



## Effet du compost et de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate

Mouria Btissam, Ouazzani-Touhami Amina et Douira Allal

Laboratoire de Botanique, de Biotechnologie et de Protection des Plantes, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, B.P 133, Kénitra, Maroc.

Auteurs correspondants emails : [mouriab@gmail.com](mailto:mouriab@gmail.com) . E-mail LBBPP : [douiraallal@hotmail.com](mailto:douiraallal@hotmail.com) ; [labobotanique@gmail.com](mailto:labobotanique@gmail.com) ; Tél : +212615657330 ; +212671904142.

Original submitted in on 17<sup>th</sup> June 2013 Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 31<sup>st</sup> October 2013.

### RESUME

**Objectifs** : L'utilisation des moyens de lutte biologique contre les agents phytopathogènes a connu un essor considérable durant les deux dernières décades. L'objectif du présent travail est d'étudier l'effet d'un compost de déchets urbains solides, de ses extraits aqueux et de diverses souches de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate causée par *Verticillium dahliae*.

**Matériel et méthodes** : Des plantules de tomates inoculées par des souches de *T. harzianum*, traitées avec le compost ou encore avec l'extrait de compost sont inoculées avec l'isolat P3 de *V. Dahliae*.

**Résultats** : Nos résultats ont montré que l'amendement du sol avec le compost à un taux de 20% a assuré la meilleure suppression de la verticilliose avec 92,38% de réduction de l'indice de rabougrissement (IR) et 92,41% de réduction de l'indice d'altération foliaire (IAF). Suivi par la fertigation des plantes par les extraits de compost ou leur inoculation par la souche Tcomp de *T. harzianum*, isolée à partir du compost, qui ont induit des pourcentages similaires de réduction de l'IR et de l'IAF. Alors que les deux autres souches de *T. harzianum* ont induit des pourcentages de réduction qui n'ont pas dépassé 81% et 75% pour l'IR et l'IAF, respectivement. La suppression de la verticilliose semble due à la stimulation de la croissance végétale des plantes et aussi à l'inhibition de la pénétration et de la migration du pathogène à travers les tissus vasculaires de la plante. En effet, le traitement des plantes avec le compost, l'extrait ou encore leur inoculation avec la souche tcomp a permis de confiner le pathogène au niveau des racines de 50 à 60% des plantes, alors que les autres traitements ont permis son ascension jusqu'à l'hypocotyle de 70% des plantes inoculées. Les plantes témoins inoculées par le pathogène l'ont hébergé jusqu'à l'épicotyle de 100% des plantes.

**Conclusion et application de la recherche** : le compost étudié constitue un bon amendement en tant que biopesticide contre la verticilliose de la tomate. Cette aptitude suppressive est liée, en partie, à sa population de *T. harzianum* mais aussi à des facteurs chimiques.

**Mots clés** : compost, extrait, *Trichoderma harzianum*, *Verticillium dahliae*, verticilliose, tomate.

### Abstract

#### Effect of compost and *Trichoderma harzianum* on *Verticillium* wilt of greenhouse tomato crop

**Objectives**: the use of biocontrol means against plant pathogens has grown considerably in two past decades. This work aim to study the effect of municipal solid waste compost, its aqueous extracts and different strains of *Trichoderma harzianum* on the suppression of *Verticillium* wilt of tomato caused by *Verticillium dahliae*.

**Material and methods:** tomato seedlings inoculated with strains of *T. harzianum*, treated with compost or even with compost extract were inoculated with *V. dahliae* isolate P3.

**The results:** the results showed that soil amendment with compost at a rate of 20% provided the best control of *Verticillium* wilt with a 92.38 % reduction of stunting indice (IR) and 92.41% reduction in the foliar damage indice (IAF). Followed by fertigation of plants with compost extracts or its inoculation with Tcomp strain of *T. harzianum* isolated from compost, which induced a similar percentage of reduction of IR and IAF. While the other two strains of *T. harzianum* induced percentages of reduction which did not exceed 81% and 75% for IR and IAF, respectively. *Verticillium* wilt suppression is due to the stimulation of plant growth and also to inhibiting the penetration and migration of the pathogen through the vascular tissues of plants. Indeed, treatment of plants with compost or extract or even their inoculation with strain tcomp allowed to confine the pathogen at the root of 50% to 60% of plants, while the other treatments have allowed her ascent until the hypocotyl of 70% of inoculated plants. Control plants hosted the pathogen into the epicotyls of 100% of plants.

**Conclusion and application of research:** the compost used constitutes a good amendment as biopesticide against tomato *Verticillium* wilt. This suppressive ability is related in part to its population of *T. harzianum* but also to chemical factors.

**Key words:** compost, extract, *Trichoderma harzianum*, *Verticillium dahliae*, *Verticillium* wilt, tomato.

## INTRODUCTION

Le sol et les substrats de culture qui ont une aptitude naturelle à réduire l'incidence des maladies des plantes sont dits "suppressifs". Cette suppression est assurée soit par la réduction de la croissance et de la survie saprophytique du pathogène soit par la réduction de l'expression de la maladie, soit par les deux mécanismes (Cotxarrera et al., 2002). Cependant, la majorité des sols ne sont pas suppressifs et le contrôle des maladies est basé principalement sur la lutte chimique (Tian et al., 2002), quoique l'intérêt porté à l'usage de moyens de lutte biologique ait augmenté considérablement durant ces deux dernières décennies avec l'augmentation du souci vers une agriculture durable (Małolepsza, 2006). Le compost est un produit hygiénique, de composition stable, riche en substances humiques, issu d'une conversion biochimique par biodégradation aérobie de la matière organique (Soudi, 2005). Il existe différents types de compost selon la méthode de compostage : à l'air libre ou dans une enceinte close, avec ou sans aération, aération passive ou active, avec ou sans utilisation de vers et aussi selon la matière organique d'origine : déchets verts, ménagers, litières de bois. Le fumier est aussi un produit issu du compostage des déjections d'animaux plus précisément. Le compost présente des effets hautement suppressifs sur les maladies causées par les pathogènes telluriques comme *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*

et *Rhizoctonia* aussi bien sous serre qu'en plein champ (Schönfeld et al., 2003). Tous les composts, s'ils sont préparés et appliqués convenablement peuvent supprimer les phytopathogènes telluriques des plantes. Néanmoins, tous les composts ne possèdent pas la même capacité d'inhiber efficacement les agents phytopathogènes. La variabilité observée entre les effets de différents composts est assurément le plus gros écueil à leur utilisation à large échelle (Berner et al., 2004). L'aptitude suppressive des composts aux maladies des plantes a été attribuée à la composition chimique des composts, à leur disponibilité en éléments nutritifs et à leur composition microbienne due aussi bien à l'apport de microorganismes qu'à la stimulation de ceux du sol (Pérez-Piqueres et al., 2006). La lutte biologique par les microorganismes antagonistes contre la verticilliose est difficile à réaliser (Martin et Bull, 2002) Parce qu'il est difficile de réaliser une lutte biologique en appliquant un antagoniste dans le sol ou le substrat de culture sans lui fournir les éléments nutritifs pour sa multiplication et le maintien de son pouvoir antagoniste. Les résultats les plus publiés ont été obtenus avec les représentants du genre *Trichoderma* (D'ercole et al., 2000 ; Hanson, 2000 ; Regragui et Lahlou, 2005). Des antagonistes spécifiques de la rhizosphère, bactériens et fongiques, peuvent induire la résistance systémique

chez les plantes (De Meyer *et al.*, 1998 ; Yedia *et al.*, 2003 ; Harman *et al.*, 2004) et assurer le contrôle des maladies telluriques (Raupach et Kloepper, 1998 ; Pieterse *et al.*, 2003). Ainsi, L'objectif de ce travail

## MATERIEL ET METHODES

**Agent pathogène :** L'isolat P3 de *Verticillium dahliae* utilisé a été isolé à partir d'une tige de tomate atteinte de verticilliose dans la région de Dar Bouazza (Douira et Lahlou, 1989) et prouvé comme très agressif à l'égard de la tomate. Cet isolat produit des conidies plus ou moins allongées et des microsclérotés en grande quantité. Les cultures de l'isolat P3 sont maintenues sur le milieu PSA (pomme de terre: 200 g; saccharose: 20 g; Agar-agar: 15 g; eau distillée: 1000 ml) à 25°C et à l'obscurité pendant 14 jours. Des implants mycéliens sont prélevés sur une culture de *V. dahliae* sur milieu PSA et introduits dans un tube à essai contenant de l'eau distillée stérile. Après agitation mécanique, 2 ml de la suspension conidienne sont étalés à la surface des boîtes de Petri contenant le milieu PSA afin d'obtenir des cultures polysporales. Après 5 jours d'incubation à 25°C et à l'obscurité, des suspensions conidiennes sont préparées par lavage des cultures par l'eau distillée stérile et filtration à travers quatre couches de gaze stériles. La concentration est ajustée à 10<sup>6</sup> conidies/ml à l'aide de l'eau distillée stérile.

**Matériel végétal :** Des semences de tomate appartenant à la variété Campbell 33 sont désinfectées superficiellement à l'hypochlorite de sodium dilué à 1% pendant 10 minutes, rincées abondamment à l'eau distillée stérile, séchées et mises à prégermer dans des plateaux alvéolés à 77 trous remplis de tourbe noire.

Les plateaux sont couverts d'un film plastique de 20 microns d'épaisseur pendant deux jours. La plantation s'est effectuée lorsque les plantules ont atteint 2 vraies feuilles bien étalées (Woo *et al.*, 1996) dans des pots de 17 cm × 14 cm en polyéthylène perforés à la base après avoir procédé aux différents traitements.

**Antagonistes :** Trois souches de *T. harzianum*, Tcomp isolée à partir du compost, Tctom isolée à partir de feuilles de tomate et TH<sub>1</sub> appartenant à la mycothèque du LBBPP et retenues après sélection sur la base de leur potentiel de stimulation et de pouvoir antagoniste (Mouria *et al.*, 2007) ont été testées vis-à-vis de *V. dahliae*. Ces souches sont repiquées sur milieu PDA et incubées à l'obscurité à 28°C pendant dix jours. Les suspensions sporales sont obtenues en raclant la surface des cultures immergées d'eau distillée stérile et les concentrations sont ajustées à 10<sup>6</sup> conidies/ml à l'aide d'un hématimètre en ajoutant l'eau distillée stérile.

est d'étudier l'effet d'un compost de déchets urbains solides, de ses extraits aqueux et de diverses souches de *T. harzianum* contre la verticilliose de la tomate due à *V. dahliae*.

**Inoculation par *V. dahliae* et par les souches de *T. harzianum* :** Les racines des plantules de tomate ayant atteint le stade de plantation sont trempées avec la tourbe qui les entoure pendant 15 minutes dans les suspensions sporales des trois souches de *T. harzianum* TH<sub>1</sub>, Tctom et Tcomp, puis retournées dans leurs alvéoles, laissées pendant 48 heures, puis leurs racines sont débarrassées de la tourbe avant de les inoculer par les suspensions sporales de *V. dahliae* P3 pendant 15 minutes. Trois types de témoins sont utilisés, le premier est constitué par des plantes trempées dans de l'eau distillée stérile, le second par les plantes inoculées par l'isolat P3, et le troisième par les plantes traitées par chacune des souches de *Trichoderma harzianum* seule. Les plantules sont ensuite repiquées dans le sol de la forêt Maamora et les pots sont placés à la serre pendant quatre semaines.

**Inoculation par *V. dahliae* et traitement par le compost et l'extrait de compost :** Les racines des plantules de tomate ayant atteint le stade de plantation sont débarrassées de la tourbe avant de les inoculer par la suspension conidienne de l'isolat P3 de *V. dahliae* pendant 15 minutes. Elles sont cultivées dans le sol de la forêt Mamora et traitées de deux manières :

☞ Amendement du sol par le compost : les plantules inoculées, sont repiquées dans un substrat constitué par un mélange constitué de sol et d'un compost produit par un Centre de Co-Traitement de déchets urbains solides dans la région de Missour à un pourcentage de 20% retenu par Mouria *et al.* (2010).

☞ Fertigation du sol par l'extrait de compost : les plantules inoculées, sont repiquées dans le sol et arrosées tous les deux jours avec un extrait de 2 jours préparé à partir du même compost à une concentration de 10%. Cet extrait a permis une suppression des symptômes foliaires des plantes non inoculées par des pathogènes (Mouria *et al.*, 2010).

Les pots ont été placés à la serre pendant quatre semaines. Des plantes trempées dans de l'eau distillée stérile sont repiquées soit dans le sol et arrosées tous les deux jours avec l'extrait de compost à 10%, soit dans le substrat constitué par un mélange de sol et de compost à 20% représentant les témoins.

**Notation des résultats**

La taille des pousses de toutes les plantes est mesurée à la fin des essais, soit quatre semaines après l'inoculation par le pathogène, et l'Indice de rabougrissement (IR), correspondant à la réduction de la taille de l'épicotyle chez les plantes inoculées par rapport aux plantes témoins, est calculé selon la relation suivante (Douira et Lahlou, 1989) :

$$IR = \frac{M - X}{M} \times 100 \text{ Où :}$$

IR : Indice de rabougrissement ;

X : Taille de l'épicotyle des plantes inoculées ;

M : Taille moyenne des plantes témoins pour chaque substrat.

Le degré d'altération des feuilles est noté selon le barème de Douira et Lahlou (1989) ci-dessous :

Note	Apparence des feuilles
0	Feuille d'apparence saine
1	Feuille cotylédonaire : flétrissement ou jaunissement
2	Feuille cotylédonaire : chute
3	Feuille vraie : flétrissement ou jaunissement
4	Feuille vraie : nécrose
5	Feuille vraie : chute

Les notes rapportées au nombre de feuilles constituent l'Indice d'Altération Foliaire (IAF), calculé selon la formule ci-dessous. Un indice moyen est ensuite calculé pour chaque lot de plantes.

$$IAF = \frac{[\sum (i \times x_i)]}{6 \times NtF}$$

Où :

IAF : Indice d'altération foliaire ;

i : Notes d'apparence des feuilles 0 – 5 ;

x<sub>i</sub> : Nombre de feuilles présentant la note i ;

NtF : Nombre total de feuilles.

La présence du champignon *V. dahliae* est recherchée dans les racines, l'hypocotyle et l'épicotyle de toutes les plantes des deux essais. Ces parties sont désinfectées par trempage dans l'alcool 90°, rincées plusieurs fois avec l'eau distillée stérile, séchées sur un papier filtre et découpées en fragments de 2 mm de

longueur. Les trois sections sont manipulées séparément pour éviter leur contamination.

Pour chaque plante, trois à six fragments par section sont enfoncés verticalement dans des boîtes de pétri stériles contenant l'eau gélosée (20 g d'agar / l d'eau distillée) stérilisée à 120°C. Après une semaine d'incubation à 25°C et à l'obscurité, la notation des résultats consiste en la présence (+) ou l'absence (-) du mycélium, ou éventuellement des microsclérotés, de *V. dahliae* autour des fragments végétaux. Le pourcentage de colonisation des différentes parties végétales est calculé selon la relation suivante :

$$\% C_i = \frac{N_i}{N_t} \times 100 \text{ Où :}$$

i : Section végétale donnée : Racine, Hypocotyle, Epicotyle ;

% C<sub>i</sub> : Pourcentage de colonisation de i ;

N<sub>i</sub> : Nombre de plantes ayant hébergé le pathogène dans la section i ;

N<sub>t</sub> : Nombre total de plantes.

Des feuilles récoltées sur les plantes de tomate des différents traitements dans les essais de lutte biologique sont découpées en fragments de 1 cm<sup>2</sup>. Ceux-ci sont déposés dans des chambres humides stériles et incubées à l'obscurité et à 28°C afin de vérifier la présence des *Trichoderma*. Dix fragments sont déposés par boîte et chaque traitement a fait l'objet de cinq répétitions. Après 7 jours d'incubation, les conidiophores de *T. harzianum* sont recherchés sur les fragments de feuilles à l'aide d'une loupe binoculaire.

**Dispositif expérimental et analyse statistique** : Les pots sont arrangés en blocs aléatoires sous une serre plastique. Chaque variante a fait l'objet de cinq répétitions et l'expérience a été répétée deux fois. Le premier essai a été réalisé pendant les mois de Mai – Juin et le deuxième en Septembre – Octobre. Les analyses de variance sont effectuées après transformation des pourcentages en Arcsin√P et les moyennes sont comparées par le test de Newman & Keuls au seuil de 5%.

## RESULTATS

Le tableau 1 rapporte les tailles moyennes des plantes de tomate inoculées ou non par l'isolat P3 de *V. dahliae* en fonction des différents traitements et les indices de

rabougrissement moyens consécutifs, ainsi que les indices d'altération foliaires moyens calculés en se basant sur le barème de Douira et Lahlou (1989). Les

plantes cultivées dans le sol et n'ayant subi aucun traitement par les antagonistes ont montré les indices de rabougrissement (IR) et les indices d'altération foliaire (IAF) moyens les plus élevés, qui sont de 55,64 et 0,458 respectivement. Ces indices ont diminué significativement

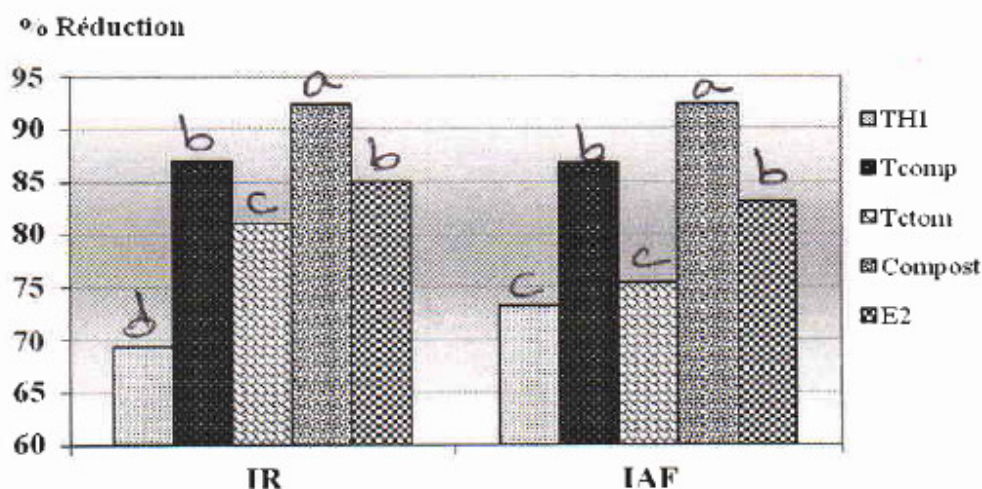
suite à l'application des différents traitements, en particulier l'amendement de compost dans le sol qui a favorisé la croissance des plantes de tomate (Figure 1A) et a réduit, par conséquent, ces deux indices.



**Figure 1 :** (A) : Les Symptômes observés sur les plantes de tomate de la variété Campbell 33 inoculées par *V. dahliae* P3 et ayant subi des traitements par le compost ou l'extrait de compost ou encore l'inoculation par *T. harzianum*. (B) Comparaison entre une plante témoin non inoculée par P3 et cultivée dans le sol et ; une plante inoculée par P3 et cultivée dans le sol amendé de compost (i) ; une plante coinoculée par P3 et par Tcomp (ii) et une plante coinoculée par P3 et par Tctom (iii).

Les plantes de tomate cultivées dans le sol et traitées par l'extrait de compost ou par la souche Tcomp de *T. harzianum* ont montré des IR similaires mais plus élevés que celui des plantes cultivées dans le sol amendé de compost. Les plantes traitées par les souches TH<sub>1</sub> et

Tctom ont montré des IR plus élevés, de l'ordre de 10,567 et 16,984 respectivement, tout en restant significativement très inférieurs à celui des plants témoins. En effet, ces souches ont réduit l'indice de rabougrissement de plus de 69% (Figure 2).



**Figure 2 :** Pourcentages de réduction des indices de rabougrissement et d'altération foliaire des plantes de tomate de la variété Campbell 33 par rapport aux plantes témoins en fonction des différents traitements. Chaque valeur est la moyenne de deux expériences indépendantes, avec cinq répétitions par expérience. Pour un indice donné, deux résultats affectés de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de Newman & Keuls.

Les indices d'altération foliaire ont montré le même classement pour les différents traitements, sauf que pour les plantes inoculées par les deux souches Tctom ou TH<sub>1</sub>, les IAF obtenus ont été statistiquement similaires. Ainsi, le IAF le plus élevé a été noté chez les plantes témoins, qui est de l'ordre de 0,4589, alors que le IAF le plus faible a été observé chez les plantes cultivées dans

le sol amendé de compost avec un indice de 0,0347. Il est à signaler que, à l'exception de la souche Tctom, tous les traitements ont permis une croissance des plantes inoculées par le pathogène plus élevée que celle des plantes témoins non inoculées et n'ayant subi aucun traitement, particulièrement l'amendement par le compost (Tableau 1 et Figures 2B, C et D).

**Tableau 1 :** Tailles et Indices de rabougrissement et d'altération foliaire moyens des plantes de tomate de la variété Campbell 33 en fonction des différents traitements.

	Taille (cm)		IR (%)	IAF
	Essais P3 (+)	Témoin P3 (-)		
Sol	11,37 f	25,64 f	55,647 a	0,4589 a
Tctom	23,16 e	27,9 e	16,984 b	0,1225 b
Tcomp	31,48 c	33,92 c	7,188 d	0,0605 c
TH <sub>1</sub>	28,26 d	31,58 d	10,567 c	0,1145 b
Compost	47,36 a	49,46 a	4,241 e	0,0347 d
E2	32,89 b	35,87 b	8,301 d	0,0774 c

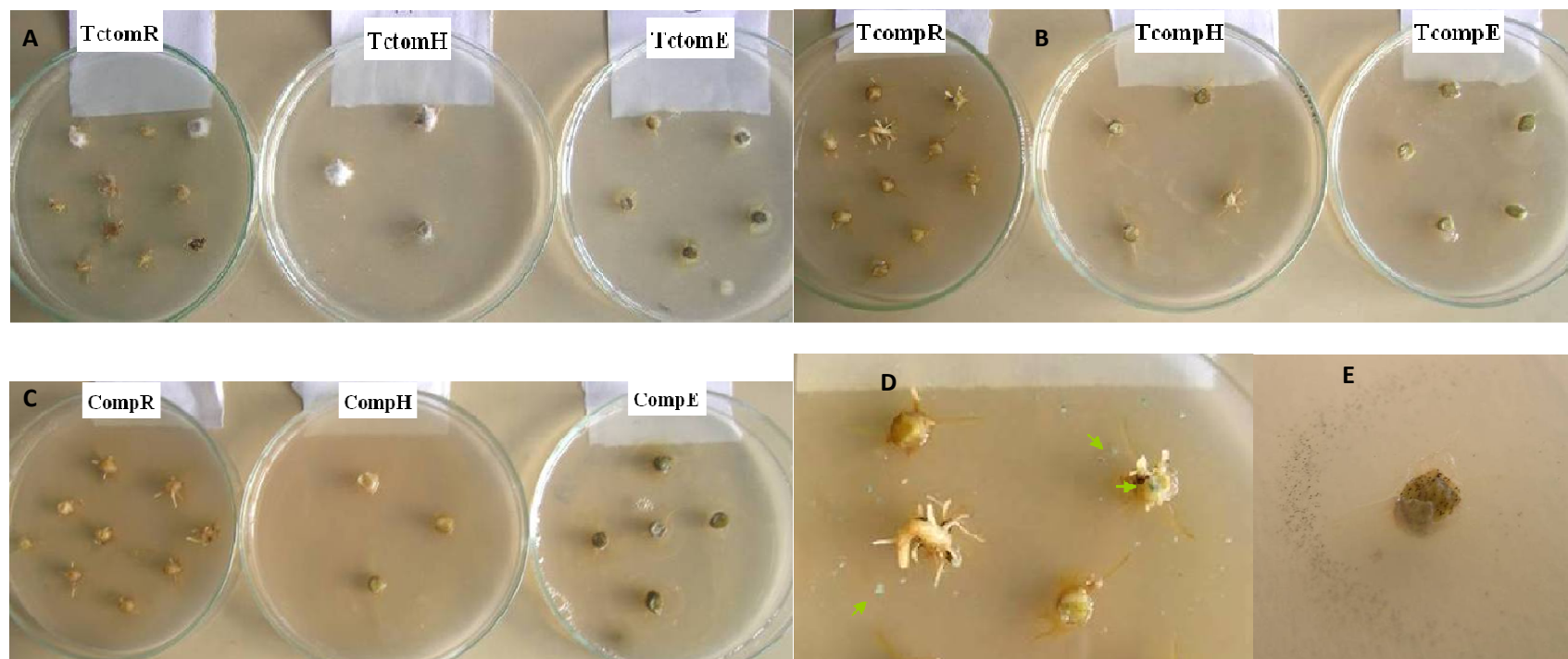
Chaque valeur est la moyenne de deux expériences indépendantes, avec cinq répétitions par expérience. Deux valeurs de la même colonne suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5% selon le test de Newman & Keuls.

**Tableau 2 :** Aptitudes parasitaires de la souche P3 de *V. dahliae* sur les plantes de tomate et fréquence de réisolement de ce pathogène en fonction des différents traitements.

		Aptitude parasitaire de P3										Fréquence de réisolement		
		1 <sup>er</sup> essai					2 <sup>ème</sup> essai					R	H	E
		PI 1	PI 2	PI 3	PI 4	PI 5	PI 1	PI 2	PI 3	PI 4	PI 5			
Sol	P3 (+)	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	RHE +	100	100	100
	P3 (-)	R +	R +	R +	-	-	R +	-	R +	-	-	50	0	0
Tctom	P3 (+)	RH +	RH +	RH +	RH +	R +	RH +	RH +	RH +	-	R +	90	70	0
	P3 (-)	R +	-	R +	-	-	-	-	-	-	-	20	0	0
Tcomp	P3 (+)	R +	R +	R +	-	-	R +	-	-	R +	-	50	0	0
	P3 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
TH <sub>1</sub>	P3 (+)	RH +	R +	RH +	RH +	RH +	RH +	RH +	RH +	R +	R +	100	70	0
	P3 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
Compost	P3 (+)	R +	R +	-	-	-	R +	R +	R +	-	-	50	0	0
	P3 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0
E2	P3 (+)	R +	R +	R +	-	-	R +	R +	R +	-	-	60	0	0
	P3 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0	0

R : Racine ; H : Hypocotyle ; E : Epicotyle

PI : Plante ; (+) : Présence de P3 ; (-) : Absence de P3



**Figure 3:** Organes végétaux des plantes de tomate inoculées par l'isolat P3 de *V. dahliae* et ; co-inoculées avec les souches Tctom (A) ou Tcomp (B) ou encore traitées avec le compost (C). Propagules de *T. harzianum* autour des racines des plantes co-inoculées par *V. dahliae* P3 et *T. harzianum* Tcomp (D). Microsclérotos de *V. dahliae* P3 autour des fragments d'hypocotyle des plantes n'ayant subi aucun traitement (E). R : Racine ; H : Hypocotyle ; E : Epicotyle ; → Tcomp.



Il ressort de la figure 3 que le compost est le traitement le plus efficace, à en juger par la plus forte réduction de IR et de IAF (plus de 92 %), suivi de l'inoculation par la souche Tcomp et le traitement par l'extrait de compost qui ont engendré des pourcentages de réduction de IR et de IAF similaires statistiquement, entre 83,13 et 87,08%. Alors que les souches Tctom et TH<sub>1</sub> ont induit des pourcentages de réduction, relativement faibles de ces deux indices, tout en restant supérieurs à 69,47 %. Le réisolement de *V. dahliae* à partir des différentes sections des plantes de tomate est variable en fonction des traitements (Tableau 2). La fréquence de réisolement de P3 à partir des plantes de tomate était à peu près similaire dans les deux essais. Toutes les plantes inoculées par *V. dahliae* et cultivées dans le sol ont observé une migration du pathogène jusqu'à l'épicotyle, alors que 50% des plantes non inoculées par le pathogène ont hébergé un mycélium de *Verticillium* sp. dans leurs racines. 50% des plantes inoculées par Tcomp ou cultivées dans le sol amendé de compost ont observé

une pénétration du pathogène au niveau des racines et aucune plante n'a permis son ascension au-delà des racines. 60% des plantes arrosées avec l'extrait de compost ont permis au pathogène de pénétrer leurs racines. Pour ces trois traitements, aucun mycélium de *V. dahliae* n'a été détecté dans les différentes parties végétales des plantes non inoculées par le pathogène. L'inoculation par les souches TH<sub>1</sub> et Tctom a empêché le pathogène de migrer jusqu'à l'épicotyle de 70% des plantes et jusqu'à l'hypocotyle de 20 à 30% des plantes (Figure 3). Ces deux souches ont également inhibé la pénétration de *Verticillium* contenu dans le sol à travers les racines de 80% et 100% des plantes inoculées par Tctom et TH<sub>1</sub> respectivement. Et à l'exception de la souche Tctom, aucun traitement n'a permis la pénétration de *Verticillium* contenu dans le sol et les racines des plantes de tomate témoins. D'un autre côté, les souches de *T. harzianum* n'ont pas pu être réisolées, dans les chambres humides, à partir des feuilles des plantes de tomate inoculées par ces souches par voie racinaire.

## DISCUSSION ET CONCLUSION

*V. dahliae* Kleb. est un pathogène fongique parmi les plus redoutables de la culture de tomate au Maroc. Il cause des pertes importantes de rendements (Besri et Afailal, 1993) et se conserve dans le sol pendant plusieurs années. Les essais de lutte biologique contre *V. dahliae* ont d'abord confirmé l'aptitude pathogène de l'isolat P3 sur les plantes de tomate rapportée par Douira et Lahlou (1989). Cet isolat a entraîné, chez les plantes témoins, cultivées dans le sol et n'ayant subi aucun traitement, des indices de rabougrissement qui se rapprochent de ceux rapportés par Douira et Lahlou (1989) pour le même isolat et qui fluctuent entre 30 et 70%. Les symptômes induits par l'isolat P3 de *V. dahliae* sur les plantes de tomate incluent un rabougrissement intense, une chlorose, une sénescence précoce des feuilles, un flétrissement et même une défoliation. En effet, ce champignon cause des pertes importantes de rendement allant jusqu'à 50% (Powelson, 1979 ; Davis et Sorensen, 1986). Cette perte de rendement a été attribuée à une diminution de la photosynthèse et de l'apport de nutriments requis pour la croissance des plantes, suite à une diminution de la surface foliaire (Bowden et Rouse, 1991a, b), mais aussi à une diminution des échanges gazeux par unité de surface foliaire (Gent et al., 1999). Il a été montré par plusieurs auteurs que les amendements organiques du sol, peuvent supprimer les maladies causées par les pathogènes telluriques tels que *Pythium* spp. (Ben-Yephet et Nelson, 1999 ; Pascual et al., 2000), *Phytophthora* spp. (Hoitink et Boehm, 1999 ; Widmer et

al., 1998), *Fusarium* spp. (Pharand et al., 2002 ; Reuveni et al., 2002 ; Kavroulakis et al., 2005 ; Borrero et al., 2006), *Sclerotinia* sp. (Boulter et al., 2002), *Rhizoctonia* spp. (Tuitert et al., 1998 ; Krause et al., 2001 ; Diab et al., 2003) et *V. dahliae* (Gent et al., 1999 ; Shetty et al., 2000 ; Tenuta et al., 2002 ; Bailey et Lazarovitz, 2003). Cette suppression a été souvent attribuée à la microflore du compost et un nombre de bactéries et de champignons, réputés pour leur antagonisme à l'égard des phytopathogènes telluriques, ont été isolés à partir de différents composts (Phae et al., 1990 ; Cotxarrera et al., 2002 ; Carisse et al., 2003 ; Mouria et al., 2007, 2013a). Ces microorganismes contribuent à la suppression des maladies via quatre mécanismes principaux : compétition, antibiose, parasitisme / prédation et induction de la résistance systémique (Hoitink et Boehm, 1999). La compétition : les antagonistes entrent en compétition avec les pathogènes pour les nutriments et l'espace. Dans la rhizosphère, ce mécanisme est appelé compétence dans la rhizosphère. Le parasitisme / prédation : Ce mécanisme a lieu par interaction entre l'antagoniste et le pathogène, enrroulement, pénétration et vacuolisation. Les mycoparasites nécrotrophes comme *Trichoderma* tuent leurs hôtes avant ou juste après invasion. L'antibiose : par production d'antibiotiques et d'enzymes qui dégradent les parois cellulaires des pathogènes. Induction de la résistance systémique : chez les plantes en stimulant leur mécanismes de défenses et en les rendant plus résistantes aux attaques

des pathogènes. Cet effet peut être induit par des facteurs biotiques ou abiotiques. Toutefois, la suppression de la verticilliose de la pomme de terre, suite à l'amendement du sol par le compost a été attribuée à l'augmentation de l'échange gazeux des plantes par unité de surface foliaire (Gent *et al.*, 1999).

Tenuta *et al.* (2002) ont montré que les acides gras volatils contenus dans le fumier de porc liquide étaient responsables de sa toxicité sur les microsclérotés de *V. dahliae* dans un champ de pomme de terre (Conn et Lazarovits, 1999, 2000). Des résultats similaires ont été obtenus sur des plantes de tomate cultivées dans un substrat constitué de compost qui ont présenté une amélioration de la capacité défensive contre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* par rapport aux plantes cultivées dans la tourbe. Bien que la viabilité du pathogène et sa croissance dans les substrats de culture n'ont pas été affectées, celui-ci n'a pas été capable de pénétrer et de coloniser les tissus racinaires des plantes (Kavroulakis *et al.*, 2005). Des observations histologiques et cytologiques d'échantillons de racines de tomate inoculés par ce pathogène ont révélé que l'effet bénéfique du compost sur la réduction des symptômes est associé à une augmentation de la résistance des plantes à la colonisation par le pathogène due essentiellement à la formation de barrières physiques aux sites de pénétration du champignon, traduite par des dépôts de parois riches en callose (Pharand *et al.*, 2002). L'aptitude du sol amendé de compost à supprimer la verticilliose a été comparée à celle des souches antagonistes de *T. harzianum* et de l'extrait aqueux de ce même compost afin d'optimiser la protection des plantes de tomate contre cette maladie. Les résultats obtenus confirment que l'amendement du sol par le compost, à un taux de 20% est le traitement qui a assuré la meilleure protection des plantes de tomate contre *V. dahliae*, que ce soit en terme de réduction du rabougrissement et des altérations foliaires ou bien en terme d'inhibition de la pénétration du pathogène dans les organes des plantes. Le même résultat a été obtenu par Hibar *et al.* (2006), en utilisant une tourbe traitée avec un extrait de compost, ils ont obtenu des plantes qui ne présentent aucun signe de flétrissement dû à l'inoculation par *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* et qui présentent un système racinaire vigoureux et une meilleure croissance végétative. Certains d'entre eux ont obtenu, par contre, des résultats positifs contre *F. oxysporum* en additionnant des composts de différentes sources (Cotxarrera *et al.*, 2002 ; Kavroulakis *et al.*, 2005 ; Raviv *et al.*, 2005). Ils ont attribué cet effet, au moins partiellement, à l'activité antagoniste de la microflore du compost dont la

composition et les profils physiologiques diffèrent de ceux de la microflore de la tourbe (Tuitert *et al.*, 1998 ; Borrero *et al.*, 2006). La fertigation des plantes de tomate par l'extrait aqueux de compost ou leur inoculation avec la souche Tcomp de *T. harzianum* isolée à partir de ce même compost ont assuré une réduction de la maladie à un niveau proche de celui assuré par l'amendement de compost. Ce qui montre que l'activité de *Trichoderma* dans le compost joue un rôle majeur dans la suppression de la maladie. L'intérêt à l'utilisation des extraits de compost en agriculture et en horticulture a augmenté rapidement durant la dernière décennie (Al Mughrabi, 2007). Cet intérêt lui a été accordé surtout grâce à son efficacité à contrôler les maladies foliaires des plantes. Cependant, son utilisation comme fertigation du sol contre les pathogènes telluriques a reçu très peu d'attention. Dans ce contexte, l'irrigation des plantes de concombre par un extrait de compost a réduit l'effet de la fonte des semis causée par *Pythium ultimum* (Scheuerell et Mahaffee, 2004). Copeman *et al.* (2000) ont isolé à partir d'extraits des composts plusieurs espèces antagonistes de champignons et de bactéries, auxquelles ils ont attribué l'effet suppressif des extraits. Toutefois, des résultats similaires ont été obtenus par un extrait de compost stérilisé sur des plantes de tomate contre *F. oxysporum*. Les mécanismes suggérés pour l'activité des extraits de compost sur les maladies des plantes sont donc l'induction de la résistance par stimulation de l'activité  $\beta$ -1,3-glucanase et l'inhibition directe des pathogènes (Weltzien, 1992 ; Zhang *et al.*, 1998 ; Kavroulakis *et al.*, 2005). De même, il a été montré que *T. harzianum* inhibe la germination et la croissance mycélienne de *V. dahliae* et réduit l'intensité de sa sclérogenèse, apparemment par antibiose (Campbell, 1989 ; Regragui et Lahlou, 2005). Dans cette étude, la souche Tcomp a été la plus efficace sur la suppression de la verticilliose. Les deux autres souches de *T. harzianum*, bien que efficaces, induisant une réduction de la maladie de plus de 69%, demeurent les traitements les moins favorables. A l'exception de la souche Tctom, les plantes de tomate inoculées par *V. dahliae* et par *T. harzianum*, ou ayant subi les différents traitements ont montré une croissance végétative supérieure à celle des plantes témoins cultivées dans le sol et non inoculées par le pathogène. Des résultats similaires ont été obtenus par Hibar *et al.* (2005) en comparant des plantes de tomate inoculées par *F. oxysporum* et par *T. harzianum* avec d'autres non inoculées ni par le pathogène ni par l'antagoniste. Par ailleurs, la détection de propagules de *Verticillium* sp. dans les racines de certaines plantes témoins indique que le sol de Mamora est infesté par une

espèce de *Verticillium* non identifiée, mais dont l'agressivité est peu importante puisque ce champignon n'a pas pu migrer au-delà des racines des plantes témoins. Ce sol amendé de compost, arrosé avec l'extrait

de compost ou encore inoculé par la souche Tcomp de *T. harzianum*, notamment dans les essais en pots, a complètement inhibé la pénétration de *Verticillium* sp. dans les racines des plantes de tomate.

## CONCLUSION

Il est intéressant de noter que les agents de lutte biologique utilisés dans cette partie ont efficacement contrôlé la verticilliose de la tomate à des degrés variant selon les souches de *T. harzianum* étant donné que chaque souche agit selon un ou plusieurs modes d'action déterminés. La présence de plusieurs antagonistes ayant différents modes d'action dans ce compost (Mouria et al., 2013a) justifie son aptitude suppressive élevée qui est liée à sa microflore totale, suppression dite "

générale" et à *T. harzianum* en particulier dite suppression "spécifique" (Hoitink et al., 2001; Veeken et al., 2005). Cependant, des facteurs chimiques non identifiés du compost sont aussi responsables de cette activité suppressive (Mouria et al., 2013b). On peut donc conclure que les effets de ce compost sur la verticilliose de la tomate incluent des facteurs biologiques et chimiques.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Al-Mughrabi K. I. 2007. Suppression of *Phytophthora infestans* in potatoes by foliar application of food nutrients and compost tea. *Aus. J. Basic Appl. Sci.*, 1 (4), 785-792.
- Bailey K. L. et Lazarovits G. 2003. Suppressing soil-borne diseases with residue management and organic amendments. *Soil Till. Res.*, 72, 169–80.
- Ben-Yephet Y. et Nelson E. B. 1999. Differential suppression of damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*, *P. irregulare*, and *P. myriotylum* in composts at different temperatures. *Plant Dis.*, 83, 356–60.
- Berner A., Bieri M., Galli U., Fuchs J. G., Mayer J. et Schleiss K. 2004. Influence des composts et des digestats sur l'environnement, la fertilité des sols et la santé des plantes. *Surv. de la bibliographie actuelle*. 17 pp.
- Besri M. et Afaïlal A. 1993. Effect of soil and water salt content on the development of *Verticillium* wilt on resistant tomato cultivars. *Proc. 6<sup>th</sup> Intl. Cong. Plant Pathol.* July 28–August 6, Montréal, Canada.
- Borrero C., Ordovás J., Trillas M. I. et Avilés M. 2006. Tomato Fusarium wilt suppressiveness. The relationship between the organic plant growth media and their microbial communities as characterised by Biolog®. *Soil Biol. Biochem.* 38: 1631-1637.
- Boulter-Bitzer J. I., Boland G. J. et Trevors J. T. 2002. Evaluation of composts for suppression of dollar spot (*Sclerotinia homoeocarpa*) of turfgrass. *Plant Dis.*, 86, 405–410.
- Bowden R. L. et Rouse D. I. 1991 a. Effects of *Verticillium dahliae* on gas exchange of potato. *Phytopathol.*, 81, 293-301.
- Bowden R. L. et Rouse D. I. 1991 b. Chronology of gas exchange effects and growth effects of infection by *Verticillium dahliae* in potato. *Phytopathol.*, 81, 301-310.
- Campbell R. 1989. *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge University Press, 218 pp.
- Carisse O., Bernier J. et Benhamou N. 2003. Selection of biological agents from composts for control of damping-off of cucumber caused by *Pythium ultimum*. *Can. J. Plant Pathol.*, 25, 258–267.
- Conn K. L. et Lazarovits G. 1999. Impact of animal manures on *Verticillium* wilt, potato scab, and soil microbial populations. *Can. J. Plant Pathol.*, 21, 81-92.
- Conn K. L. et Lazarovits G. 2000. Soil factors influencing the efficacy of liquid swine manure added to soil to kill *Verticillium dahliae*. *Can. J. Plant Pathol.*, 22, 400-406.
- Copeman R. J., Holl F. B. et Chanway C. P. 2000. Evaluation of plant growth responses to IBR solid & liquid compost formulations. *Inter. Bio Recov. Corp.*, 23 pp.
- Cotxarrera L., Trillas-Gay M. L., Steinberg C. et Alabouvette C. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress Fusarium wilt of tomato. *Soil Biol. Biochem.*, 34, 467-476.
- D'ercole N., Nipoti P., Di Pillo L. et Gavina F. 2000. *In vitro* and *in vivo* tests of *Trichoderma* spp. as a biocontrol agent of *Verticillium dahliae* Kleb. in eggplants. Pages: 260-263 *In: Tjamos E. C. et*

- al. (eds.) *Advances in Verticillium research and disease management*. APS Press.
- Davis J. R. et Sorensen L. H. 1986. Influence of soil solarization at moderate temperatures on potato genotypes with differing resistance to *Verticillium dahliae*. *Phytopathol.*, 76, 1021-1026.
- De Meyer G., Bigirimana J., Elad Y. et Höfte M. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 104, 279-286.
- Diab H. G., Hu S. et Benson D. M. 2003. Suppression of *Rhizoctonia solani* on impatiens by enhanced microbial activity in composted swine waste-amended potting mixes. *Phytopathol.*, 93, 1115-1123.
- Douira A. et Lahlou H. 1989. Variabilité de la spécificité parasitaire chez *Verticillium albo-atrum* Reinke et Berthold, forme à microsclérotes. *Crypt., Mycol.*, 10 (1), 19-32.
- Gent M. P. N., LaMondia J. A., Ferrandino F. J., Elmer W. H. et Stoner K. A. 1999. The influence of compost amendment or straw mulch on the reduction of gas exchange in potato by *Verticillium dahliae* and *Pratylenchus penetrans*. *Plant Dis.*, 83, 371-376.
- Hanson L. E. 2000. Reduction of *Verticillium* wilt symptoms in cotton following seed treatment with *Trichoderma virens*. *J. Cotton Sci.*, 4, 224-231.
- Harman G. E., Petzoldt R., Comis A. et Chen J. 2004. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of this interaction on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathol.*, 94, 147-153.
- Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H. et El Mahjoub M. 2005. Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radici-lycopersici*. *Biotechnol., Agron., Soc. Environ.*, 9 (3), 163-171.
- Hibar K., Daami-Remadi M., Jabnoun-Khiareddine H., El Akram Znaïdi I. et El Mahjoub M. 2006. Effet des extraits de compost sur la croissance mycélienne et l'agressivité du *Fusarium oxysporum* f. sp. *radici-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10 (2), 101-108.
- Hoitink H. A. J. et Boehm M. J. 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 37, 427-446.
- Hoitink H. A. J., Krause M. S., Han D. Y. 2001. Spectrum and mechanisms of plant disease control with composts. *In: Stoffela P. J. and Kahn B. A. (eds.), Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems*. Lewis, Pages: 263-273. Boca Raton, FL.
- Kavroulakis N., Ehalotis C., Ntougias S., Zervakis G. I. et Papadopoulou K. K. 2005. Local and systemic resistance against fungal pathogens of tomato plants elicited by a compost derived from agricultural residues. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 66, 163-174.
- Krause M. S., Madden L. V. et Hoitink H. A. J. 2001. Effect of potting mix microbial carrying capacity on biological control of *Rhizoctonia* damping-off of radish and *Rhizoctonia* crown and root rot of poinsettia. *Phytopathol.*, 91, 1116-1123.
- Malolepsza U. 2006. Induction of disease resistance by acibenzolar-S-methyl and *o*-hydroxyethylorutin against *Botrytis cinerea* in tomato plants. *Crop Prot.*, 25, 956-962.
- Martin F. N. et Bull C. T. 2002. Biological approaches for control of root pathogens of strawberry. *Phytopathol.*, 92, 1356-1362.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A. et Douira A. 2007. Effet de diverses souches de *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprot.*, 88 (3), 103-110.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A. et Douira A. 2010. Valorisation agronomique de compost et de ses extraits sur culture de la tomate. *Rev. Ivoir. Sci. Technol.*, 16 :165-190.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A. et Douira A. 2013a. Isolement et identification de la mycoflore d'un compost de déchets urbains solides. *Rev. Nat. & Tech.*, 9: 13-28.
- Mouria B., Ouazzani-Touhami A., Mouria A. et Douira A. 2013b. Mise en évidence d'une variation intra spécifique chez *Botrytis cinerea* et lutte biologique *in vitro* par l'extrait de compost. *J. Appl. Biosci.*, 64 : 4797 - 4812.
- Pascual J. A., Hernandez T., Garcia C., De Leij F. A. A. M. et Lynch J. M. 2000. Long-term suppression of *Pythium ultimum* in arid soils using fresh and composted municipal wastes. *Biol. Fertil. Soils*, 30, 478-484.
- Pérez-Piqueres A., Edel-Hermann V., Alabouvette C. et Steinberg C. 2006. Response of soil microbial

- communities to compost amendments. Soil Biol. Biochem., 38, 460–470.
- Phae C. G., Sasaki M., Shoda M. et Kubota H. 1990. Characteristics of *Bacillus subtilis* isolated from composts suppressing phytopathogenic microorganism. Soil Sci. Plant Nutr., 36, 575-586.
- Pharand B., Carisse O. et Benhamou N. 2002. Cytological aspects of compost-mediated induced resistance against *Fusarium* crown and root rot in tomato. Phytopathol., 92, 424-438.
- Pieterse C. M. J., Van Pelt J. A., Verhagen B. W. M., Ton J., Van Wees S. C. M., Leon-Kloosterziel K. M. et Van Loon L. C. 2003. Induced systemic resistance by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Symbiosis, 35, 39-54.
- Powelson M. L. 1979. *Verticillium* wilt of potatoes in irrigated sands: the Oregon experience. Oreg. Agric. Exp. Stn. Tech. Pap., 5106.
- Raupach G. S. et Kloepper J. W. 1998. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. Phytopathol., 88, 1158-1164.
- Raviv M., Oka Y., Katan J., Hadar Y., Yogev A., Medina S., Krasnovsky A. et Ziadna H. 2005. High-nitrogen compost as a medium for organic container-grown crops. Biores. Technol., 96, 419–427.
- Regragui A. et Lahlou H. 2005. Effect of salinity on *in vitro* *Trichoderma harzianum* antagonism against *Verticillium dahliae*. Pakis. J. Biol. Sci., 8 (6), 872-876.
- Reuveni R., Raviv M., Krasnovsky A., Freiman L., Medina S., Bar A. et Orion D. 2002. Compost induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet basil. Crop Prot., 21 (7), 583-587.
- Schönfeld J., Gelsomino A., van Overbeek L. S., Gorissen A., Smalla K. et van Elsas J. D. 2003. Effect of compost addition and simulated solarisation on the fate of *Ralstonia solanacearum* biovar 2 and indigenous bacteria in soil. FEMS Microbiol. Ecol., 43, 63–74.
- Shetty K. G., Subbarao K. V., Huisman O. C. et Hubbard J. C. 2000. Mechanism of broccoli-mediated *Verticillium* wilt reduction in cauliflower. Phytopathol., 90, 305-310.
- Scheuerell S. J. et Mahaffee W. F. 2004. Compost tea as a container medium drench for suppressing seedling damping-off caused by *Pythium ultimum*. Phytopathol., 94, 1156-1163.
- Soudi B. 2005. Le compostage des déchets de cultures sous serre et du fumier. Transfert de Technologies en Agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, IAV Hassan II. N° 129 / Juin, 6 pp.
- Tenuta M., Conn K. L. et Lazarovits G. 2002. Volatile fatty acids in liquid swine manure can kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathol., 92, 548-552.
- Tian S. P., Fan Q., Xu Y. et Liu H. B. 2002. Biocontrol efficacy of antagonist yeasts to gray mold and blue mold on apples and pears in controlled atmospheres. Plant Dis., 86, 848-853.
- Tuiter G., Szczech M. et Bollen G. J. 1998. Suppression of *Rhizoctonia solani* in potting mixtures amended with compost made from organic household waste. Phytopathol., 88, 764-773.
- Veeken A. H. M., Blok W. J., Curci F., Coenen G. C. M., Termorshuizen A. J. et Hamelers H. V. M. 2005. Improving quality of composted biowaste to enhance disease suppressiveness of compost-amended, peat-based potting mixes. Soil Biol. Biochem., 37, 2131–2140.
- Weltzien H. C. 1992. Biocontrol of foliar fungal diseases with compost extracts. In: Andrews J. H. and Hirano S. S. (eds.) Microbial Ecology of Leaves. Pages: 430-450. New York: Springer-Verlag.
- Widmer T. L., Graham J. H. et Mitchell D. J. 1998. Composted municipal waste reduces infection of citrus seedlings by *Phytophthora nicotianae*. Plant Dis., 82, 683-688.
- Woo S. L., Zoina A., Del Sorbo G., Lorito M., Nanni B., Scala F. et Noveiello C. 1996. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* by pathogenic races, VCGs, RFLPs, and RAPD. Phytopathol., 86, 966-972.
- Yedidia I., Shores M., Kerem Z., Benhamou N., Kapulnik Y. et Chet I. 2003. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T203) and accumulation of phytoalexins. Appl. Environ. Microbiol. 69, 7343-7353.
- Zhang W., Han D. Y., Dick W. A., Davis K. R. et Hoitink H. A. J. 1998. Compost and compost water extract-induced systemic acquired resistance in cucumber and arabidopsis. Phytopathol., 88, 450-455.