhan M.L., Stevenson R.A., Zhu J.K., Weller S.C., Subbarao K.V. (2003).** Effect of various soil amendment on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungus. *Phytopathology*, 41:684-690.
- Vigouroux A. (1971).** *Verticillium dahliae*, agent d'un dépérissement de l'olivier en France. *Ann. Phytopathol.*, 7: 37-44.
- Vigouroux A. (1975).** metabolism and pathogenicity for *Verticillium* species. *Phytopathology*, 62 (4) : 407-413.
- Vyas H.G., Chhatpar H.S. (1979).** Biochemical changes in mango after infection with *Rhizoctonia bataticola*. *Experientia* 36, Birkhauser Verlag, Basel (Schweiz).
- Wagner W.L., Herbst D.R., Sohmer S.H. (1999).** *Manual of the Flowering Plants of Hawaii*. 2 vols. Bishop Museum Special Publication 83, University of Hawaiï and Bishop Museum Press, Honolulu, HI.
- Wallroth F.G. (1833).** *Flora Cryptogamica germaniae pars post.* J.L. Schrag., Nurnberg.
- Wang H., Hwang S.F., Chang K.F., Gossen B.D., Turnbull G.D., Howard R.J. (2000).** Foliar diseases of alfalfa in the Peace River region of Alberta in 1999. *Can. Plant Disease Survey*, 80: 68-69.
- Wang L., Feng H., Teng L., Chen X., Dan H., Lu S., Jianmei X., Zhou L. (2012).** Effects of long-term cotton plantations on *Fusarium* and *Verticillium* wilt diseases infection in China. *African Journal of Agricultural Research.*, 10 :1562-1565.
- Wehmeyer L.E. (1961).** A world monograph of the genus *Pleospora* and its segregates. University of Michigan Press, Michigan.
- Wehmeyer L.E. (1975).** The pyrenomycetous fungi. *Mycologia Mem.* No. 6, The New York Botanical Garden. J. Cramer, Germany.
- Wilhelm S. (1951).** Effect of various soil amendment on the inoculum potential of the *Verticillium* wilt fungus. *Phytopathology*, 41:684-690.
- Wilhelm S. (1955).** Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in laboratory and field. *Phytopathology*, 45:180-181.
-

Références Bibliographiques

- Wilhelm S., Taylor J.B. (1965).** Control of *Verticillium wilt* of olive through natural recovery and resistance. *Phytopathology*, 55 : 310-316.
- Wilhelm S. (1981).** Sources and genetics of host resistance in field and fruits corps. In fungal wilt diseases of plants. Mace ME, Belle AA, Beckman CH (eds.). Academic Press, New York, USA, 300-369.
- Woolliams G.E. (1966).** Host range and symptomatology of *Verticillium dahliae* in economic weed, and native plants in interior british colombia. *Can. J. Plant Sci.*, 46 : 661-669.
- Wrather J.A., Anderson T.R., Arsyad D.M., Tan Y., Ploper L.D., Porta-Puglia A., Ram H.H., Yorinori J.T. (2001).** Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1998. *Can. J. Plant Pathol.*, 23: 115–121.
- Wyllie T.D. (1988).** Charcoal rot of soybean-current status. In Soybean diseases of the north central region. T. D. Wyllie and D. H. Scott, eds. APS Press, St. Paul, MN.
- 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
- Yildiz A., Doğan M.N., Benlioğlu S. (2009).** Weed host of *Verticillium dahliae* in cotton fields and characterization of *V. dahliae* isolates from weeds. *Phytoparasitica*, 37:171–178.
- Zachos D.G. (1963).** La verticilliose de l'olivier en Grèce. *Ann Inst Phytopathol Benaki (NS)* 5: 105– 107.
- Zhu L., Zhang X., Tu L., Zeng F., Nie Y., Guo X. (2007).** Isolation and characterization of two novel dirigent-like genes highly induced in cotton (*Gossypium barbadense* and *G. hirsutum*) after infection by *Verticillium dahliae*. *Plant. Pathol.*, 89: 41–45.
- Zohary D., Spiegel-Roy P. (1975).** Beginnings of fruit growing in the world. *Science*, 187: 319-327.
- Zohary D., Hopf M. (2000).** Domestication of plants in the Old World. Third edition, Oxford University Press. New York.
-

Annexe



Milieu de Czapek–Dox

NaNO ₃	2g
K ₂ HPO ₄	1g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,5g
KCl	0,5g
F ₂ SO ₄ , 7H ₂ O	0,01g
Saccharose	30g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes.

Milieu PDA (Potato -Dextrose- Agar)

Infusion de pomme de terre	200g
Dextrose	15g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes

Milieu Petri

Ca(NO ₃), 4H ₂ O	4g
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	1,5g
KH ₂ PO ₄	1,5g
KCl	0,6g
Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes

Milieu Richards

KNO ₃	10g
Mg SO ₄ , 7H ₂ O	2,5g
K ₂ H PO ₄	5g
Saccharose	50g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes

Milieu MEA (Malt- Extract- Agar)

Extrait de malt	20g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes

Milieu V-8 Agar

Légumes assortis pour enfant	100g
Concentré de tomate à 25%	70g
KH ₂ PO ₄	3g
Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes

Eau gélosé

Agar	2g
Eau distillée	1000 ml

Autoclaver à 120 °C pendant 30 minutes

Le terreau : Terreau professionnel AGROFINO

Matière organique en pourcentage de la matière sèche.....	95
Matière sèche en pourcentage de produit brut	35
pH (H ₂ O)	5.8
Conductivité électrique (us/cm)	500
Rétention en air (%).....	15
Rétention en eau (%)	70
Capacité d'eau (en g/ 100 M.S)	800
Volume en litre	80
Humidité (en % du produit brut)	57

Tampon aux phosphates

(A) : Solution de phosphate monosodique 0.2M (soit 27.8g de KH_2PO_4 dans 1000ml d'eau distillée).

(B): Solution de phosphate de sodium dibasique 0.2M (soit 53.55g de K_2HPO_4 dans 1000 ml d'eau distillée).

Mélanger X ml de solution (A) et Y ml de solution (B) auxquels on ajoute 100ml d'eau distillée stérile pour obtenir les valeurs suivantes.

pH	X (ml)	Y(ml)
5	98.3	1.7
6	87.7	12.3
7	39	61
8	5.3	94.7
9	00	100

Cellule de Malassez

Cette cellule permet de mesurer la quantité de particules en suspension dans un volume déterminé.

Ce volume est compris entre le plan inférieur de la cellule et la face d'une lame appliquée sur deux épaulements situés à 0.2mm du plan inférieur de la cellule.

Un réticule permet de matérialiser un quadrillage, chaque carreau à un volume de $1/100$ de mm^3 .

Surface du réticule : $2.5 \times 2 = 5 \text{ mm}^2$

Épaisseur : 0.2 mm

Volume : $5 \times 0.2 = 1 \text{ mm}^3$.

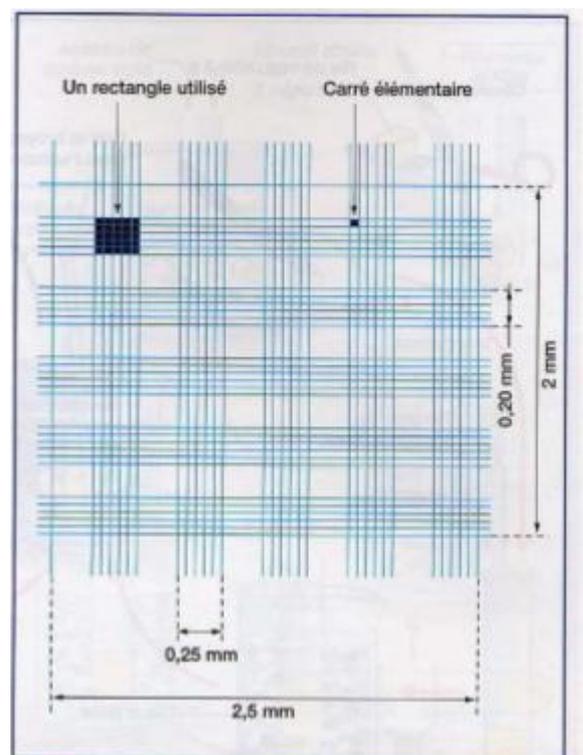


Tableau 10 : Présentation des diamètres moyens de la croissance de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture sur différents milieux de culture à une température de 25°C

	<i>V. dahliae</i>	<i>S. botryosum</i>	<i>R. bataticola</i>
PDA	47.33 ± 6	71.33 ± 1.75	74 ± 4
MEA	52.33 ± 6.2	56 ± 2.8	84.33 ± 5.5
Czapek	50 ± 7	54.33 ± 3.2	52.33 ± 7
V8 agar	84.33 ± 5	71.33 ± 2	55.33 ± 3.6
Richards	72 ± 10	60.66 ± 6	63.33 ± 9
Pétri	4 ± 2	0 ± 0	12.66 ± 09

Tableau 11: Présentation des diamètres moyens de la croissance de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture à différentes températures.

	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
<i>V. dahliae</i>	7.66 ± 2.22	21.66 ± 4	72 ± 5	84.33 ± 7.33	27.33 ± 4	5.33 ± 1.33
<i>S. botryosum</i>	16.66 ± 3.95	30.33 ± 4.32	75.66 ± 6	85 ± 8.55	35.33 ± 4.33	7.66 ± 2.22
<i>R. bataticola</i>	10.66 ± 3.12	25.33 ± 5.33	51.33 ± 6.55	75 ± 7	85 ± 7.44	59.66 ± 6.22

Tableau 12: Présentation des diamètres moyens de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours d'incubation à 25°C sur différents pH.

	pH = 4	pH = 5	pH = 6	pH = 7	pH = 8	pH = 9
<i>V. dahliae</i>	65.33 ± 6.3	75 ± 5	82 ± 4	80.33 ± 3.2	81 ± 7	72.33 ± 6
<i>S. botryosum</i>	71.33 ± 6	84 ± 7.9	85 ± 8	84 ± 2	70 ± 5	65 ± 4
<i>R. bataticola</i>	59.33 ± 4	75.3 ± 4	82.66 ± 5	79 ± 3	71.6 ± 5.9	71 ± 4

Tableau 13: Présentation des diamètres moyens de *Verticillium dahliae* après 24 jours, de *Rhizoctonia bataticola* après 9 jours et *Stemphylium botryosum* après 8 jours de culture sous différents régime de lumière à 25°

	<i>V. dahliae</i>	<i>S. botryosum</i>	<i>R. bataticola</i>
Lumière continue	71.33 ± 8.92	69.33 ± 12	62.33 ± 10
Obscurité continue	69.66 ± 7.8	68 ± 10.05	58.33 ± 7
Lumière intermittente	59.33 ± 6.15	48.33 ± 11.91	45.66 ± 6.9

Tableau 14 : Présentation de l'indice d'altération foliaire (I.A.F) des plants de tomate cv. Saint Pierre inoculés avec les six souches de *V. dahliae*.

	Vdm2	Vdm4	Vdm9	Vds1	Vds3	Vds5
15 jours	4.33 ± 0.5	5.66 ± 0.51	3.25 ± 0.5	4 ± 1.12	4.66 ± 1.01	5.33 ± 1.56
21 jours	6.33 ± 1.05	7.33 ± 0.52	6.12 ± 1.10	9.66 ± 1.02	8 ± 1.09	9.33 ± 2.20
49 jours	12.66 ± 3.12	9 ± 0.55	13 ± 3.53	15.33 ± 3.07	13.66 ± 3.10	14 ± 2.56

Tableau 15 : Présentation de l'indice de rabougrissement (I.R) des plants de tomate cv. Saint Pierre inoculés avec les six souches de *V. dahliae*.

	Vdm2	Vdm4	Vdm9	Vds1	Vds3	Vds5
15 jours	12.35 ± 1.88	6.66 ± 1.32	8.41 ± 2.52	28.22 ± 4.07	4.66 ± 1.82	15.33 ± 3.03
21 jours	13.41 ± 2.02	9.77 ± 3.05	12.44 ± 1.99	36.09 ± 4.96	8.11 ± 4.89	19.17 ± 3.05
49 jours	23.66 ± 5.05	18.55 ± 3.01	21.66 ± 5.05	45,33 ± 5.02	13,66 ± 5.10	28.33 ± 5.10

Tableau 16 : Présentation des pourcentages d'inhibition des six souches de *V. dahliae* en présence de différentes concentrations de Pelt 44, après 15 jours de culture.

	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm
Vdm 2	20.52	54.22	71.69	93.38
Vdm 4	18.83	37.7	73.78	100
Vdm 9	26.2	42.73	74.8	100
Vds 1	17.14	38.11	59.05	78.11
Vds 3	29.93	63.78	77.95	100
Vds 5	11.34	45.86	63.16	77.44

Tableau 17 : Présentation des pourcentages d'inhibition des six souches de *V. dahliae* en présence de différentes concentrations de Ridomil Gold, après 15 jours de culture.

	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm
Vdm 2	23.52	49.02	71.9	94.11
Vdm 4	19.2	39.41	78.85	100
Vdm 9	5.63	19.35	45.96	62.46
Vds 1	7.56	24.35	49.57	65.3
Vds 3	5.59	22.39	63.99	87.2
Vds 5	9.3	23.25	46.51	90.69

Tableau 18 : Présentation des pourcentages d'inhibition des six souches de *V. dahliae* en présence de différentes concentrations d'Ortiva, après 15 jours de culture.

	1 ppm	2 ppm	3 ppm	4 ppm
Vdm 2	7.05	17.3	32.62	61.53
Vdm 4	8.88	32.25	52.43	63.7
Vdm 9	11.9	28.57	45.32	57.14
Vds 1	11.11	26.19	38.9	48.42
Vds 3	7.51	14.15	27.27	49.51
Vds 5	8.25 9.3	22.92	36.69	51.39

Article Scientifique



Isolation and Characterization of Verticillium Wilt of Olive Trees in Algeria

S. Boutkhil, M.L. Benine, M.Y. Benzaoui, M. Diaf,
A. Kaldi, Z. Chama, A. Tifrit and B. Abbouni

Laboratory for Molecular Microbiology Proteomics And Health, Department of Biology,
Faculty of Natural Sciences and Life, University of Djillali Liabès of Sidi Bel Abbes, Algeria

Abstract: Verticillium wilt of olive trees caused by the fungus *Verticillium dahliae* Kleb is one of the main vascular diseases that could cause a considerable loss of yield. However, the employed struggle methods against fungus remain limited due to its morphological diversity. The aim of the present work is the study of the morphological diversity and the identification of the pathogen fungi by a statistical principal component analysis (PCA). In order to protect the agricultural crop campaign of the olive groves during the 2010-2011 years from the region of Sidi-Bel-Abbes and Mascara, located in the north-western Algeria, has been used by the isolation of twenty isolates of *Verticillium dahlia* on Potato Dextrose agar culture medium and selected according to their morphological, cultural and biometric characteristics. Furthermore, the morphological variability between isolates was recorded through the microsclerotia density, the colour of mycelia and the appearance of aerial mycelium, which was giving an equivalent PCA of three analytical morphotypes (M1, M2 and M3), represented by seven isolates, nine isolates and four isolates, respectively. The ratio of the morphological variability by the study of three characters, such as olive variety, geography and biometric characteristics indicated the presence any distinctive relationship.

Key words: Olive trees • *Verticillium dahliae* • Morphological type • Variety • Biometric characteristics • Geography • Relationship

INTRODUCTION

Verticillium wilt caused by the soil fungi such as *Verticillium dahliae* [1] is one of the most vascular diseases causing considerable worldwide losses in the olive groves [2]. In Algeria, *Verticillium* wilt has expanded in several olive-growing regions [3-4].

The control of *Verticillium dahliae* by the using of several resistant varieties of olive trees constitutes one of the best solutions depending on its vascular nature. The establishment of such variety indicated the morphological diversity of the pathogenic fungus, where the control received more difficulties. The study of the morphological diversity was used as a simple parameter for the construction of the morphotypes [5-8] where, a statistical approach was used as a principal component analysis (PCA).

The main aim of the present work was the study of the morphocultural and biometric characteristics

(dimensions of spores) of the isolated *Verticillium dahliae* from olive trees of two varieties (Chemlal and Sigo_zse varieties), planted in the region of Sidi-Bel-Abbes and Mascara. Furthermore, the different morphotypes isolates of *Verticillium dahliae* was selected by the using of the PCA similarity. Finally, the study was completed by the discovery of the relationship between the morphotype, the spores dimensions and characteristics of the fungus according to the olive trees variety and geographical origin.

MATERIALS AND METHODS

Description of the Study Area: The present study was performed in the period between March and May 2011, by two olive groves, located in the region of northwest Algeria, where an intensive olive groves has been planted and as characterized semi-arid climate and an annual rainfall about 200-410 mm (Table 1).

Corresponding Author: Abbouni Bouziane, Laboratory for Molecular Microbiology Proteomics And Health, Department of Biology, Faculty of Natural Sciences and Life, University of Djillali Liabès of Sidi Bel Abbes, Algeria.

Table 1: Presentation of climatic parameters of two region (Sidi-Bel-Abbes and Mascara) olive groves during 2011.

Month	Mascara				Sidi-Bel-Abbes			
	T° _{min}	T° _{max}	T° _{mean}	rainfall	T° _{min}	T° _{max}	T° _{mean}	rainfall
February	02.3	15.3	8.8	25.1	01.2	15.5	8.35	16.1
March	06.5	19.7	11.6	18.5	04.1	19.5	11.8	16.6
April	10.7	25.8	18.3	88.8	08.6	25.1	16.85	67.8
May	13.6	26.9	20.25	50.6	12.2	26.5	19.35	61.7
June	15.8	31.7	23.75	49.3	14.5	32.0	22.25	18.0

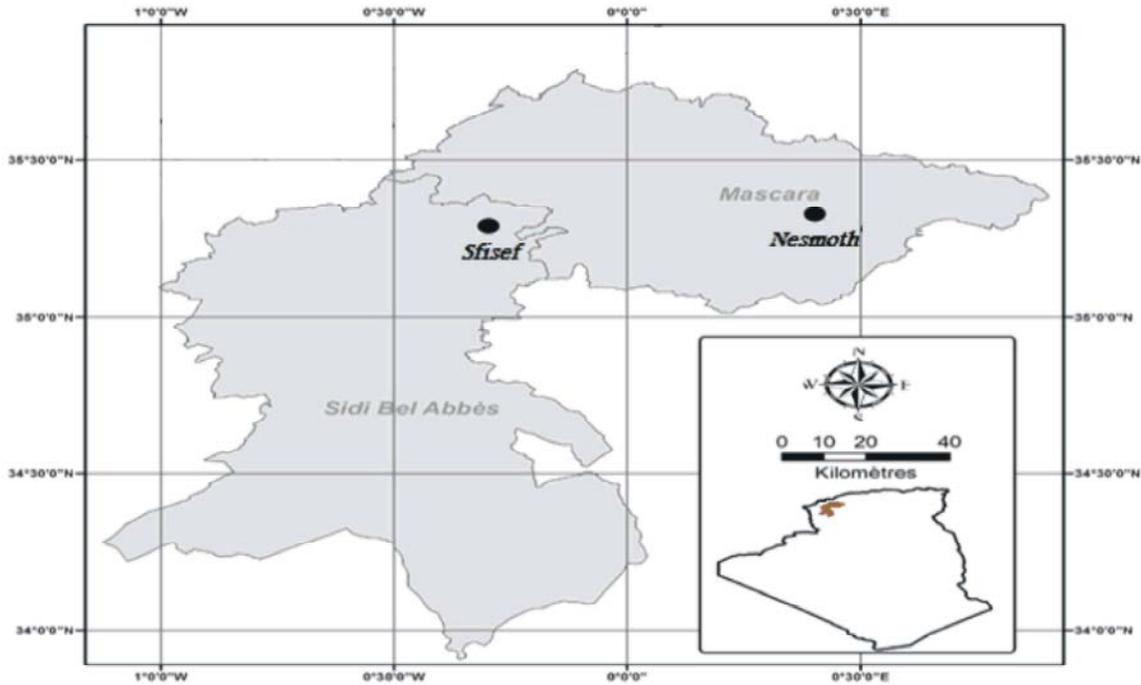


Fig. 1: Presentation of geographical location of the two prospected olive groves (Sidi-Bel-Abbes and Mascara).

The first olive grove studied was located in the region of Sfisef (Sidi Bel Abbès, Algeria), which was characterized with an altitude of 548 meters (35° 14' 04" Nord, 0° 14' 36" West). The old 6 years olive grove located on an area of 9 hectares, included 500 trees/ha (4x5m) of the planted *Chemlal* variety. The second olive grove located in the Municipality of Nesmoth region (35 km in the Southeast region of Mascara, characterized with an altitude of 1200 meters (35° 15' 00" North, 0° 23' 00" East) and covers an area of 2 hectares with old 3 years 625 trees/ha (4 x 4 m) of the planted *Sigoçse* variety (Figure 1).

The investigation was based on some observation such as a symptomatic diagnostic in the presence of the disease. The branch samples were collected randomly from the infested olive trees and kept at a temperature of 4°C for 24 hours. The Isolation of *Verticillium dahliae* Kleb was used by the cutting of the xylem into small

pieces; immersed in a solution containing 5% sodium hypochlorite for three minutes and the branches were rinsed for three times with sterile distilled water. The rinsed branches were dried on a sterile paper filter, where six pieces were filed on PDA culture medium containing the following components: 200 g potato, 20 g glucose, 15 g agar in the Petri boxes containing streptomycin, incubated at temperature of 25°C for 15 days in the absence of light [9]. The monitoring of the cultural variations of thalli derived from primary isolates through the obtained homogeneous isolates by monospore culture indicated that the study of morphological characters showed as the most suitable technique [10]. For this purpose, a spore suspension was streaked onto a thin layer of water agar in a Petri dish, incubated at temperature of 25°C for 4 days. The obtained thalli from the sporulation of a single spore were harvested under sterile conditions and deposited separately on PDA

culture medium. The obtained isolates was inoculated on PDA culture medium, overlaid with sterile mineral oil and kept at temperature of 4°C, whereas the obtained spore culture by transplanting of the mycelium on PDA culture medium was kept in the dark at 25°C for 15 days.

Cultural Characteristics: In order to explore the growth characteristics of the fungus, a disc of 5 mm diameter was taken from the periphery of active culture and placed in the centre of a Petri dish containing 20 ml of PDA culture medium. After that, each isolate was transplanted on the surface of solid PDA culture medium in four Petri dishes. The determination of the cultural characteristics of fungus was monitored for two weeks according to the following criteria such as radial growth and the outline of the colony, the appearance of the aerial mycelium and the production of the pigmentation and the presence of micro-sclerotia.

Microscopic Characteristics: The microscopic observation of the fungus and their micro-cultivation on a thin layer of PDA culture medium was carried out aseptically on a slide covered with a cover. For this purpose, the fungus was placed on the edges of the four sides of the cover, incubated in humid sterile room at temperature of 25°C for two to three days [11]. The micro-culture allowed the microscopic observation of spatial arrangements of conidia on conidiophores.

Determination of Biometric Characteristics: In order to explore the biometric characteristics of the fungus, a fragment was prepared from the cultivated culture, with high density of conidia, which was previously observed with microscopic. Furthermore, the fragment of the cultivated fungus was treated with drops of lactophenol solution and observed with a light microscope at 100 x objective in the presence of oil immersion. The biometric characteristic was determined by the microscopic observation of the shape, the length and the width of conidia of a sample of 20 conidia.

Identification of *Verticillium dahliae* kleb: The used micro-morphological and macro-morphological parameters for the identification of single spore of the isolated *Verticillium dahlia*, cultivated on the PDA culture medium has been established according to the described, proposed protocol by Menzies [12-14].

Statistical Analysis: The comparison of the average diameters of spores such as width and length of the isolated *Verticillium dahliae* was performed by using of

the the Student *t* test ($p < 0.05$). The principal component analysis used in this study was the description of the cultural characteristics such as mycelia colour, aerial mycelium and the density of micro-sclerotia).

RESULTS

The prospection of the agricultural crop campaign of the olive groves from the region of Sidi-Bel-Abbes and Mascara, located in the north-western Algeria, showed the apparition of some wilting in young olive trees, fading branches with a brown-purple bark, defoliation and shoots of young branches, browning and gutter rolling.

The obtained indicated the of twenty isolates *Verticillium dahlia* on Potato Dextrose agar culture medium and selected according to their morphological, cultural and biometric characteristics, where some difficulties by the isolation of *Verticillium dahliae* has been presented, followed by the reduction of isolation rate. The isolation *Verticillium dahlia* on PDA culture medium after seven days incubation revealed the development of white subaerial cottony mycelia. However, the produced white color of mycelium was developed after two weeks in black color, due the appearance of micro-sclerotia and the formation of a small black particle in the center of the colony. The isolated twenty single spore isolates on PDA culture medium from the collected sample from the olive trees of both region of Sfisef and Nesmoth revealed the presence of a circular colonies with an aerial mycelium with a variable micro-sclera density and a black pigmentation of mycelial (Table 2).

The use of the initial classification according to the described basis indicated the presence four types of colonies, where seven isolates appeared milky white with abundant aerial mycelium, thick and dense with smooth cottony aspect and the contour of the colony was regular. The micro-sclerotia of the isolates were produced in late phase very weakly.

A four grayish white isolates with flaky and relatively dense aerial mycelium and irregular contour has been showed, where the isolates was produced micro-sclerotia in late phase.

Furthermore, three irregularly-shaped black and white isolates with cottony aspect characterized by the presence of the white and dense aerial mycelium in the center of the colony due to the intense production of micro-sclerotia. At last, six greyish black isolates, with aerial mycelium, melanised by the abundant production of micro-sclerotia, characterised by the presence of an irregular front growth.

Table 2: Determination of cultural and biometric characters of twenty isolates *Verticillium dahliae* collected from the olive trees of Algerian

Isolates	Cultural traits			Spore dimensions in microns	
	Code	Colour of the mycelium	Aerial mycelium	Density of microsclerotia	Length
Vdm 1	milky white	Abundant	Sparse	4, 38	2, 15
Vdm 2	greyish black	Ras	Dense	4, 49	2, 11
Vdm 3	greyish black	Ras	Dense	4, 95	2, 3
Vdm 4	milky white	Abundant	Sparse	3, 76	1, 56
Vdm5	white and black	Abundant	Medium	4, 56	2, 01
Vdm 6	greyish black	Ras	Dense	3, 50	1, 66
Vdm 7	milky white	Abundant	Sparse	4, 50	2, 20
Vdm 8	greyish white	Medium	Sparse	4, 85	2, 00
Vdm 9	milky white	Abundant	Sparse	4, 30	2, 12
Vdm 10	milky white	Abundant	Sparse	4, 38	2, 04
Vds 1	greyish white	Medium	Sparse	4, 96	2, 40
Vds 2	white and black	Abundant	Medium	4, 50	1, 88
Vds 3	greyish black	Ras	Dense	4, 15	2, 05
Vds4	milky white	Abundant	Sparse	3, 85	1, 80
Vds 5	greyish black	Ras	Dense	3, 91	1, 90
Vds 6	greyish white	Medium	Sparse	4, 32	2, 01
Vds 7	white and black	Abundant	Medium	4, 95	2, 25
Vds 8	greyish white	Medium	Sparse	4, 50	2, 24
Vds 9	greyish black	Ras	Dense	4, 45	2, 2
Vds 10	milky white	Abundant	Sparse	4, 20	1, 90

(Isolates Code: Vdm: *Verticillium dahliae* isolated from Mascara, Vds: *Verticillium dahliae* isolated from Sidi-Bel-Abbes)

The microscopic observation showed that all isolates produce whorled conidiophores, bearing in turn whorled phialides, inserted by three to four with rounded conidia, which mucilage globules (spherule). Furthermore, conidia showed hyaline, unicellular, with length and width varied from 3.76-4.96 and 1.56-2.40 μm respectively (Table 2).

The microscopic observation of the old culture indicated the presence of enlargement and a partitioning of some parts of the mycelium, followed by an apparent swelling, a thickening of the walls with impregnated blackish pigment (melanin). Furthermore, a new hyaline cell mass was budded and the formed dark brown pigmentation was transformed into micro-sclerotia.

The observation on the regional organization and west contingency of the isolated *Verticillium dahlia* through crosses cultural characters such as aerial mycelium, contour, density, micro-sclerotia density and mycelium color was presented in Table 3.

The investigation of the aerial mycelium color indicated the presence of abundant color for WB isolates, intermediate for GW, crew for GB isolates and plentiful for MW isolates.

Furthermore, the formed micro-sclerotia was dense for GB, intermediate for WB isolates and sparse for MW and GW isolates. Where, the contour shape is regular for WB, GW and MW isolates and irregular for GB isolates (Table 3). Therefore, the irregular contour of GB isolates indicated the variability of the mycelium colours. The

combination of two cultural characters such as aerial mycelium and micro-sclerotic density, demonstrated that high aerial mycelium density of isolates was associated with a low density of micro-sclerotia (Table 4). Whereas, the observations of the regional organization of contingency that crosses cultural characters such as aerial mycelium, contour, density, density of micro-sclerotia and mycelium colour showed that an important correlation matrices between the regional organization and West (Nesmoth or Sfisef) (Table 4).

The strongest correlations on the west map concerns the WG and MW isolates (0.93), especially at the regional level, where Vds of GW isolate and Vdm/Vds of MW were (0.98/0.86) respectively. Furthermore, the GB isolate manifested a significant negative correlation coefficients with the WB (-0.6), with MW (-0.67) and with BG (-0.59).

The correlations of the regional organization were significantly positive for the same mycelial color of the isolated *Verticillium dahliae* in Nesmoth (Vdm) and Sfisef (Vds): WB (1.00), MW (0.94), BG (0.74) and GB (0.98) respectively. Simultaneous illustration of all relationships can only be carried out through correspondence analysis.

The total West inertia ($64.07+30.36 = 94.43$) is higher than the total regional inertia ($60.19+28.22=88.41$). Thus, variability and the level of similarity is best expressed if isolates are grouped together regardless of their isolation website (West: Nesmot and Sfisef).

Table 3: Regional organisation and west contingency of the isolated *Verticilium dahlia*

		Colour of the mycelium											
		Regional organization											
		WB		MW		GW		GB NG		West organization			
		Vdm BN	Vds BN	Vdm BL	Vds BL	Vdm BG	Vds BG	Vdm NG	Vds NG	BN	BL	BG	NG
aerial mycelium	Abundant	1	2	1	1	0	00	0	0	3	2	0	0
	Medium	0	0	4	1	1	3	0	0	0	5	4	0
	Ras	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	6
Shape	Regular	1	2	5	2	1	3	0	0	3	7	4	0
	Irregular	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	6
Density of microsclerotia	Dense	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	0	7
	Medium	1	2	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
	Sparse	0	0	5	2	1	3	0	0	0	7	4	0

(Mycelial colour code: White and Black (WB BN); greyish white (GW BG) Milky white (MW BL); greyish Black (GB NG))

Table 4: Regional and west contingency of *Verticilium dahliae* isolates.

	Regional organization								West organization				
	Vdm BN	Vds BN	Vdm BL	Vds BL	Vdm BG	Vds BG	Vdm NG	Vds NG	BN	BL	BG	NG	
Vdm BN	1, 00								BN	1, 00			
Vds BN	1, 00	1, 00							BL	0, 1	1, 00		
Vdm BL	0, 04	0, 04	1, 00						BG	-0, 02	0, 93	1, 00	
Vds BL	0, 23	0, 23	0, 94	1, 00					NG	-0, 6	-0, 67	-0, 59	1, 00
Vdm BG	0, 15	0, 15	0, 69	0, 52	1, 00								
Vds BG	-0, 07	-0, 07	0, 98	0, 86	0, 74	1, 00							
Vdm NG	-0, 59	-0, 59	-0, 65	-0, 69	-0, 44	-0, 59	1, 00						
Vds NG	-0, 60	-0, 60	-0, 66	-0, 70	0, 45	-0, 60	0, 98	1, 00					

(Mycelial colour code: White and Black (BN); greyish white (BG) Milky white (BL); greyish Black (NG)), bold correlations are significant at $p < 0.05$

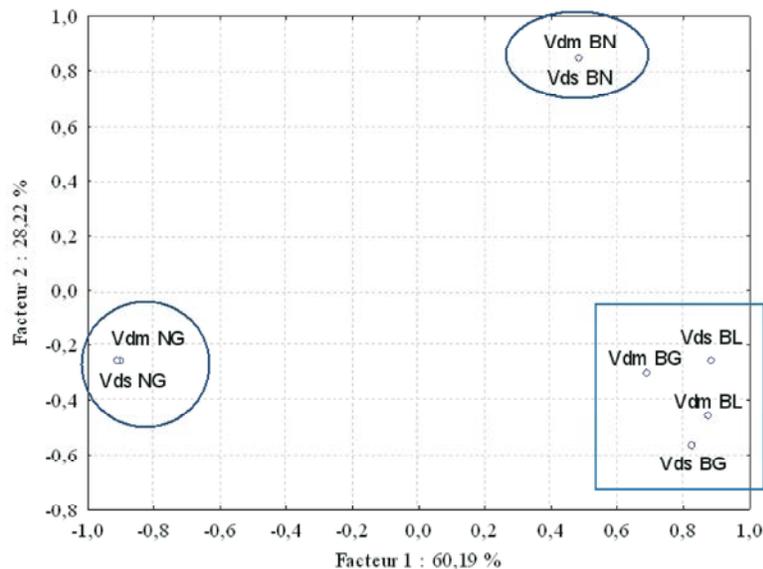


Fig. 2: Analysis of regional correspondence of *Verticilium dahliae* isolates

The obtained results by the using of the geographical location did not indicate at best the morphotypical distribution, which joined the descriptive results of the regional profile discussed previously. Furthermore, the

analysis of the western correspondence, which was divided into three "sub-cloud" corresponding to three groups of dissimilar isolates showed two main axes represented by 64, 07 % and 30, 36 % of the total inertia.

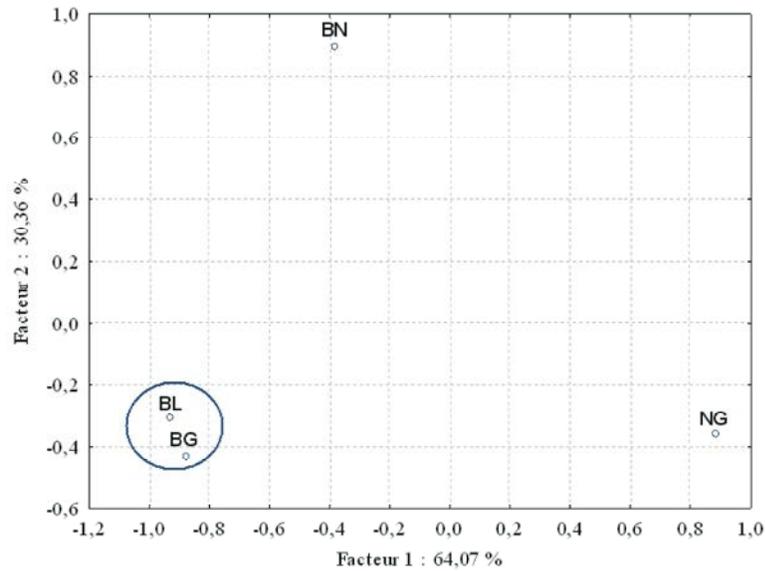


Fig. 3: Analysis of west correspondence of *Verticillium dahliae*

Where, the first axis of greyish black isolates (GB) opposed to the rest of the mycelium colors (negative correlation coefficient).

The second axis opposed the black and white isolates (WB) of the milky white group (MW) and greyish white (GW) (correlation coefficient nearer zero: respectively, 0.1 and 0.02). According to the correspondence analysis, the study of the morphotypical of the twenty isolated *Verticillium dahlia* was identified three analytical morphotypes, which presented several common features. The Morphotype class 1 showed a greyish black mycelium isolates (NG) and characterized by production of a dense micro-sclerotia and irregular contour. The second class of Morphotype 2 presented a black and white mycelium isolates (BN) and characterized by the production of an intermediate micro-sclerotic density and abundant aerial mycelium. The third class of Morphotype 3 presented a milky white mycelium (BL) and greyish white (BG) isolates and characterized by the production of a sparse micro-sclerotic density. Finally, the morphotypical profile statement described the presence of three morphotype isolates in both olive groves of Nesmoth and Sfisef and the same for the two varieties (*Chemlal* and *Sigoçse*). The Student *t* test compared the averages of measurements (width and length) of the isolates did not show any significant difference ($p=0.01$).

DISCUSSION

The study of Verticillium wilt of olive trees in Algeria caused by the fungus *Verticillium dahliae* is of crucial

importance in the Algerian arboriculture. The in vitro morphological variability of this fungus has been the subject of intense research for several decades [15].

Although a huge progress has been done for the comprehension of the morphocultural characters of the fungus, the interpretation of the molecular mechanisms of the morphological instability remained unclear [16].

The obtained results by the prospection of the olive groves in Sfisef and Nesmoth “Northwest Algeria” revealed the presence of typical symptoms of Verticillium wilt; such as withering, defoliation, browning and leaf drying, with clearly noticeable symptoms during the spring season, when the soil moisture augmented and the temperature decreased and the germination of fungal micro-sclerotia in the olive tree roots.

In early study, Benchabane, Bellahcene and co-workers has reported the same symptoms on olive trees in Algeria [3-4]. Furthermore, the isolation this fungus from diseased plant tissue was often encountered [17-18]. The encountered difficulty could be explained by the environmental conditions such as hot weather during spring season, the type of vascularization of olive variety (*Sigoïse* and *Chemlal*) and the density of the pathogen in the xylem of the tree [2, 19-20].

The obtained results of the cultural, morphological and biometric characteristics indicated the typical morphocultural description of *Verticillium dahlia* [21-22]. The use of macro-morphological parameter for the identification of *Verticillium dahlia* indicated a variability in micro-sclerotia density (sparse, intermediate and plentiful), in the mycelial color (milky, grayish-white, white

and black, grayish black), in the appearance of the aerial mycelium (ras, intermediate and plentiful) and in contour (regular and irregular). Korolev and co-workers have observed the presence of the cultural differences [23-26]. Furthermore, Pegg and co-workers [6] have reported the distribution of the isolated *Verticilium dahlia* by several analytical morphotype PCA and described two *Verticilium dahlia* morphotypes, the black and the white form. Furthermore, Bellahcene has described three *Verticilium dahlia* morphotypes: hyaline, wild and intermediate. Jabnoun and co-workers has described four morphotypes [7]. The presence of the three isolated *Verticilium dahlia* isolated morphotypes in both Nesmoth and Sfisef olive groves indicated that the geographical location was not necessary for the morphotypical determination of the fungus.

The obtained results suggested a random morphological distribution of *Verticilium dahlia* in the Algerian orchard, where, the distribution is probably due to a genetic homogeneity of the isolates of the neighbouring localities, the spread of the pathogen via the micro-sclerotia (Sfisef) induced the initiation of new infection in the others localities (Nesmoth). The presence of three isolated *Verticilium dahlia* morphotypes despite the varietal olive *Chemlal* in Nesmoth and *Sigoçse* in Sfisef, showed that the morphotype of fungus was not associated with the olive variety.

Bellahcene and co-workers [5] has reported the absence of such relationship on the isolated *Verticilium dahlia* from the same Algerian olive varieties. Jabnoun and co-workers [7] has reported that the same isolated morphotypes from different host plants might show varying morphology and aggressiveness against the same plants. Carder & Barbara [27] has also reported the absence of the correlation between *Verticilium dahlia* and host plants.

The micro-morphological identification of the isolated *Verticilium dahlia* revealed the presence of conidia with dimension ranges (length and width) [4, 8, 26].

The homogeneous spores' dimensions detected in the three isolated *Verticilium dahlia* morphotypes revealed that the spore size does not characterize the fungus morpho-type.

Darai and co-workers [26] has reported the absence of morphotypes for the spore dimensions ratio, where no significant difference by the measure of width and length of the spore and and the size of the fungus micro-sclerotia.

The obtained results from the geographical olive grove, the variety of olive tree and the size of spores do not provide any indication about the morphotypical identity of the *Verticilium dahlia*. However, Lopez

and co-workers [2] *et al.* (2005) has reported that the virulence has a relationship with the morphology of *Verticilium dahlia*, on culture medium and in particular with micro-sclerotia morphology [28, 2]. Furthermore, Lopez and co-workers [2] has reported a considerable morphological variation of *Verticilium dahlia* micro-sclerotia isolated from the same soil sample. According to the described study reported by Tolmsoff [15], the micro-sclerotia was the headquarters of the morphological conservation and variable production that induced the morphological variables in the *Verticillium* genus.

Darai and co-workers has reported [26] the presence of a polymorphism in the micro-sclerotic DNA extracted from the isolated *Verticilium dahlia* and induced by a variable activation of gene for pigment synthesis (melanogenic) and micro-sclerogenic.

From the present study, it was emerged that *Verticilium dahlia* has some variations that could affect the morphogenesis characteristics such as thalli growth and sclerogenic, where the molecular mechanisms has explained that the variability was not clear [29]. The asexual mode of reproduction by the isolated of *Verticilium dahlia*, the spontaneous mutations could be a source of genetic variation and further morphological differences [30]. The mitotic recombination via the para-sexual cycle or transposable genetic elements observed by the isolated of *Verticilium dahlia* could also lead to variations [31, 32, 30]. Nevertheless, artificial mutagenesis or the transformation by the insertion of DNA fragments could be induced a probable genetic variation [33]. The take in consideration of the followed probable explanations could be predicted that the isolated of *Verticilium dahlia* from olive trees in Algeria presented a common origin with a homogeneous genetic and then evolved as under-heterogeneous population as reported by Bellahcene [8]. The limitation of the present study lies in the reduced number of the isolated fungi (20 isolates) collected from two olive groves. Furthermore, the present result may give a good support for further investigation such as studying physiological study, pathogenesis and molecular aspects of the isolated *Verticilium dahlia* populations from Algerian olive groves and olive varieties.

CONCLUSION

A population of twenty isolates of *Verticilium dahlia* in olive groves from Algeria was identified based on morphological, cultural and biometric characters. However, joining the morphocultural identification to the molecular identification is excessively necessary.

The morphological heterogeneity within this *Verticillium dahlia* population has resulted in three PCA analytical morphotypes clearly dissimilar. The distribution of these morphotypes was not connected to the geography of the olive grove, to the host olive variety and to the spore's size. The morphological study of *Verticillium dahlia* brings up some relatively individualized morphology isolates in the third morphotype, which gives way to the emergence of new morphotype not previously reported. The Algerian population of *Verticillium dahlia* could serve as preliminary fungal material for variety selection programs.

REFERENCES

1. Klebahn, H., 1913. Beiträge zur Kenntnis der Fungi Imperfecti I. Eine *Verticillium*-Krankheit auf Dahliaen Mycologisches Zentralblatt., 3: 49-66.
2. López-Escudero, F.J. and J. Mercado-Blanco, 2010. *Verticillium* wilt of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. Plant. Soil., pp: 1-50.
3. Bellahcene, M., Z. Fortas, J.P. Geiger, A. Matallah and D. Henni, 2000. *Verticillium* wilt in olive in Algeria: Geographical distribution and extent of the disease. Olivae, 82: 41-43.
4. Benchabane, M., A. Alia, J. Fadil and D. Toual, 2010. Etat de la verticilliose dans quelques oliveraies algériennes. Revue Ezzaitouna, 11(1).
5. Bellahcene, M., Z. Fortas, D. Fernandez and M. Nicole, 2005. Vegetative compatibility of *Verticillium dahliae* isolated from olive trees (*Olea europea* L.) Afr. J. Biotechnol., 4: 963-967.
6. Pegg, G.F. and B.L. Brady, 2002. *Verticillium* wilts. New York: CABI Publishing, pp: 432.
7. Jabnoun-Khiareddine, H., M. Daami-Remadi, D.J. Barbara and M. El Mahjoub, 2010. Morphological variability within and among *Verticillium* species collected in Tunisia Tunisian Journal of Plant Protection, 5: 19-38.
8. Xu, Z., Z. Ali, X. Hou, H. Li, J. X. Yi and P.A. Abbasi, 2013. Characterization of Chinese eggplant isolates of the fungal pathogen *Verticillium dahlia* from different geographic origins Genet. Mol. Res., 12(1): 183-195.
9. Rappily, F., 1968. Les techniques en mycologie en pathologie végétale. Annuelles des Epiphytes, vol. 19. Institut National de Recherche Agronomique, Paris (France). Annuelles des Epiphytes, 19: 102.
10. Booth, C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, pp: 237.
11. Haris, C., 1989. Introduction to modern microbiology. Blackwell Scientific Publication, pp: 179.
12. Menzies, J.D. and G.E. Griebel, 1967. Survival and saprophytic growth of *Verticillium dahliae* in uncropped soil. Phytopathology, 57: 703-709.
13. Barnett, H.L. and H. B. Barry, 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. Third Edition. Burgess Publishing Company, pp: 239.
14. Kebe, I., 1983. Prévisions des variations d'efficacité de la lutte chimique par apparition de résistance. Application à *Verticillium dahliae* kleb. Thèse Doc 3^{ème} Cycle. Univ. Paris XI-Centre Orsay, pp: 128.
15. Tolmsoff, W.J., 1972. Diploidization and heritable gene repression as major sources for variability in morphology metabolism and pathogenicity for *Verticillium species*. Phytopathology, 62(4): 407-413.
16. Metoui, O. and M. Zarrouk, 2007. Caractérisation morphologique et culturale du champignon *Verticillium dahliae* responsable du dépérissement de l'olivier en Tunisie. Revue Des Régions Arides, pp: 294-298.
17. Chang, R.J. and D.M. Eastburn, 1994. Host range of *Verticillium dahlia* from horseradish and pathogenicity of strains. Plant Dis., 78: 503-506.
18. Montes, F., J.I. Paez, J.M. Vega, M.E. Duhart and B. San Veg, 1997. Host range of *Verticillium dahlia* from horseradish and pathogenicity of strains. Plagas, 23: 439-447.
19. Wilhelm, S., J. and B. Taylor, 1965. Longevity of the *Verticillium* wilt fungus in laboratory and field. Phytopathology, 55: 310-316.
20. Martin-Lapierre, A., 2011. Application de composts et de fumigants pour lutter contre la verticilliose (*Verticillium dahliae*) du fraisier. Thèse. Doct. D'Etat. Univ. Laval (Canada), pp: 108.
21. Roger, L., 1953. Phytopathologie des pays chauds. Tome II, pp: 1924-1934.
22. Hawksworth, D.L. and P.W. Talboys, 1970. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 256. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
23. Korolev, N., J. Katan and T. Katan, 1997. Vegetative compatibility groups of *Verticillium dahliae*. Israel: their distribution and association with pathogenicity. Phytopathology, 90: 529-536.
24. Ketan, T., 2000. Vegetative compatibility in populations of *Verticillium*—an overview Advances in *Verticillium* Research and Disease Management, pp: 69-86.
25. Gharbi, Y., M.A. Triki and A. Jolodar, 2004. Genetic diversity of *Verticillium dahliae* from olive trees in Tunisia based on RAMS and IGS-RFLP analyses. Canadian Journal of Plant Pathology, 36: 4.

26. Darai, S., A. Chourfi, M. Diouri and S. Amiri, 2014. Morphological and molecular characterization of *Verticillium dahliae* population occurring in different olive-growing regions of Morocco. South Asian Journal of Experimental Biology, 4: 6.
27. Carder, J.H. and D.J. Barbara, 1991. Molecular variation and restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) within and between six species of *Verticillium*. Mycological Research, 95(8): 935-942.
28. Bejarano-Alcazar, J., R.M. Jimenez-Diaz, M. Melero-Vara and M.A. Blanco-Lopez, 1990. Characterization and distribution of pathotypes of *Verticillium dahliae* infecting cotton in southern Spain. Proceedings of the 5th International *Verticillium* Symposium.
29. Klimes, A., S. G. Amyotte, S. Grant, S. Kang and K. F. Dobinson, 2008. Microsclerotia development in *Verticillium dahliae*: Regulation and differential expression of the hydrophobin geneVDH1. Fungal Genet Biol., 45: 1525-1532.
30. Loula, J., A.M. Mehna, M. Abou Chaar, M.N. Selti, F. Adama and J. Arab, 2011. Diversité génétique de *Verticillium dahliae* Kleb; Agent causal de la verticilliose du coton en syrie. Prot., 29: 1-8.
31. Hastie, A.C., 1964. The parasexual cycle in *Verticillium alboatrum*. Genetical Research, 5: 305-315.
32. McGeary, F.M. and A.C. Hastie, 1982. Hybridization of *Verticillium alboatrum* strains from tomato and lucerne. Physiology and Plant Pathology, 21: 437-444.
33. Malardier, L., M.J. Daboussi, J. Julien, E. Roussel, C. Scazzocchio and Y. Brygoo, 1989. Cloning of the nitrate reductase gene (nia D) of *Aspergillus nidulans* and its use for transformation of *Fusarium oxysporum*. Gene, 78: 147-156.