

Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

K. Hibar¹, Mejda Daami-Remadi² & M. El Mahjoub³

Keywords: *Fusarium*- Tomato- Chemical control- Biological control- Inhibition- Disease incidence- Tunisia

Résumé

Fusarium spp. sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs causant des flétrissements et des pourritures racinaires de plusieurs espèces végétales. A ce niveau, une nouvelle maladie causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* a été signalée pour la première fois en Tunisie à l'exploitation «Cinquième Saison», située à Hammet Gabès dans le sud tunisien, durant la campagne 2000-2001. Cette maladie a causé des pertes pouvant atteindre 90% de plants de tomate dans certaines serres. Dans le but de lutter contre ce pathogène, l'effet de certains fongicides de synthèse et biologiques a été testé in vitro sur la croissance mycélienne et in vivo sur l'agressivité de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. L'hymexazol, le benomyl et le manèbe ont été utilisés comme fongicides de synthèse et quatre produits biologiques, dont deux à base de *Trichoderma harzianum*, un dérivé de *Bacillus subtilis* et un autre à base de *Bacillus thuringiensis*, ont été utilisés. Parmi les fongicides de synthèse utilisés, l'hymexazol et le benomyl ont été plus efficaces in vitro que le manèbe entraînant un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de l'ordre de 80%. Toutefois, les essais de lutte in vivo avec ces deux fongicides ont montré que seul l'hymexazol s'avère efficace pouvant entraîner une réduction de l'incidence de la maladie de l'ordre de 76%. In vitro, le produit à base de *B. thuringiensis* a entraîné une inhibition de la croissance mycélienne inférieure à 20%. Cette valeur est supérieure à 75% aux trois autres produits. L'efficacité de ces produits était plus marquée dans les essais de lutte conduits in vivo sur des plants de tomate inoculés avec le pathogène. En effet, par l'utilisation du produit à base de *B. subtilis*, la réduction de l'incidence de la maladie a dépassé 95%. Ces résultats montrent que l'utilisation de certains produits biologiques pourrait lutter contre la fusariose des racines et du collet de la tomate.

Introduction

En Tunisie, la culture de tomate occupe une place très importante dans la vie socio-économique. En effet, la superficie actuellement occupée par cette solanacée est de 19,1 milles ha. Toutefois, la production de tomate sous serre reste toujours freinée par certaines maladies dont la fusariose des racines et du collet (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*) qui cause d'importantes pertes dans les cultures hors sols (19). Cela est dû principalement à sa facilité de dissémination et à sa persistance dans le sol (3). De plus, et malgré le développement de cultivars résistants à ce pathogène, la lutte contre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* reste limitée à des mesures prophylactiques (3). Cette maladie, récemment apparue en Tunisie dans des serres de tomates chauffées à l'eau géothermale dans le sud tunisien (9), a affecté plus de 90% de plants de tomates dans certaines serres. Vu les dégâts causés par ce

Summary

Effect of some Chemical and Biological Fungicides on Mycelial Growth and Disease Severity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

Fusarium is among the most aggressive telluric fungi causing wilt and root rots in several vegetable crops. A new disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* was recorded in southern Tunisia in the «Cinquième Saison» farm, situated in Hammet Gabès during 2000-2001 crop season. It caused death of up to 90% of tomato plants in some greenhouses. In the present research, the effect of 3 chemical and 4 biological fungicides was tested in vitro on mycelial growth and in vivo on disease severity of *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Hymexazol, benomyl and manebe were used as chemical fungicides whereas four biological products, i.e. two based on *Trichoderma harzianum*, one on *Bacillus subtilis* and another one on *Bacillus thuringiensis* were also tested. Among the chemical fungicides which were used, hymexazol and benomyl were the most effective in vitro and inhibited mycelial growth up to 80%. However, in vivo assays showed that only hymexazol was effective with a reduction in disease incidence of about 76%. In vitro, the product based on *B. thuringiensis* entailed a mycelial growth inhibition of less than 20%. This value is more than 75% higher than what was obtained through the other biological fungicides based on either *T. harzianum* or in *B. subtilis*. The efficacy of the latter 2 biological fungicides was more important in vivo assays using inoculated tomato plants. Indeed, by the use of the product based on *B. subtilis*, the reduction of disease incidence exceeded 95%. These results show that some biological fungicides can be used in controlling *Fusarium* crown and root rot of tomato.

pathogène et les menaces qui pèsent sur la production de tomate sous serre et en plein champ, nous nous sommes intéressés à lutter contre ce champignon.

L'objectif de cette étude consiste donc à tester, in vitro et in vivo, des fongicides (de synthèse et biologiques) afin de sélectionner des produits qui pourraient éventuellement être utilisés dans des programmes de lutte contre la fusariose des racines et du collet de la tomate.

Matériel et méthodes

1. Matériels biologiques

1.1. L'agent pathogène

Les isolats de *F. oxysporum* Schlecht f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis et Schoemaker ont été obtenus sur base d'isolements

¹Laboratoire de Phytopathologie de l'Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott-Mariem, 4042 Sousse, Tunisie.

Téléphone: 00 216 73 348 544 Télécopie: 00 216 73 348 691 Email: khaled_htn@yahoo.fr

²Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, Pôle Régional de Recherches et du Développement Agricole du Centre Est, 4042 Sousse, Tunisie.

³Ecole Supérieure d'Horticulture de Chott-Mariem, 4042 Sousse, Tunisie.

Reçu le 18.02.04 et accepté pour publication le 31.03.06.

réalisés à partir de plants de tomate présentant des symptômes de flétrissement et de pourriture du collet. Les échantillons ont été prélevés dans l'exploitation «Cinquième saison» à Hammet Gabès qui pratique la culture de la tomate sous serres chauffées par les eaux géothermales.

Différentes parties de la plante (racines, collets et tiges) ont été prélevées pour l'isolement du pathogène. Les échantillons ont été coupés en fragments d'environ 0,5 cm, puis désinfectés superficiellement par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium (10%) pour une durée de 5 minutes. Les fragments ont été ensuite lavés avec de l'eau distillée stérile et puis séchés entre 2 papiers filtres stériles. Une fois séchés, les fragments ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant un milieu PDA (Potato Dextrose Agar) amendé avec du sulfate de streptomycine à raison de 200 mg/l afin d'éviter la prolifération des bactéries. Les boîtes ont été incubées à l'obscurité dans une étuve bactériologique (Bio Concept Firlabo) à une température de 25 °C pendant 4 à 5 jours. La purification de l'agent pathogène a été réalisée en repiquant successivement des fragments du front de croissance des jeunes cultures en développement. Afin de s'assurer de l'état de pureté des colonies, des cultures monospores ont été appliquées pour tous les isolats obtenus. L'identification de l'agent pathogène a été réalisée microscopiquement et ce, d'après les caractéristiques des macroconidies, des phialides et des chlamydospores (4), moyennant la clef de détermination présentée par Nelson *et al.* (18). Ces isolats ont été confirmés comme étant du *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* par le biais de tests de pathogénicité sur des cultivars différentiels de tomate (9, 10). Les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* et leurs origines sont récapitulés dans le tableau 1.

1.2. Cultivars de tomate utilisés

Dans le but d'évaluer l'effet des fongicides de synthèse et biologiques *in vivo* contre ce pathogène, quatre cultivars

Tableau 1
Les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* retenus pour cette étude

Isolats	Plante hôte (cultivar)	Date de collecte
Fo1.01	Cultivar Durintha	2001
Fo2.01	Cultivar Durintha	2001
Fo3.02	Cultivar Elena	2002
Fo4.02	Cultivar Bochra	2002

Tableau 2
Les produits biologiques testés contre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

Nom de l'agent actif	Nom commercial	Concentration d'agent actif	Doses testées
<i>Trichoderma harzianum</i>	Biocont-T (<i>water powder</i>)	Plus de 14.10 ⁶ spores/g	200 g/m ³ de substrat utilisé dans la pépinière
<i>Trichoderma harzianum</i>	Biocont-T (<i>granular</i>)	Plus de 19.10 ⁷ spores/g	500 ml/m ³ de substrat utilisé dans la pépinière
<i>Bacillus subtilis</i>	Agralan Revive		10 ml/l
<i>Bacillus thuringiensis</i>	Bactospeine 16000	16000 UI/mg	300 g/hl

Tableau 3
Les fongicides de synthèse testés dans cette étude

Nom de la matière active	Nom commercial	Concentration de la matière active	Dose homologuée sur culture de tomate
Hymexazol	Tachigaren 360	360 g/l	0,25 ml/plant
Manèbe	Manèbe 80	80%	250 g/hl
Benomyl	Benlate 50	50%	60 g/hl

de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Riogrande, Roxane, Maria et Elko, sensibles au *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, ont été utilisés.

1.3. Produits biologiques

Afin de palier aux effets secondaires des fongicides de synthèse (apparition des phénomènes de résistances, problèmes des résidus dans les produits traités et durabilité généralement faible avec ces produits), nous avons opté pour des moyens biologiques en testant deux produits à base de *Trichoderma harzianum* Rifai formulés sous forme d'une poudre de couleur verte: [Biocont-T (*water powder*)] et [Biocont-T (*granular*)], National Ammonia & Chemical Industries, Amman. A côté de ces deux produits, on a utilisé un produit à base de *Bacillus subtilis* formulé sous forme d'un liquide de couleur verdâtre et nommé Agralan Revive, Agralan Limited, Swindon, UK, et un produit à base de *Bacillus thuringiensis* formulé sous forme d'une poudre jaunâtre et connu sous le nom commercial Bactospeine 16000, COVAGRI, France (Tableau 2).

2. Fongicides de synthèse

Dans le but d'étudier l'action de certaines matières actives de synthèse sur la croissance mycélienne et sur la virulence de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, trois fongicides ont été utilisés. Il s'agit de Tachigaren 360 (m.a. hymexazol), homologué contre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, de Benlate 50 (m.a. benomyl), un produit systémique classique actif contre les trachéomycoses, et de Manèbe 80 (m.a. manèbe) qui est un produit de contact (Tableau 3).

3. Méthodologie de travail

3.1. Effets des fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

Les fongicides de synthèse ont été incorporés aseptiquement, à la dose homologuée, dans le milieu de culture PDA maintenu en surfusion à une température de 40 à 45 °C. Après écoulement et solidification du mélange (milieu de culture et fongicides), des disques d'agar de 6 mm de diamètre, portant l'agent pathogène, ont été déposés au centre de boîtes de Pétri. Ces boîtes ont été incubées à une température de 25 °C correspondant à l'optimum de croissance mycélienne du *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (10). La mesure du diamètre moyen de chaque colonie, calculé à partir de deux diamètres perpendiculaires, a

été effectuée après six jours d'incubation. Des boîtes traitées de la même façon dont la même quantité de fongicide a été remplacée par de l'eau distillée stérile constituent le témoin non traité. Cinq répétitions par traitement élémentaire ont été réalisées et l'expérience entière a été répétée deux fois. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne a été déterminé en se basant sur la formule suivante (12):

$$I(\%) = \left[1 - \frac{C_n}{C_o} \right] * 100$$

avec Cn: diamètre moyen des colonies en présence du produit actif; et, Co: diamètre moyen des colonies témoins.

3.2. Effets des fongicides de synthèse et biologiques sur la virulence *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

Le choix des fongicides utilisés dans cet essai était basé sur leur efficacité observée *in vitro*. Les produits choisis donc pour l'essai des fongicides *in vivo* sont les mêmes que ceux mentionnés dans les tableaux 2 et 3, excepté le manèbe et le produit à base de *B. thuringiensis*. L'effet de ces produits ainsi sélectionnés sur l'expression de la maladie a été étudié sur un seul isolat de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Fo2.01) qui s'était montré le plus agressif lors d'un test de pathogénicité réalisé sur quatre isolats de ce pathogène (10). L'étude de ces fongicides sur la virulence de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* a nécessité les étapes suivantes :

3.2.1. Multiplication du *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

La multiplication de l'inoculum a été réalisée dans des boîtes de Roux contenant chacune 600 cm³ de perlite et 200 ml de milieu PDB (Potato Dextrose Broth) préalablement autoclavés pendant 25 min sous une pression de 1 bar et une température de 120 °C, auxquelles nous avons ajouté 10 ml d'une culture liquide de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Ces boîtes étaient ensuite incubées à 25 °C pendant quatre semaines.

3.2.2. Préparation des plantules à inoculer

Les graines de chaque cultivar de tomate à tester étaient désinfectées superficiellement par trempage dans de l'éthanol absolu pendant 5 minutes (3), puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile afin d'éliminer les restes de pesticides utilisés en traitement de semences (3). Après séchage, les graines étaient mises aseptiquement dans des boîtes de Pétri stériles contenant des papiers filtres imbibés d'eau distillée stérile, à raison de 30 graines réparties uniformément sur toute la surface de la boîte. La germination des graines était assurée par incubation de ces boîtes dans une étuve réglée à 20 °C pendant 4 à 5 jours. Une fois prégermées, les graines étaient repiquées dans des plaques à alvéoles contenant de la tourbe préalablement stérilisée par autoclavage pendant 30 min sous une pression de 1 bar et une température de 120 °C.

L'entretien des plants était réalisé dans une cellule de serre vitrée à une température d'environ 23 °C et une photopériode de 12 heures. Les plants étaient régulièrement irrigués avec de l'eau distillée et fertilisés une fois par semaine à l'aide d'une solution nutritive (N: 150 ppm; P: 50 ppm; K: 150 ppm; Ca: 150 ppm; Mg: 30 ppm; Fe: 3 ppm; Mn: 1,5 ppm; Zn: 0,20 ppm; B: 0,4 ppm; Cu: 0,1 ppm; Mo: 0,05 ppm). Des plants de 3 semaines ont été utilisés pour les inoculations.

3.2.3 Traitement des plantules

Le repiquage des plantules de chaque cultivar de tomate était réalisé lorsque ces dernières atteignaient le stade deux feuilles bien étalées (26). La transplantation des plantules était réalisée dans des sachets en polyéthylène (7,5 cm de diamètre et 12 cm de hauteur) remplis de perlite inoculée par *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* laquelle une quantité de fongicide avait été additionnée. Les fongicides se présentant sous forme liquide, ont été ajoutés juste après la transplantation des plantules: l'hymexazol (0,25

ml/plante) et l'Agralan Revive (0,25 ml/plante). Les autres fongicides, se présentant sous forme solide, (benomyl, et ceux à base de *T. harzianum* [Biocont-T (*water powder*) et Biocont-T (*granular*)], ont été appliqués au moment de la transplantation des plantules directement à la perlite inoculée à la dose 0,015 g/plante; 0,03 g/plante et 0,075 ml/plante, respectivement. Les plantules ainsi transplantées étaient placées en croissance dans une cellule de serre vitrée à une température d'environ 23 °C et une photopériode de 12 heures. Des plants de chaque cultivar de tomate transplantés dans de la perlite inoculée par le *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* sans addition de fongicide ou dans de la perlite préalablement autoclavée ont servi de témoin inoculé non traité et de témoin sain, respectivement.

L'évaluation des symptômes a été faite 30 jours après la transplantation des plantules (26) en se basant sur une échelle de notation de symptômes proposée par Vakalounakis et Fragkiadakis (24), comprenant quatre valeurs:

0: plante saine;

1: léger jaunissement, légère pourriture du pivot et des racines secondaires et pourriture du collet;

2: jaunissement important des feuilles avec ou sans flétrissement, rabougrissement des plantes, pourriture sévère du pivot et des racines secondaires, pourriture importante du collet et brunissement des vaisseaux de la tige; et,

3: mortalité de la plante.

Sur la base de ces notations, on a calculé l'incidence de la maladie (%) en utilisant la formule suivante (22): (1)

$$\left[\frac{(\sum \text{Valeurs} * \text{Nombre de plants infectés})}{(\text{la valeur la plus élevée} * \text{nombre total des plants})} \right] * 100$$

La réduction de l'incidence de la maladie (%) a été calculée selon la formule suivante (22): (2)

$$\left[\frac{(\text{Incidence de la maladie du témoin inoculé} - \text{incidence de la maladie des plants traités})}{(\text{Incidence de la maladie du témoin inoculé})} \right] * 100$$

4. Analyse statistique

Le dispositif expérimental utilisé dans cet essai est celui d'un plan complet à 2 facteurs avec répétitions, le facteur A correspond aux fongicides testés et le facteur B représente les cultivars de tomate utilisés. Le nombre de répétitions est de 10 plants par traitement élémentaire et les expériences ont été répétées deux fois. L'analyse statistique a été réalisée en utilisant les procédures des modèles linéaires générales (GLM) du logiciel SPSS (10.0). Les expériences ont été analysées en utilisant une analyse standard de la variance (ANOVA) avec interactions. Pour tous les tests, le niveau de la signification a été évalué au seuil 5%. Le cas échéant, la comparaison des moyennes était faite moyennant le test de Student-Newman-Keuls afin de distinguer des groupes selon les valeurs des moyennes des variables testées.

Résultats et discussion

1. Activité inhibitrice des fongicides de synthèse vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

1.1. Effets des fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne du pathogène

L'évaluation de l'efficacité des produits testés (Tableau 2) repose sur le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne. L'analyse de la variance a révélé une interaction significative entre les produits testés et les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* utilisés dans cette étude ($p < 0,05$). En effet, le pourcentage d'inhibition le

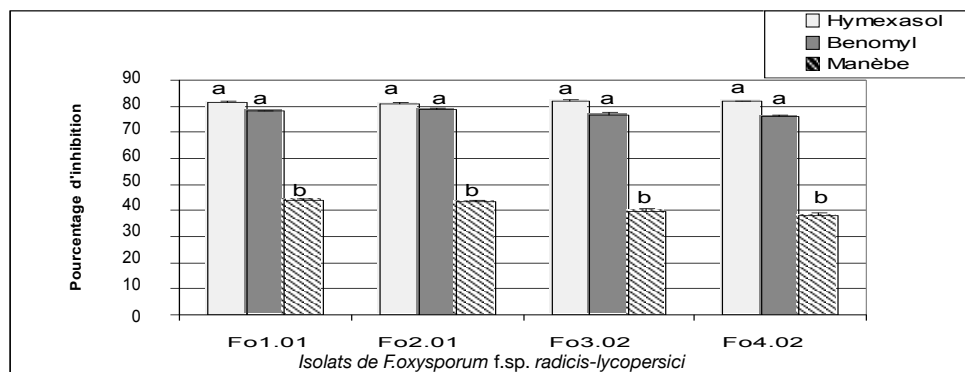


Figure 1: Inhibition de la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* sous l'action des fongicides de synthèse après 6 jours d'incubation à 25 °C. Les valeurs sont la moyenne de 5 répétitions et l'expérience a été répétée 2 fois. Les moyennes suivies de la même lettre pour chacun des isolats testés ne sont pas significativement différentes ($p \leq 0,05$ selon le test SNK).

plus important a été obtenu avec l'hymexazol où l'inhibition a atteint 80% pour les quatre isolats testés. Le benomyl a montré aussi un pourcentage d'inhibition élevé, supérieur à 75% pour tous les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* testés. Cependant, avec le manèbe, cette valeur était de l'ordre de 40% (Figure 1) et même inférieure (isolat Fo2.04) bien qu'il ait montré une efficacité importante en l'utilisant en traitement des tubercules de la pomme de terre. En effet, ce produit a réduit la pénétration moyenne des isolats de *Fusarium* spp. de plus de 80% (23).

Le benomyl, s'est montré également très efficace *in vitro* contre *Fusarium solani*, responsable de la mort subite du soja induisant ainsi une inhibition de la croissance mycélienne d'environ 66% (17).

Testé sur *F. roseum* var. *culmorum* et *F. roseum* var. *sambucinum*, agents de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre, le benomyl s'est avéré efficace entraînant ainsi une inhibition importante de la croissance mycélienne (5). Cette inhibition a été estimée à travers les dimensions de la zone d'antibiose qui a dépassé 3,5 cm dans le cas du *Fusarium roseum* var. *culmorum*. Dans le même sens et en testant l'effet de certains fongicides de synthèse sur la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Song et al. (22) ont montré que le prochloraz et le carbendazim étaient les plus efficaces dans l'inhibition de la croissance mycélienne de ce pathogène comparativement aux thiram, toclofos-méthyl, hymexazol, azoxystrobin et carboxin.

1.2. Effets des fongicides de synthèse sur l'incidence de la maladie

L'efficacité des produits induisant le pourcentage d'inhibition le plus élevé *in vitro*, a servi de critère de choix principal des produits à tester *in vivo*. L'incorporation des produits de synthèse au substrat de culture et le calcul de la réduction de l'incidence de la maladie sur les plants de tomate au terme de 30 jours d'élevage, ont révélé une grande efficacité

de l'hymexazol comparativement au benomyl. En effet, pour toutes les plantules traitées avec l'hymexazol, la réduction de l'incidence de la maladie était supérieure à 76% pour le cultivar Maria. Cependant, pour les plants traités avec le benomyl, cette valeur n'a pas dépassé 34% pour le même cultivar et il n'est que de 22% pour le cultivar Elko (Tableau 4).

Il est à noter que les plantules traitées par l'hymexazol ont montré un démarrage difficile du fait qu'elles ont été repiquées à un stade sensible (problème de phytotoxicité). Toutefois, une semaine après le repiquage, ces plantules ont repris leur croissance normale.

Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés par Reid et al. (20) qui ont montré que l'utilisation du benomyl dans la lutte contre la fusariose des racines et du collet d'*Asparagus*, causée par *F. oxysporum* f. sp. *asparagi* et *F. proliferatum*, n'était pas efficace (65% de mortalité des plants) comparativement au Fludioxonil dont le pourcentage de plants morts n'a pas dépassé 20% et ce après une durée de traitement de cinq semaines. Cependant, l'utilisation du produit de synthèse Benzothiadiazol pour lutter contre la fusariose des racines et du collet de la tomate a engendré des résultats encourageants. En effet, les plants de tomate traités par ce produit se montrent résistants à *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*; cette résistance se traduit par la formation d'une barrière en callose au niveau des sites de pénétration du pathogène dont l'évolution reste alors localisée au niveau de l'épiderme et le cortex des racines (1).

2. Activité inhibitrice des fongicides biologiques vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

2.1. Effets des fongicides biologiques sur la croissance mycélienne du pathogène

Comme pour les produits de synthèse, l'évaluation de l'efficacité des produits biologiques (Tableau 2) repose sur le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance

Tableau 4
Réduction de l'incidence de la fusariose des racines et du collet de la tomate sous l'action de deux fongicides de synthèse 30 jours après l'inoculation de quatre cultivars de tomate

	Réduction de l'incidence de la maladie (%) ^x			
	Cv. Riogrande ^y	Cv. Elko ^y	Cv. Maria ^y	Cv. Roxane ^y
Hymexazol ^z	73,68	72,22	76,19	80
Benomyl ^z	26,31	22,22	33,33	25

^xLa réduction de l'incidence de la maladie (%) est calculée comme décrit dans matériel et méthodes et est utilisée pour évaluer l'effet du fongicide testé sur développement du *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* pour les quatre cultivars de tomate.

^yLes valeurs représentent la moyenne de 10 plantes par traitement élémentaire.

^zL'hymexazol a été ajouté par irrigation juste après la transplantation des plantules; le benomyl a été additionné directement au substrat (Perlite inoculée) juste avant la transplantation.

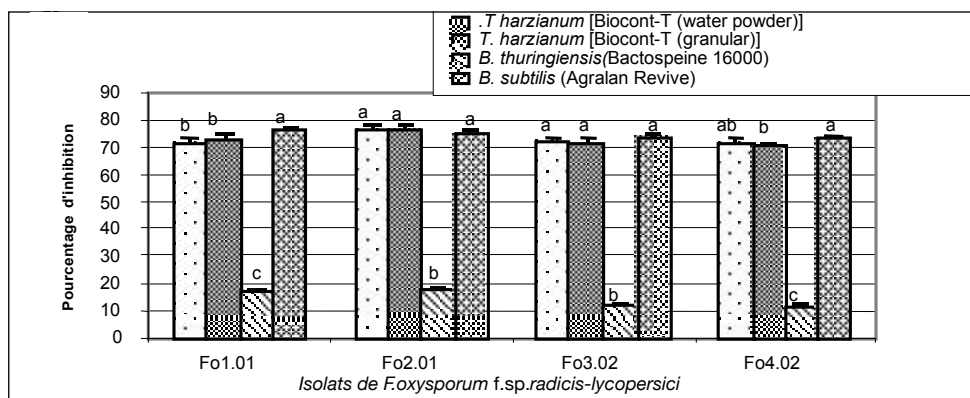


Figure 2: Inhibition de la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici* sous l'action des produits biologiques après 6 jours d'incubation à 25 °C. Les valeurs sont la moyenne de 5 répétitions et l'expérience a été répétée 2 fois. Les moyennes suivies de la même lettre pour chacun des isolats testés ne sont pas significativement différentes ($p \leq 0,05$ selon le test SNK).

mycélienne et la notation de toute altération au niveau du mycélium de *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici* moyennant des observations microscopiques.

La mesure du pourcentage d'inhibition pour les quatre produits testés a révélé que ce dernier est plus important avec l'Agralan Revive à base de *B. subtilis*, et ce pour les quatre isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici* testés dépassant ainsi 76% pour l'isolat Fo1.01 (Figure 2). Les deux produits à base de *T. harzianum* (Biocont-T) ont entraîné aussi une inhibition importante de la croissance mycélienne dépassant 70% pour les 4 isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici* et surtout pour Fo2.01 dont l'inhibition est de l'ordre de 76%. Cette valeur n'a pas dépassé 20% dans le cas du Bactospeine 16000 à base de *B. thuringiensis*; cela s'explique en partie par le fait que ce produit est beaucoup plus utilisé pour ses propriétés insecticides que fongicides.

Toutefois, appliqué en traitement de tubercules, le *B. thuringiensis* s'est montré efficace contre les *Fusarium* responsables de la pourriture sèche de la pomme de terre en réduisant de 50% l'incidence de la maladie *in vivo* (6).

Des observations microscopiques, réalisées pour chaque produit testé contre *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici*, ont montré que, malgré un pourcentage d'inhibition faible, le *B. thuringiensis* a causé une modification morphologique du mycélium du *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici*. En effet, ce dernier est devenu plus filiforme avec présence d'une lyse souvent importante de son contenu cytoplasmique.

Pour les produits à base de *T. harzianum* et de *B. subtilis*, ces modifications se traduisent également par une forte lyse et par une transformation en cordons du mycélium de *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici*. Des aspects similaires ont été entraînés par ces mêmes produits biologiques sur

les *Fusarium* responsables des pourritures sèches sur pomme de terre (6).

2.2. Effets des fongicides biologiques sur l'incidence de la maladie

Les résultats obtenus, en testant les produits biologiques, sont de loin plus encourageants que ceux notés avec les

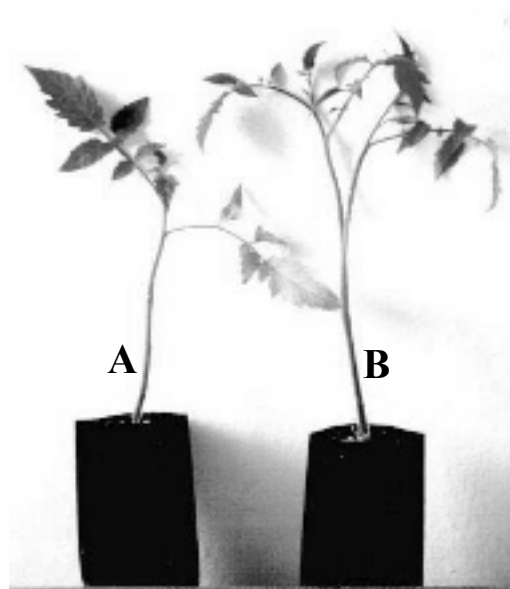


Figure 3: Comparaison entre un plant témoin non inoculé et non traité (A) et un plant inoculé par *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici* et traité avec le produit à base de *T. harzianum* (B) [Biocont-T (water powder)] (B).

Tableau 5

Réduction de l'incidence de la fusariose des racines et du collet de la tomate sous l'action de trois produits biologiques 30 jours après l'inoculation de quatre cultivars de tomate

	Réduction de l'incidence de la maladie (%) ^x			
	Cv. Riogrande ^y	Cv. Elko ^y	Cv. Maria ^y	Cv. Roxane ^y
<i>T. harzianum</i> [Biocont-T (water powder)] ^z	84,21	94,44	90,47	95
<i>T. harzianum</i> [Biocont-T (granular)] ^z	94,73	83,33	90,47	90
<i>Bacillus subtilis</i> (Agralan Revive) ^z	94,73	94,44	95,23	95

^xLa réduction de l'incidence de la maladie (%) est calculée comme ce qui a été décrit dans matériel et méthodes et est utilisée pour évaluer l'effet du fongicide testé sur développement du *F. oxysporum* f. sp. *radialis-lycopersici* pour les quatre cultivars de tomate.

^yLes valeurs représentent la moyenne de 10 plantes par traitement élémentaire.

^zLes deux produits à base de *T. harzianum* [Biocont-T (water powder) et Biocont-T (granular)] ont été additionnés directement au substrat (Perlite inoculée) juste avant la transplantation; l'Agralan Revive à base *B. subtilis* a été ajouté par irrigation juste après la transplantation des plantules.

produits de synthèse. En effet, pour les trois produits testés, la réduction de l'incidence de la maladie a dépassé 94% pour les quatre cultivars de tomate et elle était supérieure à 95% dans le cas des plants du cultivar Maria traités par le *B. subtilis* (Agralan Revive) (Tableau 5).

La comparaison des plants traités avec les produits à base de *T. harzianum* (Biocont-T) ou à base de *B. subtilis* (Agralan Revive), par rapport à celles des plantes témoins non inoculées et non traitées n'a révélé aucune différence. Mieux encore, les plants traités par ces produits ont eu une croissance végétative plus importante (Figure 3). Ces résultats montrent ainsi l'efficacité des produits biologiques à base de *T. harzianum* ou à base de *B. subtilis* qui ont pu arrêter et même éliminer la maladie.

L'amélioration de la croissance végétative des plantes sous l'action du *Trichoderma* spp. a été observée par Windham *et al.* (25) qui ont montré que l'addition de *T. harzianum* et de *T. koningii* à un sol préalablement autoclavé peut augmenter le pourcentage de germination des semences de la tomate et du tabac si l'on le compare au témoin, et que l'application de ces deux espèces de *Trichoderma* au substrat de culture peut améliorer le poids sec des racines et de la partie aérienne de ces deux espèces. Ces résultats rejoignent ceux trouvés par Yedidia *et al.* (27) qui ont rapporté que l'application de *T. harzianum* à des plants de melon a entraîné une résistance chez ces derniers comparativement aux plants non traités par le *Trichoderma*. Cela s'explique par une activation du système de défense de la plante, une augmentation de l'activité des chitinases et des peroxidases et un accroissement de l'activité enzymatique dans les feuilles induisant ainsi une résistance systémique chez ces plants. Dans le même sens, Liu *et al.* (16) ont montré que l'application de deux bactéries du sol (*Pseudomonas putida* et *Serratia marcescens*), pour lutter contre le flétrissement fusarien du melon dont l'agent responsable est *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, a engendré une croissance végétative plus importante chez les plants de melon traités par ces bactéries. Ces résultats se rapprochent de ceux trouvés par Fuchs *et al.* (8) qui ont montré que l'application d'une souche non pathogène de *Fusarium oxysporum* (FO47) a permis de réduire l'effet de la fusariose vasculaire de la tomate, causée par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ce qui se traduit par une augmentation de l'activité de β -1, 3 glucanase et β -1,4 glucosidase chez les plants inoculés par FO47. Il en est de même avec Larkin et Fravel (15) qui ont montré que l'utilisation des souches non pathogènes de *F. oxysporum* contre la fusariose vasculaire de la tomate a réduit l'attaque de ce dernier de plus de 50% pour l'isolat CS-20.

Rose *et al.* (21) ont montré aussi que l'utilisation d'un produit biologique à base de *T. harzianum*, connu sous le nom commercial «Root Shield Drench», dans la lutte contre le flétrissement fusarien du melon causé par *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, a réduit significativement l'incidence de cette maladie comparativement au témoin inoculé et non traité. Aussi, en utilisant ce même produit biologique pour la lutte contre la flétrissure fusarienne de la tomate causée par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Larkin et Fravel (14) ont montré que ce produit a réduit l'incidence de cette maladie de 62% et ce, quand il était incorporé au substrat de culture à la dose 0,2%. Ces résultats rejoignent ceux de Datnoff *et al.* (7) qui ont aussi montré que l'utilisation du produit biologique à base de *T. harzianum*, connu sous le nom commercial F-Stop, a permis une réduction significative de l'incidence de la fusariose des racines et du collet de la tomate, causée par *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. En effet, avec ce produit, l'incidence de la maladie n'a été que de 32%. Toutefois, l'application de ce produit n'a pas d'effet significatif sur le rendement ainsi que sur le calibre des fruits.

L'effet bénéfique du *T. harzianum* a été remarqué aussi par

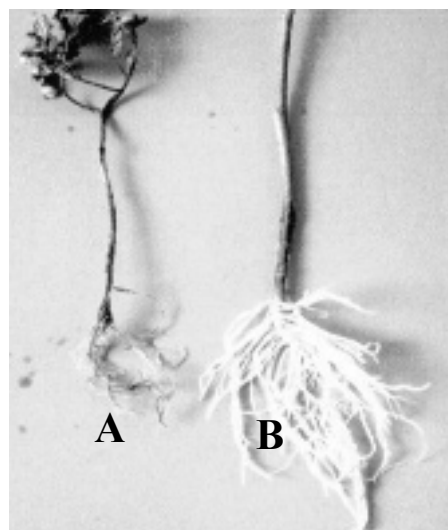


Figure 4: Comparaison entre le système racinaire d'un plant inoculé et non traité (A) et le système racinaire d'un plant inoculé par *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* et traité par l'Agralan Revive à base *Bacillus subtilis* (B).

Hjeljord *et al.* (11) qui ont montré que l'application des conidies quiescentes de cet antagoniste sur les fleurs de fraisier a entraîné une réduction des attaques de *Botrytis cinerea* de plus de 85% à une température de 24 °C (10).

La comparaison du système racinaire des plants traités par le produit à base de *B. subtilis* (Agralan Revive) à celui des plants témoins inoculés, montre une nette différence entre les deux (Figure 4). En effet, pour les plants traités avec ce produit, le système racinaire se développe normalement et aucun brunissement ou pourriture ne sont observés.

Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par Benhamou *et al.* (2) qui avaient traité des plants de melon par une souche non pathogène de *F. oxysporum* (FO47). En effet, son application sur ces plants a induit une résistance chez ces derniers contre le *Pythium ultimum*. Cette résistance se traduit par un développement normal de la plante présentant un système racinaire vigoureux en le comparant au témoin non traité. Dans ce même sens, Kilian *et al.* (13) ont montré que le traitement du sol par une solution de 0,2 g de FZB24 *Bacillus subtilis*, juste après le semis et une répétition de ce même traitement quatre semaines après, entraîne l'augmentation de 5% du poids sec des racines de choux rave et une augmentation de 12% du rendement total à la récolte.

Conclusion

Durant la campagne 2000-2001 une grave maladie sur tomate, dont l'agent causal est le *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, a été signalée à l'exploitation «Cinquième saison» située à Hammet Gabès dans le sud tunisien. Vu les dégâts causés par cette maladie (pertes de 90% dans certaines serres), des moyens de lutte à base des fongicides de synthèse et d'autres biologiques ont été testés à deux niveaux: *in vitro* et *in vivo*.

Cette étude a révélé que parmi les fongicides de synthèse testés, seules l'hymexazol et le benomyl se sont avérés efficaces *in vitro*, en effet avec le 1^{er} produit, le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne était de 80%; de même, avec le benomyl ce pourcentage est important et il est supérieur à 75%.

Avec les produits biologiques, et mis à part le Bactospeine 16000 à base de *B. thuringiensis* qui a engendré le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne le plus

faible, les autres produits que ce soit à base de *T. harzianum* (Biocont-T) ou à base de *B. subtilis* (Agralan Revive), ont été efficaces induisant ainsi un pourcentage d'inhibition dépassant 75%.

Les essais de lutte *in vivo* ont permis de prouver l'efficacité des produits biologiques du fait qu'avec ces derniers la réduction de l'incidence de la maladie a dépassé 94% et elle était supérieure à 95% avec l'Agralan Revive à base de *B. subtilis*.

En testant les produits de synthèse, les essais ont montré que seulement l'hymexazol est efficace du fait qu'avec

ce produit la réduction de l'incidence de la maladie est importante (elle a atteint 80%) et il peut être employé en stratégie de lutte contre ce pathogène.

Cependant, pour être plus affirmatif, il serait plus intéressant de tester ces produits sous serre et en plein champ afin de voir leur potentiel pour une utilisation en stratégie de lutte contre ce pathogène. De plus, il est plus avantageux d'utiliser les produits biologiques et d'éviter ceux de synthèse qui poseront des problèmes d'accoutumance en cas d'utilisations répétées et dont l'efficacité curative à terme est relativement faible.

Références bibliographiques

1. Benhamou N. & Belanger R., 1998, Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant physiology*, 118, 1203-1212.
2. Benhamou N., Garand Ch. & Goulet A., 2002, Ability of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 to induce resistance against *Pythium ultimum* infection in cucumber. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4044-4060.
3. Benhamou N., Rey P., Cherif M., Hockenhul J. & Tirilly Y., 1997, Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology*, 87, 108-121.
4. Chen W.Q. & Swart W.J., 2001, Genetic variation among *Fusarium oxysporum* associated with root of *Amaranthus hybridus* in South Africa. *Plant Disease*, 85, 1076-1080.
5. Daami-Remadi M. & El Mahjoub M., 1997, Fusariose de la pomme de terre en Tunisie: tests d'activité de quatre fongicides vis-à-vis des souches locales de *Fusarium*. *Annales de l'INRAT*, 70, 3-19.
6. Daami-Remadi M., 2001, Lutte biologique contre les *Fusarium* spp. agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem, 72 p.
7. Datnoff L.E., Nemeš S. & Pernešny K., 1995, Biological control of *Fusarium crown* root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological control*, 5, 427-431.
8. Fuchs J.-G., Moenne-Loccoz Y. & Défago G., 1997, Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Plant Disease*, 81, 492-496.
9. Hajlaoui M.R., Hamza N., Gargouri S. & Guermech A., 2001, Apparition en Tunisie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, agent de la pourriture des racines et du collet de la tomate. *OEPP/EPPO Bulletin*, 31, 505-507.
10. Hibar K., 2002, La fusariose du collet et des racines de la tomate: pathogénicité et moyens de lutte. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem, 54 p.
11. Hjeljord G.L., Stensvand A. & Tronsmo A., 2001, Antagonism of nutrient-activated conidia of *Trichoderma harzianum* (atroviride) P1 against *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 91, 1172-1179.
12. Hmouni A., Hajlaoui M.R. & Mlaiki A., 1996, Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bulletin*, 26, 697-705.
13. Kilian M., Steiner U., Krebs H., Junge G., Schmiedeknecht G. & Hain R., 2000, FZB24 *Bacillus subtilis*-mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, 1, 72-93.
14. Larkin R.P. & Fravel D.R., 1998, Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease*, 82, 1022-1028.
15. Larkin R.P. & Fravel D.R., 1999, Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of *Fusarium* wilt of Tomato by non-pathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology*, 89, 1152-1161.
16. Liu L., Kloepper J.W. & Tuzun S., 1995, Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rizobacteria. *Phytopathology*, 85, 695-698.
17. Mclean K.S. & Lawrence G.W., 1994, *In vitro* suppression of *Fusarium solani*, the causal agent of sudden death syndrome of soybean (Abstr.). *Phytopathology*, 84, 1115.
18. Nelson P.E., Toussoun T.A. & Marasas W.F.O., 1983, "*Fusarium* species. An illustrated manual for identification" The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
19. Ozbay N. & Newman S.E., 2004, *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal*, 3, 9-18.
20. Reid T.C., Hausbeck M.K. & Kizilkaya K., 2002, Use of fungicides and biological controls in the suppression of *Fusarium* crown and root rot of asparagus under greenhouse and growth chamber conditions. *Plant Disease*, 86, 493-498.
21. Rose S., Parker M. & Punja Z.K., 2003, Efficacy of biological and chemical treatments for control of *Fusarium* root and stem rot on greenhouse cucumber. *Plant Disease*, 87, 1462-1470.
22. Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L. & Liu X., 2004, Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop Protection*, 23, 243-247.
23. Triki M.A., Priou S. & El Mahjoub M., 1996, Lutte chimique et biologique contre *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *Fusarium roseum* var. *sambucinum* et *Phytophthora erythroseptica*, agents des pourritures des tubercules de pomme de terre. *Annales de l'INRAT*, 69, 185-196.
24. Vakalounakis D.J. & Fragkiadakis G.A., 1999, Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. *Phytopathology*, 89, 161-168.
25. Windham M.T., Elad Y. & Baker R., 1986, A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76, 518-521.
26. Woo S.L., Zoina A., Del Sorbo G., Lorito M., Nanni B., Scala F. & Noveiello C., 1996, Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCGs, RFLPs, and RAPD. *Phytopathology*, 86, 966-972.
27. Yedidia I., Benhamou N. & Chet I., 1999, Induction of defence responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 1061-1070.

K. Hibar, Tunisien, Ingénieur national en Horticulture (ESH de Chott-Mariem), DEA en Protection des Plantes et Environnement option pathologie végétale, Thèse de doctorat en cours (4^{ème} année) sur la fusariose de la tomate.

Mejda Daami-Remadi, Tunisienne, Ingénieur en Horticulture (ESH de Chott-Mariem), Ingénieur spécialisée en Protection des Végétaux, option Mycologie, DEA en Protection des Plantes et Environnement option pathologie végétale, Thèse de doctorat en cours (4^{ème} année, thèse déposée) sur la fusariose de la pomme de terre, Attachée de Recherches agronomiques à l'Institut National Agronomique de Tunisie.

M. El Mahjoub, Tunisien, Doctorat d'Etat en Sciences biologiques, Doctorat de 3^{ème} cycle en Biologie végétale, Diplôme de l'ORSTOM en Phytopathologie, DEA en Ecologie végétale, Professeur de Phytopathologie, Directeur de l'Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage, Chott Mariem, Tunisie.