



MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDE

MASTER *SCIENCES ET TECHNIQUES*

GESTION ET CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE

Lutte variétale vis-à-vis de la pourriture racinaire des agrumes (*phytophthora spp.*) et vis-à-vis de la verticilliose de l'olivier (*Verticillium dahliae*).

Présenté par : Markou Abdellah
Encadré par : Pr. EL GUILLI Mohamed
Pr. AL FIGUIGUI Jamila

Soutenu Le 25 Juin 2015 devant le jury composé de :

| | | |
|----------------------------|--------------|--------------|
| Pr. AL FIGUIGUI Jamila | FST-Fès | Présidente |
| Pr. EL GUILLI Mohamed | INRA-Kenitra | Encadrant |
| Pr. BENJELLOUN Meryem | FST-Fès | Examinatrice |
| Pr. FATEMI Zine Al Abidine | INRA-Meknès | Examineur |
| Pr. LOUAHLIA Said | FST-Fès | Examineur |
| Pr. EL HARCHLI El Hassan | FST-Fès | Examineur |

Année Universitaire : 2014/2015

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes Parents

A mes Frères et Sœurs

A mes Amis

A tous ceux qui me sont chers.

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier Monsieur **le Doyen** de la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université Sidi Mohamed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques de Fès. Je lui suis infiniment gré m'avoir autorisé de soutenir ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à **Jamila ALFIGUIGUI**, professeure à la Faculté des Sciences et Technique Fès, qui m'a fait l'honneur de diriger ce travail : qu'il me soit permis de lui témoigner ma profonde reconnaissance. Ses encouragements, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, et son aide m'ont été très précieux.

Mes remerciements les plus sincères pour Monsieur **El Ghadraoui Lehzen**, Professeur à la faculté des sciences et le responsable du Master « Gestion et conservation de la biodiversité » qui nous a donné la chance d'effectuer ce master sous sa coordination, ainsi que pour son aide et ses précieux conseil au cours de ces années.

Mes sincères remerciement à notre **équipe pédagogique** pour la recherche des enseignements et des échanges tout au long des modules du Mater, aussi pour leur sympathie et leur encouragement, soutien et conseil pendant tout le déroulement de ce Master.

Le travail présenté dans ce mémoire de master a été effectué au sein du laboratoire de Phytopathologie et qualité post récolte du centre régional de la recherche Agronomique de Kenitra (CRRK) ; les quelques mots écrits ne suffiront pas à remercier **Dr. Mohamed EL GUILLI**, pour son soutien, son encadrement, son expertise, sa confiance pendant la période de mon stage.

Je tiens à mentionner ma gratitude à **Mr.Abdelali SAMADI**, technicien du laboratoire de phytopathologie et qualité post récolte pour son aide et sa contribution à l'amélioration de la qualité de ce travail.

Pareillement, je voudrais exprimer ma reconnaissance aux membres de jury qui ont bien voulu évaluer et juger ce travail.

Mes remerciements, spéciaux vont également à ma familles qui m'a apporté un énorme soutien matériel et morale.

Et en fin, je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travaille.

Ces quelques mots ne traduisent certes pas tout ce que j'ai pu recevoir d'eux mais je souhaite qu'ils trouvent là, l'expression de mon infinie reconnaissance.

Liste des abréviations

| | | |
|------------|---|-----------------------------------|
| °c | : | degré Celsius. |
| Cm | : | centimètre. |
| g | : | gramme. |
| Gr | : | grossissement. |
| h | : | Heure. |
| ha | : | hectare. |
| l | : | litre. |
| mg | : | milligramme. |
| ml | : | millilitre. |
| mm | : | millimètre. |
| MT | : | Millions de tonnes. |
| N° | : | numéro. |
| PDA | : | milieu d'agar dextrosé. |
| T | : | tonne. |
| USA | : | United States. |
| V8 | : | milieu à bas de jus de 8 Légumes. |
| % | : | pourcentage. |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Evolution de la superficie d'oranges par variété entre 2006 et 2013. | 4 |
| Tableau 2 : Classification de <i>V.dahliae</i> | 15 |
| Tableau 3 : Porte-greffes utilisés dans l'essai gommose 6..... | 17 |
| Tableau 4 : Porte-greffes testés dans l'essai gommose USA. | 18 |
| Tableau 5 : Clones d'olivier testés | 22 |
| Tableau 6 : Souches de <i>V. dahliae</i> utilisées | 23 |
| Tableau 7 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur tronc). | 31 |
| Tableau 8 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur baguettes)..... | 32 |
| Tableau 9 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur tronc). | 33 |
| Tableau 10 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur baguettes). | 34 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Répartition géographique des agrumes au Maroc (MAPM, 2013). | 4 |
| Figure 2: <i>P.citophthora</i> . a: la croissance des colonies Après 8 jours de culture sur milieu CMA; b: la croissance des colonies Après 5 jours de culture sur milieu PDA; c: hyphes Coenocytic; d: Les spores de différentes formes et tailles. e: Sporange observé par microscopie optique * 40. Bar = 1 pm; f: chlamydospore observé par microscopie optique * 40, bar = 1 pm (Boudoudou et al 2015). | 6 |
| Figure 3 : <i>P. parasitica</i> . a: la croissance de la colonie, après 8 jours de culture sur milieu CMA; b: la croissance des colonies après 5 jours de culture sur milieu PDA; c: hyphes Coenocytic; d: Les spores de différentes formes et tailles. e: Sporange observé par microscopie optique * 40. Bar = 1 pm f: Chlamydospore observé par microscopie optique * 40. Bar = 1 pm (Boudoudou et al 2015). | 7 |
| Figure 4 : Symptômes de <i>Phytophthora</i> (Graham, 2003)..... | 8 |
| Figure 5: Cycle biologique de <i>Phytophthora parasitica</i> signalé par Mariau, (1999). | 9 |
| Figure 6 : Œil de paon causé par <i>Cycloconium oleaginum</i> (Guide de l'olivier, 2010). | 13 |
| Figure 7: Pyrale du Jasmin (<i>Margaronia Unionalis Hübn</i>) (Guide de l'olivier, 2010). ... | 13 |
| Figure 8: Symptômes de la Verticilliose d'olivier (Hiemstra 2015). | 14 |
| Figure 9 : <i>Verticillium dahliae</i> isolés à partir des racines des plantes inoculées d'olive (A); <i>V.dahliae</i> colonie sur la plaque de PSA(B); microsclérotos de <i>V. dahliae</i> (M.Chliyah et al.2014). | 14 |
| Figure 10 : Cycle de vie de la <i>V.dahliae</i> , hiemstra (1998). | 15 |
| Figure 11 : Souche de <i>PC16</i> mise en culture sur milieu PDA..... | 18 |
| Figure 12: Etapes d'isolement de <i>Phytophthora</i> à partir du sol. | 19 |
| Figure 13: Ré-isolement de <i>phytophthora</i> sur milieu sélectif et sur milieu PDA..... | 20 |
| Figure 14 : Etapes de production des sporanges de <i>P.citrophthora</i> | 21 |

| | |
|--|----|
| Figure 15: Etapes d'inoculation des Troncs par PC16. | 21 |
| Figure 16 : Souches de de <i>V.dahliae</i> cultivées sur milieu PDA | 23 |
| Figure 17 : Etapes d'isolement de <i>V.dahliae</i> à partir des tiges..... | 24 |
| Figure 18 : Symptômes de pourriture sur fruits de citron..... | 26 |
| Figure 19 : Pourriture brune sur fruits de citron. | 26 |
| Figure 20 : Sporanges de <i>PC16</i> vus sous microscope optique (G : 40×) | 27 |
| Figure 21 : Superficies moyennes des lésions effectuées par PC16 sur les onze porte-greffes d'agrumes (mm ²)..... | 28 |
| Figure 22: Superficies moyennes des lésions effectuées par PC16 sur les onze porte-greffes d'agrumes (mm ²)..... | 28 |
| Figure 23 : Superficies moyennes des lésions. | 29 |
| Figure 24: Superficies moyennes des lésions (essai gommosse USA) | 30 |
| Figure 25 : Sévérité de la maladie sur les clones étudiés..... | 35 |
| Figure 26 : Culture de <i>V.dahliae</i> sur milieu PDA | 36 |
| Figure 27: Isolement de <i>V. dahliae</i> sur milieu sélectif (à gauche), et sur milieu SPT (à droite). | 37 |

Résumé

Au Maroc, les maladies à *Phytophthora* sur agrumes et celles causées par *Verticillium dahliae* sur l'olivier sont des problèmes phytopathologiques majeurs pour l'agriculteur.

La présente étude a pour objectif de tester la résistance de onze porte-greffes d'agrumes vis-à-vis de *Phytophthora citrophthora* (PC16) et de sélectionner des clones d'olivier résistants à *Verticillium dahliae*.

Pour les agrumes le test d'inoculation sur les troncs montre, que les porte-greffes **V8** et **V3** sont les plus résistants avec une superficie des lésions de 65,1 et de 105,7 mm² respectivement, alors que les plus sensibles sont **V9** (238,4mm²) et **V11** (205mm²).

Dans l'essai gommose USA, le **V9** (606,555 mm²) et **V6** (500,555 mm²), sont les plus sensibles alors que **V2** (105,667mm²) le **V5** (246,889 mm²) sont les plus résistants.

Le test d'inoculation sur baguettes montre que **V5** (143,5 mm²) et **V1** (139,9 mm²) sont les plus sensibles et le **V2** (63,45) est le plus résistant dans l'essai gommose 6.

Dans l'essai gommose USA, le **V9** (215,833 mm²) est le plus sensible alors que **V2** (105,917 mm²) suivi par **V3** (105,083 mm²) s'avèrent les plus résistants.

Pour l'olivier, la sévérité de la maladie calculée est nulle pendant notre période d'étude sur les clones **O51**, **O32** et **O11** inoculés par toutes les souches de *Verticillium dahliae*. Pour le clone Picholine de lingdoc, la sévérité est nulle avec la souche **V7** et **V54** alors qu'elle est de 2.2% avec la souche **V71**.

Ce travail modeste reste une ébauche pour d'autres recherches futures sur les mêmes couples hôte-agent pathogène.

Mots clés : Agrume, Olivier, Porte-greffe, clone, *Phytophthora*, *Verticillium*.

Sommaire

| | |
|--|------|
| Dédicace..... | i |
| Remerciements..... | ii |
| Liste des abréviations..... | iv |
| Liste des tableaux..... | v |
| Liste des figures | vi |
| Résumé..... | viii |
| Introduction générale | 1 |
| I. Agrumes | 2 |
| 1. Introduction | 2 |
| 2. Taxonomie..... | 2 |
| 3. Importance économique | 2 |
| 3.1. A l'échèle mondiale..... | 2 |
| 3.2. A l'échelle du Maroc | 3 |
| 4. Aire de culture..... | 3 |
| 5. Variétés utilisées au Maroc | 4 |
| 6. Récolte et conservation des agrumes | 4 |
| 7. Problèmes phytosanitaires des agrumes..... | 5 |
| 7.1. <i>Phytophthora</i> des agrumes | 5 |
| 8. Principaux porte-greffes des agrumes | 10 |
| II. Olivier | 12 |
| 1. Taxonomie et Classification..... | 12 |
| 2. Importance économique de secteur oléicole | 12 |
| 3. Principales variétés d'olivier au Maroc..... | 12 |

| | |
|---|----|
| 4. Principales maladies et ravageurs rencontrés sur l'olivier | 13 |
| 5. Verticilliose del'olivier | 14 |
| 5.1. Description de l'agent causal..... | 14 |
| 5.2. Classification | 15 |
| 5.4. Moyens de lutte contre la verticilliose de l'olivier | 16 |
| I. Agrumes | 17 |
| 1. Matériel végétal..... | 17 |
| 2. Matériel fongique | 18 |
| 3) Isolement de <i>Phytophthora</i> | 18 |
| 3.1. Isolement à partir du sol | 19 |
| 3.2. Isolement à partir des fruits | 19 |
| 4. Mise en évidence de la pourriture brune des fruits | 20 |
| 5. Production des sporanges. | 20 |
| 6. Test in vivo (inoculation sur troncs)..... | 21 |
| 7. Test in vitro (inoculation sur baguettes)..... | 22 |
| 8. Evaluation des résultats | 22 |
| II. Verticilliose de l'olivier | 22 |
| 1. Origine des clones d'olivier (Tableau 5)..... | 22 |
| 2. Origine des isolats | 23 |
| 3. Sélection des clones d'olivier résistants..... | 23 |
| 4. Isolement de <i>V. dahliae</i> (Test de confirmation)..... | 24 |
| 4.1) A partir des tiges | 24 |
| 4.2. A partir des racines | 24 |
| 5. Evaluation des résultats | 24 |
| 1. Isolement de <i>Phytophthora</i> | 26 |

| | |
|--|----|
| 2. Pourriture brune | 26 |
| Figure 19 : Pourriture brune sur fruits de citron. | 26 |
| 3. Production des sporanges | 27 |
| 4. Inoculation des troncs (test in vivo) | 27 |
| 4.1. Superficie moyenne des lésions | 27 |
| 5. Résultats d'inoculation sur baguettes (test in vitro)..... | 29 |
| 5.1. Superficie moyenne des lésions..... | 29 |
| II. Verticilliose de l'olivier | 35 |
| 1. Sélection des clones d'olivier résistants..... | 35 |
| 2. Identification et isolement de l'agent pathogène à partir des tiges et racines d'olivier infecté (Test de confirmation)..... | 36 |
| Conclusion et Perspectives | 38 |

Introduction générale

Les maladies du sol sont des contraintes biologiques qui limitent la production de nombreuses cultures. Elles peuvent être causées par des champignons ou des bactéries. Les plus importants appartiennent au genre *Phytophthora*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*. La verticilliose de l'olivier causée par *Verticillium dahliae* Kleb et les maladies à *Phytophthora* des agrumes sont parmi les problèmes phytopathologiques les plus importants dans le monde.

Ces deux agents pathogènes attaquent de nombreuses plantes hôtes et forment des structures de survie telles que les microsclérotés, les chlamydospores ou les oospores qui persistent pendant des années dans le sol. Par conséquent, une lutte contre ces maladies basée sur la rotation des cultures s'avère souvent difficile.

Par ailleurs, la prise de conscience des limites des méthodes de lutte chimique considérées un moment comme susceptibles à elles seules de résoudre les problèmes des maladies des plantes, des méthodes de lutte physique, telle que la stérilisation à la vapeur ou la solarisation qui sont très coûteuses et donc ne sont pas praticables dans l'environnement a incité les chercheurs à s'orienter vers la lutte biologique et la lutte variétale. Dans le cas de notre étude, la sélection des variétés résistantes représente une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes en cause. Cette dernière sert à créer des nouvelles variétés résistantes afin de réduire les dégâts engendrés par les agents pathogènes et donc augmenter le rendement. Ainsi l'objectif de cette étude est de :

- Sélectionner des portes greffes résistants à *Phytophthora citrophthora* Leonian agent de la pourriture des agrumes à travers des tests in vivo et in vitro.
- Sélectionner in vivo des clones d'olivier résistants à *Verticillium dahliae* agent de la verticilliose de l'olivier.

I. Agrumes

1. Introduction

Les agrumes sont originaires du Sud-Est asiatique (De Rocca Serra & Ollitrault, 1992). Cependant La diffusion des agrumes à travers le Monde s'est faite très lentement. Le cédratier a été la première espèce connue en Europe (300 ans av. J.-C. d'après Webber, 1967). Le bigaradier, le citronnier et l'oranger ont été introduits dans le bassin méditerranéen vers la moitié du XII siècle, et le mandarinier au XIXe siècle. Le bassin méditerranéen constitue à présent une importante zone de production pour ces trois dernières espèces.

2. Taxonomie

Les agrumes appartiennent à trois genres botaniques : *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (Anonyme 1998). Le genre *Citrus* renferme la plupart des agrumes cultivés pour leurs fruits ou leurs huiles essentielles. Deux classifications du genre prévalent. Celle de Tanaka (1961) identifie 156 espèces, tandis que celle de Swingle et Reece (1967) n'en distingue que 16 espèces.

Certaines études répartissent ces espèces d'importance économique dans 3 grands groupes en fonction des similarités génétiques. Il s'agit du groupe des orangers et mandariniers, du groupe des pomélos et pamplemoussiers et du groupe des limes et citronniers (Luro *et al*, 2001). D'autres travaux plus récents sur la diversité génétique et la structure des populations des agrumes penchent plutôt en faveur de l'existence de 3 espèces « ancestrales » d'agrumes. Il s'agit du bigaradier (*C. medica*), du pamplemoussier (*C. maxima*) et du mandarinier (*C. reticulata*). Ces espèces seraient à l'origine de nombreuses espèces comptabilisées de nos jours, qui en réalité sont des hybrides issus de croisement entre les premières espèces (Barkley *et al*, 2006).

3. Importance économique

3.1. A l'échelle mondiale

La production mondiale d'agrumes s'élève à 73MT et est constitué pour deux tiers d'oranges. Elle a baissé de 5% en 2012/13 du fait principalement de la chute de la

production des oranges de 9% (1.7 Millions tonnes). En comparaison avec la campagne précédente, cette situation est le résultat de la diminution de la production d'oranges du Brésil, de l'Union européenne et la Turquie respectivement de 19%, 4% et 3%.(MAPM ,2013).

Avec une production de 16.6 millions de tonnes, le Brésil est le premier producteur d'oranges dans le monde. Il assure 32% de la production mondiale, suivie par l'UE (7.6 millions) et la Chine (7 millions de tonnes).(MAPM ,2013)

Le volume total d'importation d'agrumes s'établit à 5,4MT soit 7% de la production mondiale. Avec un volume total d'importation de 1.3 millions de tonnes durant la campagne 2012/13 la Russie reste la première destination des agrumes. Elle représente 23% du marché. La Russie importe principalement des petits fruits (58%).

3.2. A l'échelle du Maroc

➤ Superficie

La superficie totale actuelle des agrumes est de 118 000 ha dont 92 000 Ha de superficie productive. Entre 2007/08 et 2013/14 cette superficie a augmenté de 37 000 Ha soit une superficie moyenne annuelle additionnelle de 5285 Ha/an. (MAPM, 2013).

Par rapport à 2008 on observe une tendance nette vers la plantation des petits fruits. Ainsi, la superficie productive des petits fruits a augmenté de 31%, soit 15 kHa de plus, tandis que celle des oranges a connu une hausse de 24%, soit 6kHa. (MAPM, 2013).

➤ Rendement

Le rendement moyen en (2011/2012) est de l'ordre de 21 tonnes/Ha. Au cours des 15 dernières années, il est passé de 17 à 21 t/ha (4 tonnes). Ceci est le résultat de l'amélioration variétale, du rajeunissement du verger et du passage à l'irrigation localisée (MAPM, 2013).

4. Aire de culture

Les agrumes couvrent présentement une superficie globale de 92 000 ha. Répartie entre cinq grandes régions agrumicoles : la région de Sousse/Massa occupe 40% de la superficie totale agrumicole, suivie par la région du Gharb qui occupe la deuxième du

royaume avec 24%, la région orientale de Moulouya avec 16%, Tadla et Haouz avec 18%.le reste de la superficie soit 2% étant placé dans des régions telles que Khémisat et Taounate (Figure1).

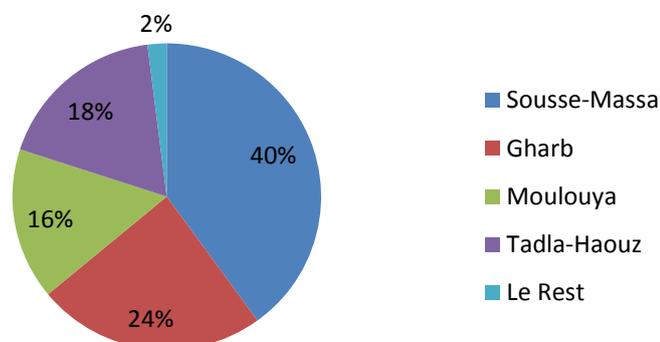


Figure 1 : Répartition géographique des agrumes au Maroc (MAPM, 2013).

5. Variétés utilisées au Maroc

Le matériel végétal est très diversifié, ainsi 89% du verger d'oranger est dominé par le Maroc Late et les Navels et pour les petits fruits 88% du verger est dominé par les Clémentines (Tableau 1). (MAPM, 2013).

Tableau 1 : Evolution de la superficie d'oranges par variété entre 2006 et 2013(MAPM, 2013).

| Variété d'oranges | Sup. (Ha) 2006 | Sup. (Ha) 2013 | % de variation | % de la Sup.2012/13 |
|-------------------|----------------|----------------|----------------|---------------------|
| Maroc Late | 21480 | 23922 | +11% | 50% |
| Navel | 16025 | 19777 | +23% | 38% |
| Sanguines | 2506 | 3250 | +30% | 6% |
| Salustiana | 1226 | 1089 | -11% | 3% |
| Autres | 492 | 4656 | 846% | 3% |
| Total | 41729 | 52693 | 26% | 5% |

6. Récolte et conservation des agrumes

La récolte doit être faite avec beaucoup de soins, les opérations de cueillette pouvant occasionner des lésions et des blessures qui déprécient les fruits et sont des portes ouvertes à des altérations fongiques. (Loudyi et al., 2008). La cueillette doit commencer lorsque les fruits sont secs. Les oranges sont exportés et au préalable, ils doivent subir un certain

nombre de traitements tels que le lavage, désinfection, séchage, enrobage par la cire, calibrage et mise en caisse. (Loudyi et *al.*, 2008). Mis en chambre froide à 3-8°C et 85-90% d'hygrométrie, les oranges peuvent être conservés plusieurs mois (Loudyi et *al.*, 2008).

7. Problèmes phytosanitaires des agrumes

Les maladies les plus importantes qui ont été identifiées sur les *Citrus* marocains sont la cercosporiose provoquée par *Pseudocercospora angolensis* T. Carvalho & O. Mendes, la gommose à *Phytophthora*, les moisissures des fruits (*Penicillium spp LINK.*), les pourridiés à *Armillaria mellea* VAHL, la pourriture grise (*Botrytis cinerea*, PERS), la pourriture noire (*Alternaria citriv* FRIES), l'antracnose des agrumes (*Colletotrichum gloeosporioides* CORDA), le Mal Secco, la pourriture sèche des racines des agrumes (*Fusarium solani*, LINK), la maladie des taches noires (Black spot), (Lebdi, 2010).

7.1. *Phytophthora* des agrumes

Les maladies à *Phytophthora* des agrumes représentent une situation complexe. D'une part, les attaques peuvent porter sur tous les organes: pourriture des racines (entraînant un dessèchement du feuillage), envahissement du tronc et des branches charpentières (symptôme de gommose et formation de chancre), destruction des feuilles et des petits rameaux, parfois des semis, pourriture (brune) des fruits au verger ou après récolte. D'autre part, dans la même région, voire dans un même verger, plusieurs espèces de *Phytophthora* peuvent être responsables de ces dégâts.

Une douzaine d'espèces ont été répertoriées comme pathogènes sur agrumes. *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora nicotianae* Var, *p. parasitica* Dastur et *Phytophthora palmivora* Bult sont les plus répandus. Moins abondants, *Phytophthora citricola* Sawada, *Phytophthora syringne* Kelb, *Phytophthora hibernalis* Carne et *Phytophthora cactorum* Lebert and Cohn, leur sont fréquemment associés (Pellegrin, 1981).

7.1.1. Généralité sur l'agent Pathogène.

➤ Classification

Le genre *Phytophthora* constitue avec les *Pythium* sp. la famille des Pythiacées, ordre de Péronosporales, la classe des Oomycètes.

➤ Biologie

La distribution des différentes espèces de *Phytophthora*, aussi bien dans le temps que dans l'espace, sont en fonction de la température et de l'humidité. Ainsi, *P.parasitica* a un minimum de croissance de 10°C, un optimum de 30-32°C et un maximum de 37°C, tandis que pour *P.citrophthora*, les températures cardinales sont respectivement 5°, 26°, 32°C (vallavieille, 1983). En outre le genre *Phytophthora* affecte particulièrement les sols humides, acides et riches en azote.

➤ Morphologie des *Phytophthora* des agrumes.

P. citrophthora possède un mycélium interne, mais ses fructifications sont externes et se présentent sous forme d'efflorescences blanchâtres, visible surtout par temps humide. Les sporanges sont ovales ou limoniformes, ils mesurent 20 à 60 µ de largeur sur 30 à 90 µ de long, les sporanges donnent des zoospores de 10 à 16 µ de diamètre, ses zoospores sont très mobiles grâce aux deux cils latéraux de 30 à 40 µ de long (Figure 2).

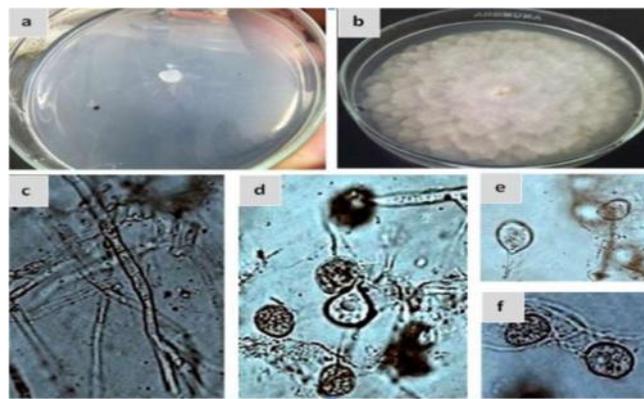


Figure 2: *P.citrophthora*. a: la croissance des colonies Après 8 jours de culture sur milieu CMA; b: la croissance des colonies Après 5 jours de culture sur milieu PDA; c: hyphes Coenocytic; d: Les spores de différentes formes et tailles. e: Sporange observé par microscopie optique * 40. Bar = 1 pm; f: chlamydospore observé par microscopie optique * 40, bar = 1 pm (Boudoudou et al 2015).

P.parasitica a un mycélium hyalin, interne et intracellulaire. La section du mycélium mesure 3 à 9 μm (Jamoussi 1955).

Les sporanges sont portés par des filaments de 100 à 300 μm , ils sont ovödes, hyalins et ont 25 à 30 μm sur 20 à 40 μm environ, d'autre part, on observe des chlamydospores jaunâtre de 20 à 60 μm de diamètre dans les tissus malades (Figure 3).

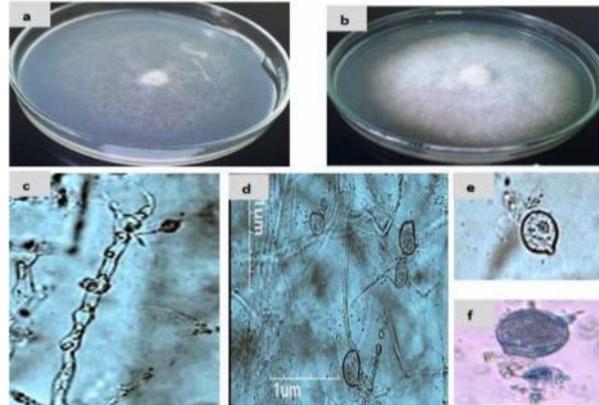


Figure 3 : *P. parasitica*. a: la croissance de la colonie, après 8 jours de culture sur milieu CMA; b: la croissance des colonies après 5 jours de culture sur milieu PDA; c: hyphes Coenocytic; d: Les spores de différentes formes et tailles. e: Sporange observé par microscopie optique * 40. Bar = 1 pm f: Chlamydospore observé par microscopie optique * 40. Bar = 1 pm (Boudoudodou et al 2015).

➤ Gamme d'hôtes

Les différentes espèces de *Phytophthora* ne sont pas spécifiques des agrumes. *P. citrophthora* a été observé également sur différentes Cucurbitacées, notamment sur la pastèque et sur diverses courges du genre *Cucurbita* ainsi que dans les semis de *Pinus* et *Picea*. Parmi les Citrus, *P. citrophthora* préfère le citronnier (Jamoussi, 1955).

P. parasitica semble s'attaquer de préférence à l'oranger, le citronnier et le grape-fruit, parmi les Aurantiacées. (Jamoussi, 1955). On l'a également signalé sur le ricin auquel il donne la pourriture des feuilles, sur le cocotier (maladie des pédoncules des feuilles), sur le cotonnier, le tabac, la tomate, l'ananas, l'hibiscus, le bétel (poivrier grimpant de l'Inde), la rhubarbe, la pervenche malgache, le bananier, solanum, vanillier,

etc ... (Jamoussi, 1955). *P.hibernalis* atteint le citronnier, le mandarinier et l'oranger (Jamoussi, 1955).

➤ **Symptômes de la pourriture racinaire due à *Phytophthora***

Les symptômes de la pourriture des racines varient selon la sensibilité des espèces végétales, la virulence des espèces de *Phytophthora* et les conditions de l'environnement (Graham, 2003). Les symptômes comprennent une réduction de la croissance des pousses, des feuilles petites et jaunes, l'amincissement du collet, la chlorose, le dépérissement des rameaux et des branches et éventuellement une mort de la plante (**Figure 4**) (Graham, 2003).



Figure 4 : Symptômes de *Phytophthora* (Graham, 2003).

➤ Cycle du pathogène (Figure 5).

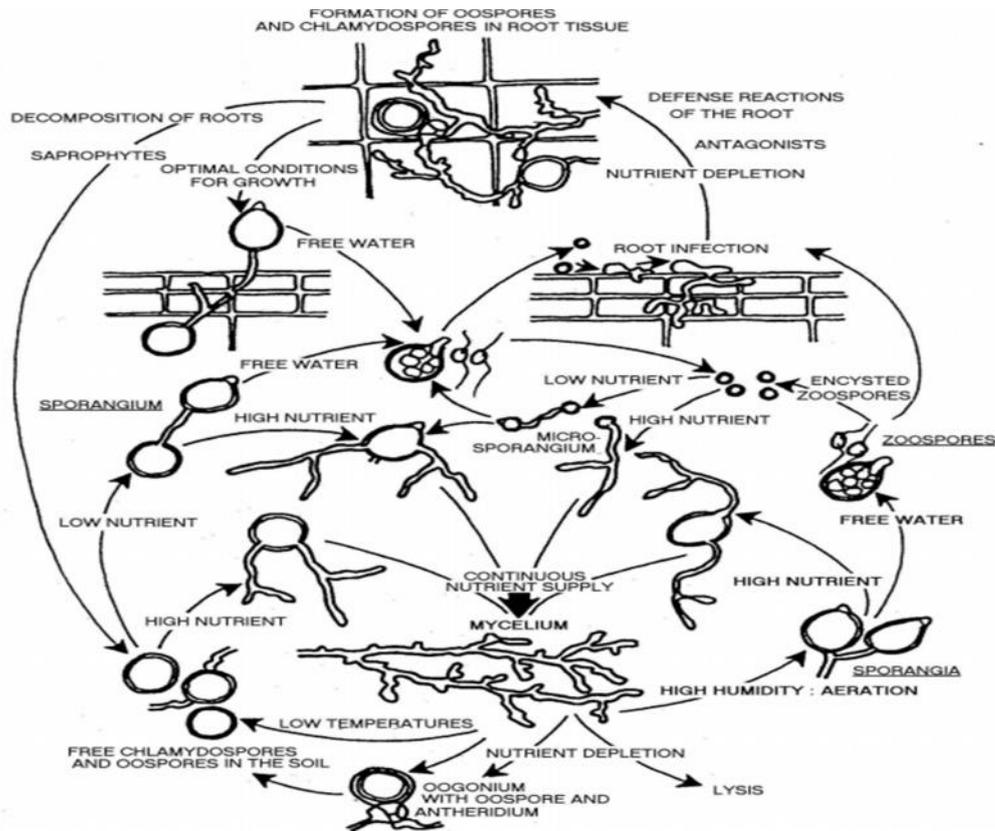


Figure 5: Cycle biologique de *Phytophthora parasitica* signalé par Mariau, (1999).

➤ Moyens de lutte

❖ Méthodes culturales

- ✓ Ne pas planter trop profond.
- ✓ Le tronc de l'arbre ne doit jamais baigner dans l'eau, ce qui revient à dire que le système des cuvettes doit être rigoureusement abandonné.
- ✓ Eviter de blesser le collet de l'arbre, car chaque blessure peut être considérée comme une porte d'entrée pour le champignon.

❖ Variétés résistantes

La meilleure stratégie de lutte consiste, en effet, à mettre au point des combinaisons résultant de l'emballage adéquat d'une variété donnée avec un porte-greffe déterminé, conférant à la plante un caractère de résistance (Ollitrault, 2002).

❖ **Traitements curatifs :**

Déchausser les parties atteintes qui seront exposées à l'air et à la lumière pendant quelques jours, si l'attaque intéresse le système racinaire, à la base du collet.

Pratiquer l'ablation de toutes les parties malades, au moyen d'une gouge tranchante. Ce nettoyage devra empiéter sur les parties saines à 5 ou 6 cm, de la part et d'autre de la lésion et aller, en profondeur, jusqu'à enlever toutes les zones brunies. En effet, le *Phytophthora* attaque les cellules vivantes pour les abandonner aussitôt après leur mort.

Appliquer la bouillie bordelaise (1 kg. SO₄Cu, 2 kg. chaux, 1 litre 1 d'eau) (Jamoussi, 1955).

8. Principaux porte-greffes des agrumes

Depuis plusieurs dizaine d'années, les critères de choix d'un plant d'agrumes ont évolué en entraînant un élargissement de la gamme des variétés et espèces disponibles pour servir de porte greffes. Cette tendance visant à augmenter le nombre de porte-greffes potentiellement utilisables s'est confirmée lorsqu'il s'agit d'apporter une réponse à la menace parasitaire exercée par diverses maladies comme la tristeza et la gommose.

L'adaptation aux différents types de sols et aux pathogènes qui s'y trouvent constitue le premier objectif qui guide la sélection des porte-greffes. Ainsi, suivant les types de sols, on recherche une tolérance au sel, une adaptation aux sols alcalins ou acides et, dans tous les cas, une résistance ou une tolérance a u x *Phytophthora spp.* et aux nématodes (Ollitrault, 2002).

➤ **Bigaradier (*Citrus aurantium* L)**

Le bigaradier constitue le porte-greffe de fond. Dans la région méditerranéenne, en raison de son adaptation à plusieurs types de sol, de sa meilleure affinité avec la plupart des variétés commerciales et de sa bonne résistance à la gommose à *Phytophthora*. Toutefois, sa sensibilité à la Tristeza constitue une grande menace pour l'agrumiculture méditerranéenne. En conséquence.

Le bigaradier, *C. aurantium* a été, jusqu'au milieu des années 1980, le porte-greffe quasi exclusif employé au Maroc (Nadori, 2005).

➤ **Poncirus trifoliata**

Se porte-greffe résistant au froid (-15°C), supporte les terres humides et l'asphyxie (craint les sols secs), sensible au calcaire et aux chlorures, résistant à la gommose, tolérant aux nématodes, tolérant à la tristeza, sensible à l'exocortis et au blight, et les fruits sont de bonne qualité (Gilles, 2005)

➤ **Citrangle Troyer**

C'est un hybride entre un oranger et un Poncirus, enracinement de type pivotant, porte-greffe vigoureux, supporte les terres humides et l'asphyxie, (craint les sols secs), sensible au calcaire et aux chlorures, résistant à la gommose, tolérant à la tristeza, sensible au blight, l'exocortis et aux nématodes, sensible au froid, fruits de petit calibre et de bonne qualité (Gilles, 2005)

➤ **Citrangle Carrizo**

Aujourd'hui c'est le porte-greffe le plus utilisé, l'enracinement est de type pivotant, dense et profond, supporte les sols moyennement humide, peu tolérant au calcaire et aux chlorures, craint les sols secs, association tolérante à la tristeza, sensible au blight et l'exocortis, tolérant aux nématodes, les fruits sont de bonne qualité (Gilles, 2005).

➤ **Citrus volkameriana**

Porte-greffe adapté à de nombreuses associations notamment pour les citronniers, bon enracinement, adapté aux sol secs, peu adapté aux sols lourds et asphyxiants, résistant à la gommose, association tolérante à la tristeza, sensible au blight, à l'exocortis, bonne résistance au froid très bonne productivité avec la variété de citron Eureka (Gilles, 2005).

➤ **Citrus macrophylla**

Porte-greffe surtout adapté aux citronniers, sensible au froid et aux sols humides, supporte les chlorures et le calcaire, tolérant à la gommose et à l'exocortis sensible à la tristeza bonne mise à fruit, forte affinité avec les citronniers (Gilles, 2005).

II. Olivier

1. Taxonomie et Classification

Le genre *Olea* appartient à la famille des Oléacées, sous-famille Oleideae. Il comprend deux sous-genres: *Olea* et *Paniculatae*, le premier est divisée en sections *Olea* et *Ligustroides*. Selon les récentes révisions de la taxonomie d'*Olea europaea*, l'espèce comprend six sous-espèces basée sur la morphologie et l'origine géographique (Doveri et Baldoni, 2007).

2. Importance économique de secteur oléicole

Au Maroc, le secteur oléicole a une double vocation économique et sociale. La superficie arboricole nationale est en grande partie composée de la culture de l'olivier érigéant ce dernier est la principale culture fruitière du pays. Ainsi, la filière oléicole participe à hauteur de 15% aux exportations agroalimentaires. L'oléiculture connaît actuellement une grande expansion avec un accroissement important de la superficie consacrée aux oliviers qui est passée de 763 000 ha en 2007/08 à 933 475 ha en 2012/13. Ce mouvement ascendant bénéficie notamment de la mise en œuvre de Plan Maroc Vert qui fixe comme objectif l'atteinte d'1,2 millions d'hectares de superficie plantée d'ici 2020. (MAPM, 2013).

En termes de production, la filière oléicole a connu une nette croissance passant de 765377 tonnes en 2007 à 1,3 million de tonnes avec un pic de 1,5 millions de tonnes en 2010 (MAPM, 2013).

3. Principales variétés d'olivier au Maroc

La principale variété cultivée est la Picholine marocaine, et constitue plus de 96 % de la superficie. Les 4 % restants se composent de la Picholine Languedoc, de la Dahbia et de la Meslala, qui sont cultivées en régime irrigué (Haouz, Tadla, El Kelâa) et de quelques variétés espagnoles et italiennes telles que la Picual, la Manzanilla, la Gordal et la Frantoio. Cependant les orientations stratégiques pour le développement de la filière oléicole visent à travers la directive oléicole de 2012 à diversifier le verger nationale à travers la plantation des variétés autres que la Picholine. (MAPM, 2013)

4. Principales maladies et ravageurs rencontrés sur l'olivier

Les problèmes phytosanitaires de l'olivier constituent le facteur principal de la faible productivité de cette culture. Les principales ravageuses sont, la teigne d'olivier (*Prays oleae*), la mouche de l'olivier (*Bactrocera oleae*), la cochenille noire (*Saissetia oleae*), La Pyrale du Jasmin (*Margaronia Unionalis HÜBN*), aussi les taches foliaires ou œil de paon du à *Spilotea oleagina* (*Cycloconium oleaginum* Hughes), la verticilliose due à *Verticillium dahliae* et le chancre bactérien du à *Pseudomonas syringae* Hall (Figures 6,7,8).



Figure 6 : Œil de paon causé par *Cycloconium oleaginum* (Guide de l'olivier, 2010).



Figure 7: Pyrale du Jasmin (*Margaronia Unionalis Hübn*) (Guide de l'olivier, 2010).



Figure 8: Symptômes de la Verticilliose d'olivier (Hiemstra 2015).

5. Verticilliose del'olivier

5.1. Description de l'agent causal

Le genre *Verticillium* a été classé en fonction de ses caractéristiques morphologiques distinctives et ses conidiophores verticillés.

Morphologiquement *V. dahliae* présente un mycélium végétatif hyalin, cloisonné, et multinuclé, l'extrémité de l'hyphe peut avoir jusqu'à 15 noyaux. Les conidies sont hyalines, ovoïdes ou ellipsoïdes, et habituellement unicellulaires. Elles sont portées sur des phialides en disposition verticillée sur les conidiophores. Chaque phialide transporte une masse de conidies (Figure 9) (Fradin et Thomma, 2006).

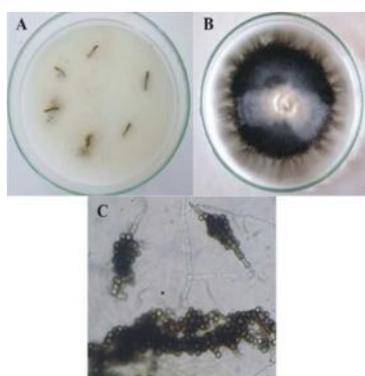


Figure 9 : *Verticillium dahliae* isolés à partir des racines des plantes inoculées d'olive (A); *V.dahliae* colonie sur la plaques de PSA(B); microsclérotos de *V. dahliae* (M.Chliyah et al.2014).

5.2. Classification

L'agent pathogène *Verticillium dahliae* est un champignon imparfait. Les données taxonomiques (Botton et al., 1990 . Bellahcene, 2004) le signalent comme suit (Tableau 2) :

Tableau 2: Classification de *V.dahliae*

| Classe | Ordre | Famille | Genre | Espèce |
|--------------|------------------------|-------------|---------------------|----------------|
| Hyphomycètes | Hyphales ou moniliales | Moniliaceae | <i>Verticillium</i> | <i>dahliae</i> |

5.3. Cycle de développement de *V. dahliae*

Le cycle de développement de *V. dahliae* se déroule en deux phases, une phase saprophytique (non parasitaire) et une phase parasitaire (Figure 10).

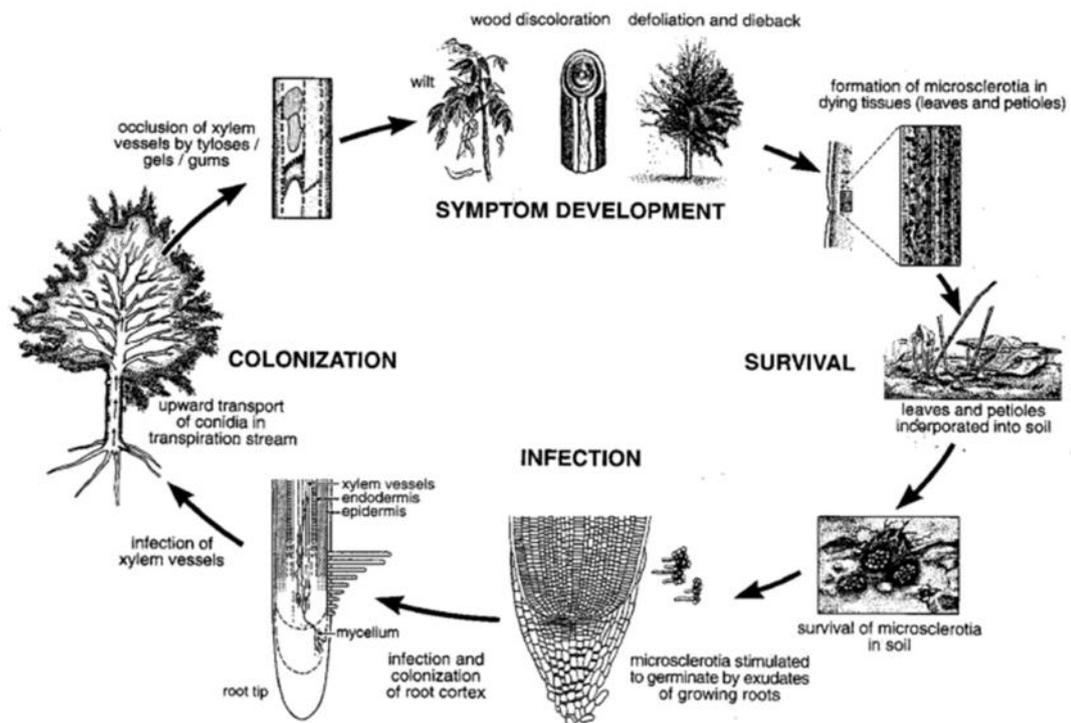


Figure 10 : Cycle de vie de la *V.dahliae*, hiemstra (1998).

5.4. Moyens de lutte contre la verticilliose de l'olivier

Comme la plupart des maladies vasculaires causées par des organismes fongiques, la verticilliose d'olivier, est difficile à contrôler. Parmi les facteurs qui entravent leur contrôle sont: la large gamme de plantes-hôtes sensibles, la capacité à survivre dans le sol (MS) et l'emplacement dans le xylème, ce qui entrave l'accès pour effectuer des traitements chimiques (Vallad *et al.*, 2005). Dans le cas particulier de l'olivier, le contrôle de *V. dahliae* doit être conçue dans un contexte de gestion intégrée, une série de mesures qui commencent avant l'établissement de la plantation et devrait se poursuivre durant le développement des cultures (Vallad *et al.*, 2005, Qin *et al.*, 2008).

I. Agrumes

1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de 12 porte-greffes d'agrumes. C'est le premier essai de gommose numéro 6 planté en 1986 et qui a subi une taille de rajeunissement en Novembre 2011 et en Février 2015 (tableau 3). Un deuxième essai USA a porté sur 7 autres porte-greffes (tableau 4).

Tableau 3 : Porte-greffes utilisés dans l'essai gommose 6

| Porte-greffe | Nom commun | Nombre de répétition |
|--------------|---|----------------------|
| V1 | <i>Citrumelo Swingle IF-9-22-55(80-1)</i> | 29 |
| V2 | <i>Citrus Volcameriana 60-169-502</i> | 29 |
| V3 | <i>Citrangle Troyer 72-89</i> | 4 |
| V5 | <i>Fling dragon Trifoliata 58-236</i> | 9 |
| V6 | <i>Citrumelo 57-98-506</i> | 28 |
| V7 | <i>Citrumelo 57-98-2</i> | 25 |
| V8 | <i>Citrangle carrizo 61-16-1</i> | 10 |
| V9 | <i>Citrus Species India 58-328-502</i> | 13 |
| V10 | <i>Citrumelo Swingle 74-1</i> | 37 |
| V11 | <i>Soh Jhalia 58-329-506</i> | 16 |
| V12 | <i>Bigardier</i> | 18 |

Tableau 4: Porte-greffes testés dans l'essai gommose USA.

| Porte- greffe | Nombre de répétition |
|---------------|----------------------|
| V1 | 8 |
| V2 | 9 |
| V3 | 9 |
| V5 | 9 |
| V6 | 9 |
| V9 | 9 |
| V10 | 9 |

2. Matériel fongique

La souche de *P.citrophthora* testée a été fournie par le laboratoire de Phytopathologie et Qualité Post Récolte Kenitra et mise en culture sur milieu PDA (Figure 11).



Figure 11 : Souche de *PC16* mise en culture sur milieu PDA.

3) Isolement de *Phytophthora*

L'isolement est effectué à partir du sol et des fruits qui présentent les symptômes de la maladie se traduisant par la pourriture brune.

3.1. Isolement à partir du sol

➤ Isolement direct

Le principe consiste à mettre l'échantillon du sol en suspension dans de l'eau distillé, en ajoutant une masse connue de terre (en générale 10g) à 90ml d'eau distillée. Nous agitons pendant un temps donné (en générale 30 min) ce qui constitue la dilution 10^{-1} , ensuite nous déposons un volume de 1 ml de cette dilution dans des boites de Pétri contenant le milieu gélosé sélectif pour *Phytophthora* (Figure 12).

L'homogénéisation est réalisée en agitant manuellement les boîtes d'un mouvement circulaire dans le plan horizontal. L'incubation est faite à 25°C et à l'obscurité (Figure 12).

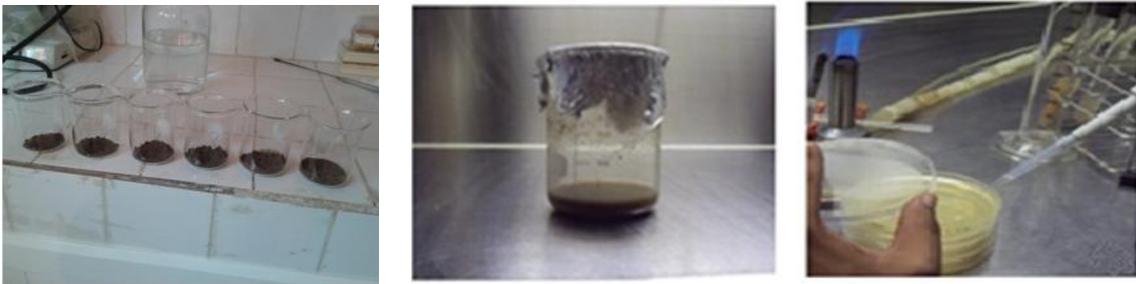


Figure 12: Etapes d'isolement de *Phytophthora* à partir du sol.

➤ Piégeage biologique

Tous les organes des plantes peuvent être utilisés comme pièges vivants, avec des capacités sélectives variables en fonction de leurs conditions d'utilisation et des micro-organismes recherchés.

Pour le *P.citrophthora* des agrumes la méthode consiste à faire flotter les fruits de citron dans des boites en plastiques désinfectées. Celles-ci contiennent 1/3 d'échantillon du sol infecté par *phytophthora* et prélevé au sein d'un verger à l'INRA de Kenitra et 2/3 d'eau distillé. Les boites sont incubées pendant 48h à l'air libre.

3.2. Isolement à partir des fruits

Les fruits présentant des pourritures brunes ont été sélectionnés. Dans des conditions stériles (sous la haute) la partie brune de leur épiderme est coupée en petits morceaux (2 mm à 1cm environ) qui sont ensuite émergés dans un bêcher contenant l'hypochlorite de sodium dilué 10% et rincés deux fois avec l'eau distillée stérile.

A l'aide d'un scalpel stérilisé (trempé dans l'alcool à brûler puis passé à la flamme et refroidi), les petits fragments ainsi préparés sont déposés directement sur milieux gélosé sélectif et sur milieu PDA à raison de 4 à 8 implants par boîte.

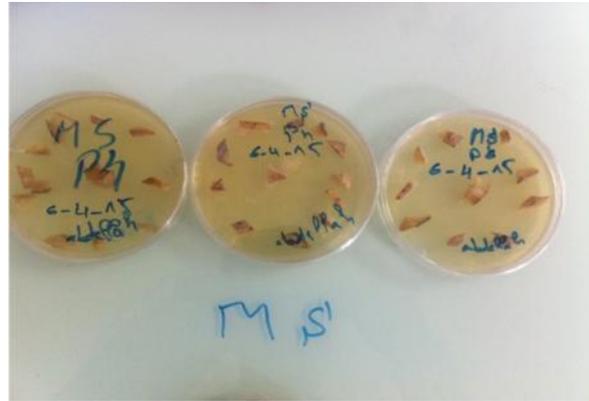


Figure 13: Ré-isolement de *phytophthora* sur milieu sélectif et sur milieu PDA

4. Mise en évidence de la pourriture brune des fruits

Le matériel végétal est constitué des fruits d'oranger et la souche de *P. citrophthora* (PC16) est issue de la mycothèque du laboratoire de Phytopathologie et Qualité Post Récolte Kenitra, El Menzeh.

Pour l'inoculation, les fruits ont été répartis en lot de 6, blessés par un emporte-pièce de 2 mm puis inoculés par des disques mycéliens de même diamètre ensuite mis en incubation pendant 2 à 5 jours à une température de 25C° et une humidité relative de plus de 95 %, conditions favorables pour le développement de la maladie.

5. Production des sporanges.

La souche de *Phytophthora* (PC16) est cultivée in vitro sur milieux V8 et PDA. Après 7 jours de culture, des disques mycéliens de 5 mm de diamètre y sont prélevés par l'emporte-pièce. Ces derniers sont mis dans une solution de 1,5 % d'extrait du sol non stérile (15g de sol non stérile dans un litre d'eau distillée) (figure 14).

Les suspensions sont ensuite placées dans un incubateur à une température de 24°C pendant 5 jours, après nous passons à l'observation microscopique.

Le milieu PDA à l'origine est un milieu d'isolement et de croissance tandis que le milieu V8 est un milieu de sporulation. Ces deux milieux de composition différente ont été utilisés pour mettre en évidence la production des sporanges.



Figure 14 : Etapes de production des sporanges de *P.citrophthora*.

6. Test in vivo (inoculation sur troncs)

L'inoculation par *PC16* a porté sur le tronc de l'arbre, à une hauteur de 15 cm, après désinfection de la zone par l'alcool 90°, l'écorce est ensuite enlevée par l'emporte-pièce et la souche est déposée là où la blessure est effectuée. Celle-ci est scellée avec une bande de Para film et enveloppée par un plastique noir et par un scotch pour éviter le dessèchement (Figure 15).

La lecture des résultats est faite après 15 jours, à leur issue, l'écorce du tronc a été grattée dans le but de révéler la lésion (Afek et al, 1990).



Figure 15: Etapes d'inoculation des Troncs par *PC16*.

7. Test in vitro (inoculation sur baguettes)

Le choix des baguettes avec un diamètre de 7 à 10 mm est la première étape pour leur inoculation sous la hotte à flux laminaire. Après désinfection de toute la baguette, l'écorce est enlevée par un emporte-pièce puis la souche est déposée dans la zone d'inoculation. Celle-ci sera couverte par le coton imbibé par l'eau distillée. Ensuite les baguettes sont mises dans des boîtes en plastiques désinfectées et incubées à 24° pendant 10 jrs (Afek et *al*, 1990).

8. Evaluation des résultats

Les lésions développées sur les troncs des portes greffes ont été mesurées 15 jours après leur inoculation par les disques mycéliens issus de la culture de la souche de PC16. Les résultats ont été évalués par le calcul de la superficie moyenne des lésions (Annexe I) et analysés par L'analyse de variance (Annexe II).

Comme ce dernier montre seulement l'existence ou non de la différence, nous avons réalisé un test de comparaison des moyennes nommé test de DUNCAN qui classe les porte-greffes en groupe (groupement de DANCUN), selon la superficie de lésions, donc selon leur résistance à la souche testée .

II. Verticilliose de l'olivier

1. Origine des clones d'olivier (Tableau 5)

Tableau 5: Clones d'olivier testés

| Olea | Mode | Nombre | Origine |
|-------------------------|---------------------|--------|------------------------|
| O:51 | semis par graine | 9 | Moulay...Driss Zarhoun |
| O:32 | SG | 15 | Massmoda(Ouazzane) |
| O:11 | SG | 9 | Zegotta (Meknès) |
| Picholine de lingdoc | Bouture | 15 | Zegotta |

2. Origine des isolats

Les souches de *V.dahliae* utilisées sont présentées dans le tableau 6 et maintenues par culture sur milieu PDA (Annexe I) (figure 16).

Tableau 6: Souches de *V. dahliae* utilisées

| Souches | Origine |
|---------|----------------------|
| V54 | M'haya (Fès) |
| V7 | Sidi Harazem |
| V71 | Mediona (Casablanca) |

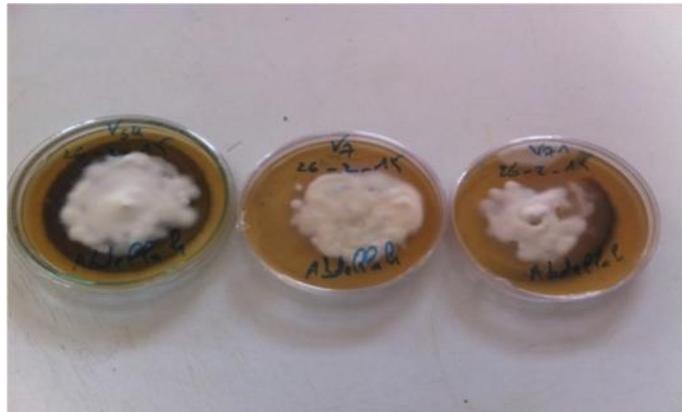


Figure 16 : Souches de de *V.dahliae* cultivées sur milieu PDA

3. Sélection des clones d'olivier résistants

Les isolats (V54, V7, V71) sont cultivés sur un milieu PDA. A l'aide d'une spatule, une suspension de micro-sclérotés est récupérée par grattage de la surface des colonies sur boîtes de Pétri à l. Le taux d'inoculum est ajusté à $2 \cdot 10^8$ Ms/ml. Pour tous les isolats, le système racinaire des plants d'oliviers est trempé pendant 30 minutes dans environ 1 litre de la suspension de micro- sclérotés préparée. Cette technique de trempage des racines a été sélectionnée parmi plusieurs autres techniques grâce à son efficacité élevée (Cirulli et al ,2008). Les plants inoculés sont replantés dans des pots contenant 1/3 de sol stéril 1 /3 de la tourbe 1/3 perlite et placés dans une serre. Les symptômes externes de la maladie sont évalués un mois à 2 mois après l'inoculation.

4. Isolement de *V. dahliae* (Test de confirmation)

L'isolement est effectué à partir de tiges et des racines des clones présentant les symptômes de la maladie se traduisant par des flétrissements généralisés. Dans certains cas, sur les jeunes rameaux, la présence des feuilles desséchées, très cassantes, enroulées en gouttière est aussi observée.

4.1) A partir des tiges

Le milieu sélectif décrit par Ausher (Guechi et *al.*, 2005) (annexe III), est utilisé pour l'isolement de *V. dahliae* à partir des tiges. Ainsi deux brindilles de tige d'olivier infecté ont été prises aléatoirement. Ces dernières ont été coupées en petits morceaux de 0,5 à 1,0 cm d'épaisseur ; ensuite immergés dans l'hypochlorite du sodium (5%) pendant une minute.

Les fragments rincés à l'eau distillée, séchés sur du papier filtre stérile ont été placés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu nutritif et enfin incubés pendant 15 jours à 20°C (Figure17).



Figure 17 : Etapes d'isolement de *V.dahliae* à partir des tiges

4.2. A partir des racines

Pour isoler le champignon à partir des racines d'olivier, celles-ci ont été lavées à l'eau courante, puis nous avons suivi les mêmes étapes que celles décrites ci-dessus.

5. Evaluation des résultats

L'évaluation des symptômes est réalisée 58^{ème} jours après la transplantation des plantules La sévérité de la maladie a été estimée par l'échelle de Tjamos et al (1993); basée

sur les symptômes foliaires tel que le jaunissement des feuilles, l'enroulement des feuilles et la défoliation des brindilles qui se présente comme suit :

0 : arbre sain ; 1 : infection très légère ; 2 : infection légère ; 3 : infection modérée ; 4 : infection sévère ; 5 : Presque ou morte.

L'estimation totale de la sévérité de la maladie est ainsi calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Sévérité de la maladie} = \frac{\text{La somme de tous les taux numériques}}{\text{Le nombre total des plantes}}$$

I. Agrumes

1. Isolement de *Phytophthora*

Le résultat d'isolement de *Phytophthora* par la technique de piégeage biologique est observé sur les fruits sous forme de taches brunes (Figure 18).

Les zoospores du *Phytophthora* obéissant à un chimiotactisme vont s'agréger à la surface du fruit ou elles germent. Le mycélium pénètre et s'établit dans l'albedo dont il provoque la pourriture. Le parasite peut alors aisément être isolé à chacun des points de pénétration (figure 18).



Figure 18 : Symptômes de pourriture sur fruits de citron.

2. Pourriture brune

Les fruits prennent au début une légère décoloration de la peau, puis la zone nécrosée s'étend, enfin les fruits prennent une teinte plus ou moins brune foncée. Les parties atteintes demeurent dures et ne cèdent pas sous la pression du doigt.



Figure 19 : Pourriture brune sur fruits de citron.

Les fruits prennent au début une légère décoloration de la peau, puis la zone nécrosée s'étend, enfin les fruits prennent une teinte plus ou moins brune foncée. Les parties atteintes demeurent dures et ne cèdent pas sous la pression du doigt.

Plus tardivement, les fruits atteints dégagent une odeur très caractéristique liée à ce type de pourriture (Figure 19).

3. Production des sporanges

En générale les sporanges sont rapidement formés sur le milieu V8 (Annexe I), dans notre expérience la plupart des sporanges ont été formés pendant la deuxième semaine d'incubation. Ils sont ovoïdes et présentent une papille bien différenciée terminée par un épaissement apicale hémisphérique (Figure 20).

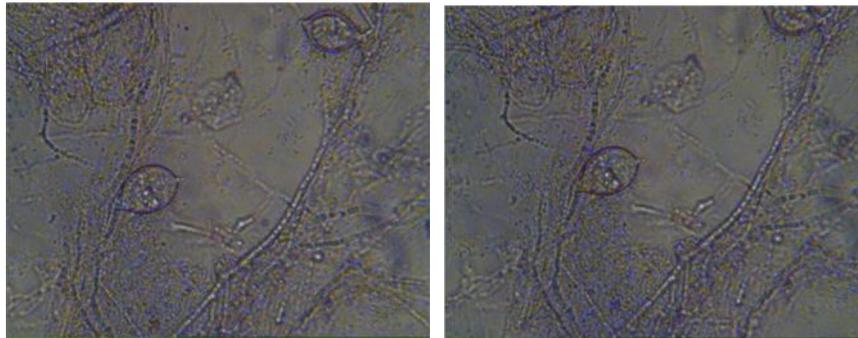


Figure 20 : Sporangies de *PC16* vus sous microscope optique (G : 40×)

4. Inoculation des troncs (test in vivo)

4.1. Superficie moyenne des lésions

Dans l'essai gommosse 6, les superficies des lésions provoquées par *PC16* est très importante sur les porte-greffes *Citrus species India* et *Soh jahalia* en enregistrant respectivement une valeur maximale de 238,4 et 205 mm². En revanche, la valeur minimale a été notée au niveau des porte-greffes *Citrango carrizo* (65,1 mm²), et *Citrango troyer* (105,7 mm²) (figure 21).

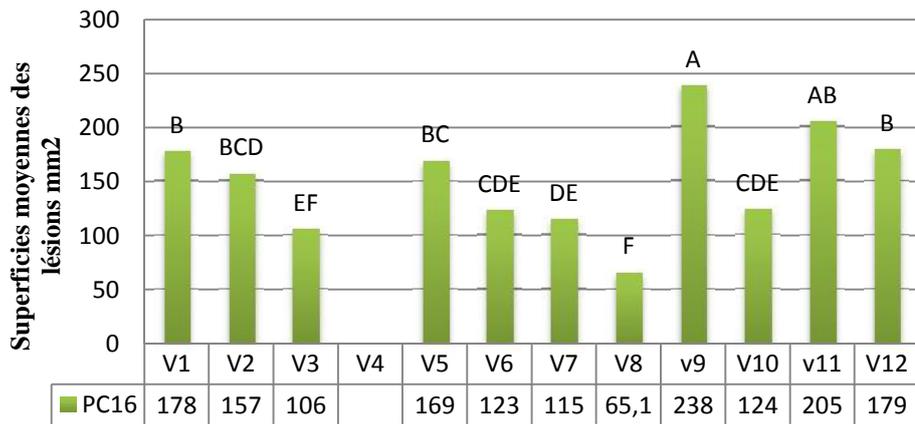


Figure 21 : Superficies moyennes des lésions effectuées par PC16 sur les onze porte-greffes d'agrumes (mm^2).

Pour l'essai gommose USA, la superficie des lésions est très importante sur V9 ($606,555 \text{ mm}^2$) et V6 ($500,555 \text{ mm}^2$), alors que la valeur minimale a été notée avec V5 ($246,889 \text{ mm}^2$) et V2 ($105,667 \text{ mm}^2$) (Figure 22).

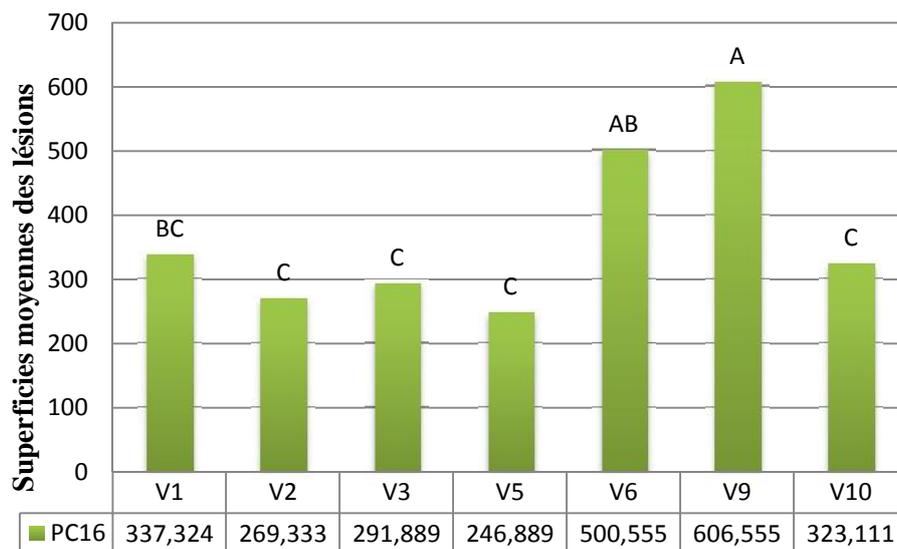


Figure 22: Superficies moyennes des lésions effectuées par PC16 sur les onze porte-greffes d'agrumes (mm^2).

5. Résultats d'inoculation sur baguettes (test in vitro)

5.1. Superficie moyenne des lésions

Dans l'essai gommose 6, les superficies des lésions provoquées par PC16, sont importantes sur le *Citrumelo Swingle*, *Fling dragon Trifoliata* et Le *Bigardier* en enregistrant respectivement les valeurs de 139,9 , 143,5 ,et 134,25mm². La valeur minimale est notée avec *Citrus Volcameriana* (63,448 mm²) suivi par *Citrance carrizo* (76,8mm²) et *Citrance troyer* (77,75mm²) (Figure 23).

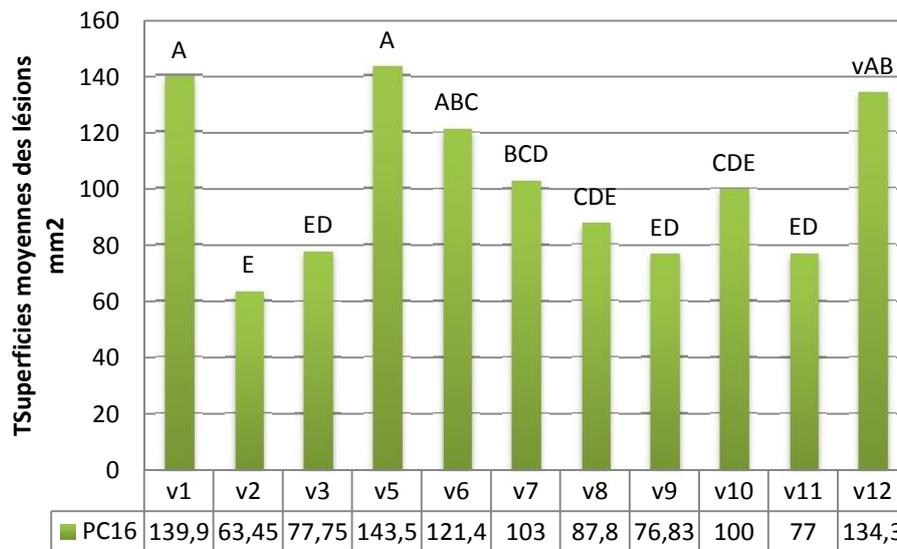


Figure 23 : Superficies moyennes des lésions.

Pour l'essai gommose USA, la superficie des lésions est très importante sur V9 (215,833 mm²) , alors que la valeur minimale a été notée sur V2 (105,917 mm²) suivi par V3 (105,083 mm²) (Figure 24).

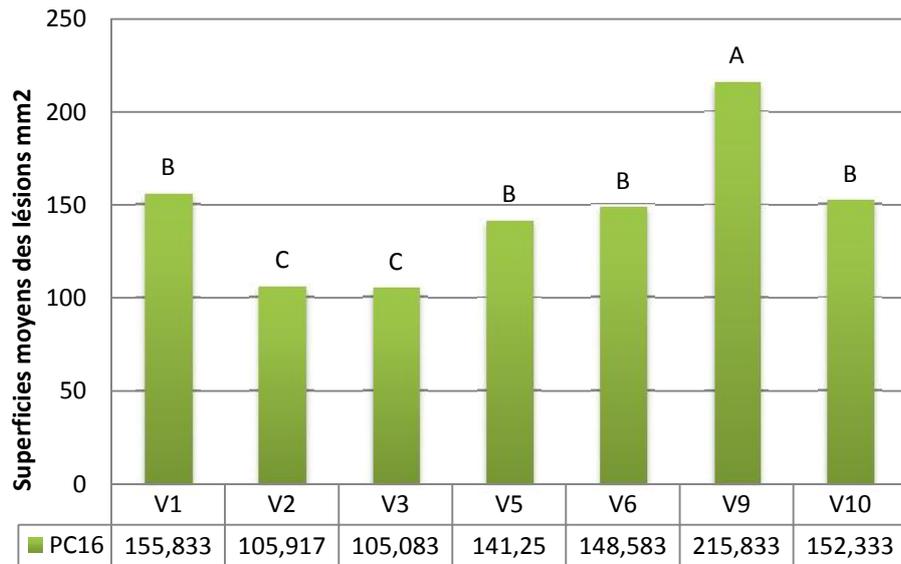


Figure 24: Superficies moyennes des lésions (essai gommose USA)

L'analyse de variance (annexe II) a montré un effet hautement significatif (**pM0.0001**) du facteur porte-greffe sur la superficie de lésions aussi bien pour les troncs que pour les baguettes.

Le test de DUNCAN nous a permis de déterminer la variation de la résistance d'un porte-greffe à un autre et les classer comme suivant :

➤ **Essai gommose 6**

Les tableaux 7 et 8 présentes la variation de résistance des onze porte-greffes testés.

Tableau 7 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur tronc).

| Duncan's Multiple Range Test for SLT | | | |
|--|---------|----|-----|
| Les moyennes avec la même lettre ne sont pas très différentes. | | | |
| Duncan Groupement | Moyenne | Nb | VAR |
| A | 238.38 | 13 | 9 |
| A | | | |
| B A | 205.00 | 23 | 11 |
| B | | | |
| B | 179.35 | 20 | 12 |
| B | | | |
| B | 177.71 | 28 | 1 |
| B | | | |
| B C | 168.67 | 6 | 5 |
| B C | | | |
| B C D | 156.62 | 29 | 2 |
| C D | | | |
| E C D | 123.86 | 36 | 10 |
| E C D | | | |
| E C D | 122.89 | 28 | 6 |
| E D | | | |
| E D | 114.97 | 29 | 7 |
| E | | | |
| E F | 105.67 | 3 | 3 |
| F | | | |
| F | 65.10 | 10 | 8 |

Le test in vivo montre que le v9 est le plus sensible (A) suivi par le v11(AB) et v12 (B). Par contre le v8 (F) est le plus résistant suivi par v3 (EF) et v7 (DE).

Tableau 8 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur baguettes).

| Duncan's Multiple Range Test for SLB | | | |
|--|---------|----|-----|
| Les moyennes avec la même lettre ne sont pas très différentes. | | | |
| Duncan Groupement | Moyenne | Nb | VAR |
| A | 143.50 | 8 | 5 |
| A | | | |
| A | 139.86 | 28 | 1 |
| A | | | |
| B A | 134.25 | 20 | 12 |
| B A | | | |
| B A C | 121.36 | 28 | 6 |
| B C | | | |
| B D C | 103.00 | 29 | 7 |
| B D C | | | |
| B E D C | 100.00 | 36 | 10 |
| E D C | | | |
| E D C | 87.40 | 10 | 8 |
| E D | | | |
| E D | 77.75 | 12 | 3 |
| E D | | | |
| E D | | | |
| E D | 77.04 | 23 | 11 |
| E D | | | |
| E D | 76.83 | 12 | 9 |
| E | | | |
| E | 63.45 | 29 | 2 |

Le teste in vitro montre que le v5 et le v1 sont les plus sensibles(A), alors que le v3, v11 et v9 sont moyennement sensible (D) suivi par v8 et v10 (CDE).

➤ **Essai gommose USA**

Les tableaux 7 et 8 présentes la variation de résistance des onze porte-greffes testés.

Tableau 9 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur tronc).

| Duncan's Multiple Range Test for SLT | | | | |
|--|------------|---------|----|-----|
| Les moyennes avec la même lettre ne sont pas très différentes. | | | | |
| Duncan | Groupement | Moyenne | Nb | VAR |
| | A | 606.56 | 9 | 9 |
| | A | | | |
| B | A | 500.78 | 9 | 6 |
| | B | | | |
| B | C | 394.13 | 8 | 1 |
| | C | | | |
| | C | 323.11 | 9 | 10 |
| | C | | | |
| | C | 291.89 | 9 | 3 |
| | C | | | |
| | C | 269.33 | 9 | 2 |
| | C | | | |
| | C | 246.89 | 9 | 5 |

Le test sur tronc (Test in vivo) montre que le v9 (A) est le plus sensible suivi par v6 (AB). Les porte-greffes moyennement sensible sont v10, v3, v2, v5 situés dans le même groupement de Duncan (C).

Tableau 10 : Classement des onze porte-greffes selon leur résistance (test sur baguettes).

| Duncan's Multiple Range Test for DBI | | | |
|--------------------------------------|---------|----|-----|
| Duncan Groupement | Moyenne | Nb | VAR |
| A | 215.83 | 12 | 9 |
| B | 155.83 | 12 | 1 |
| B | | | |
| B | 152.33 | 12 | 10 |
| B | | | |
| B | 148.58 | 12 | 6 |
| B | | | |
| B | 141.25 | 12 | 5 |
| | | | |
| C | 105.92 | 12 | 2 |
| C | | | |
| C | 105.08 | 12 | 3 |

Le teste sur baguettes (Test in vivo) montre que le v9 est le plus sensible, suivi par v1, v10, v6 et v5 (B), alors que le v2 et v3 sont moyennement sensibles (C).

Les résultats obtenus montrent qu'il y a des porte-greffes qui sont résistants in vivo et in vitro c'est le cas de v3 et v8 dans l'essai gommose 6 et d'autres qui sont sensibles in vivo et in vitro c'est l'exemple de v9 dans l'essai USA.

Nous avons aussi constaté que d'autres sont très sensibles in vivo et gardent leur résistance élevée in vitro c'est l'exemple de v9 dans l'essai gommose 6.

Le croisement de *Poncirus trifoliata* avec différents orangers a donné naissance à plusieurs citranges. Parmi eux le citrange troyer (v3) et le citrange carrizo (v8) et donc ceux-ci ont probablement conservé la résistance de leur parent *Poncirus* vis-à-vis de *Phytophthora spp* (Boccas et Laville.1976)

La différence de classement des porte- greffes obtenus dans les tests in vivo et in vitro de point de vu leur résistance à l'agent pathogène peut être expliquée par la différence dans la méthode d'inoculation utilisée. De même, le patrimoine génétique, l'environnement et l'âge de la plante peuvent être à l'origine de cette variabilité observée.

II. Verticilliose de l'olivier

1. Sélection des clones d'olivier résistants

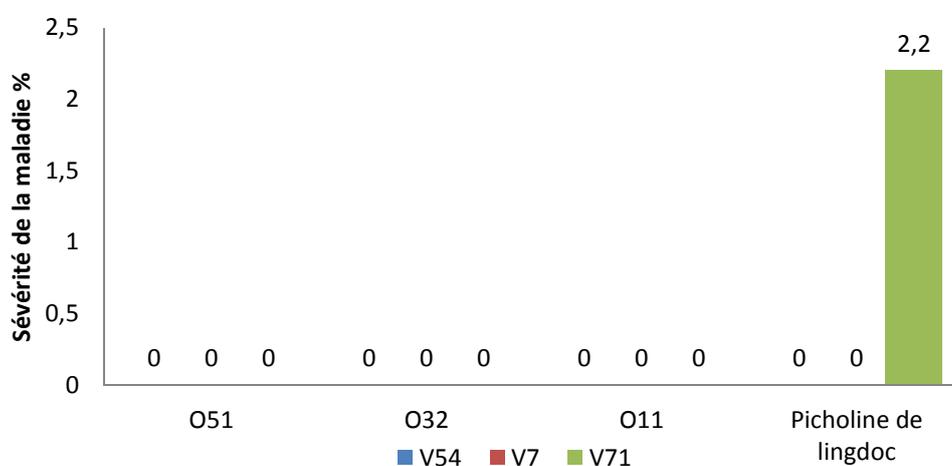


Figure 25 : Sévérité de la maladie sur les clones étudiés

La sévérité de la maladie calculée est nulle pendant notre période d'étude sur les clones O51, O32 et O11 inoculés par toutes les souches. Pour le clone Picholine de lingdoc, la sévérité est nulle avec la souche v7et v54 alors qu'elle est de 2.2% avec la souche V71.

La période d'étude n'était pas suffisante pour tester la résistance des clones étudiés, les clones O51, O32 et O11 sont révélés résistants alors que le clone PL est révélé très sensible.

2. Identification et isolement de l'agent pathogène à partir des tiges et racines d'olivier infecté (Test de confirmation).

Verticillium dahliae a un taux de croissance relativement lent sur les milieux communs comparé avec la plupart des autres champignons pathogènes et saprophytes qui souvent envahissent les boîtes de Pétri. Ainsi, après 15 jours de culture, le diamètre des colonies des isolats varie entre 5 cm et 8 cm.

Sur milieu PDA, le thalle est formé d'un mycélium dense, plus ou moins cotonneux (Figure 25).



Figure 26 : Culture de *V.dahliae* sur milieu PDA

Le développement du mycélium cotonneux de couleur blanche a été observé après 5 jours d'incubation du matériel végétal sur le milieu sélectif. La couleur du mycélium a commencé à devenir noire après deux semaines du dépôt des fragments (figure 26).

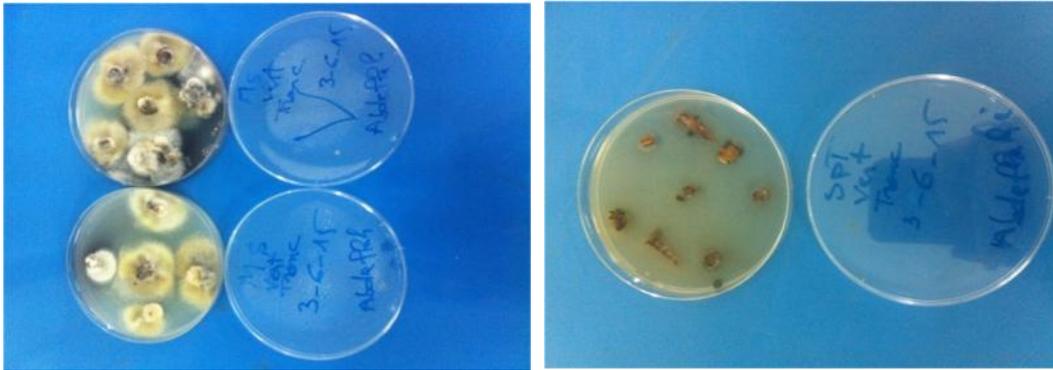


Figure 27: Isolement de *V. dahliae* sur milieu sélectif (à gauche), et sur milieu SPT (à droite).

Les observations microscopiques confirment celles macroscopiques puisque nous avons noté la présence des conidiophores portant des phialides verticillées et à leur extrémité des conidies plus ou moins arrondies. Tous ces caractères correspondent à la description morphologique de *V. dahliae*.

Conclusion et Perspectives

Le travail présenté dans cette étude a pour objectif d'évaluer la résistance de onze porte-greffes vis-à-vis *P. citrophthora* (PC16), et de sélectionner des clones d'olivier résistants à *V.dahliae*.

Pour les agrumes les résultats obtenus à partir des tests in vivo et in vitro montrent d'une part, l'existence d'une différence significative de résistance entre les porte-greffes étudiés. Ainsi dans l'essai gommosse 6 les porte-greffes v3 et v8 se sont révélés résistants in vivo et in vitro. En revanche, dans l'essai gommosse USA, tous les porte-greffes ont manifesté une sensibilité avec en tête le porte-greffe v9. D'autre part une différence entre les deux tests menés soit sur tronc ou sur baguettes. La première différence est probablement due à l'effet de l'environnement, du patrimoine génétique et l'âge de chaque sujet. La deuxième à la méthode d'inoculation appliquée

Pour l'olivier la période d'étude n'était pas suffisante pour évaluer la résistance des clones étudiés, seule la variété Picholine lingdoc s'est montrée sensible vis-à-vis la souche V71.

Dans les travaux futurs il serait primordial de :

- Répéter les essais à fin de confirmer les résultats obtenus lors de cette étude.
- Etudier l'effet des autres souches de *Phytophthora spp* sur les porte-greffes d'agrumes utilisés.
- Tester la sévérité des souches de *V.dahliae* utilisées et d'autres souches sur d'autres clones d'oliviers.

Références Bibliographiques

- **Afek, U.,Sztejnberg,A.,and Solel,Z.** 1990. A rapid method for evaluating citrus seedlings for resistance to foot rot caused by phytophthora citrophthora. Plant Dis. 74 :66-68.
- **Anonyme. (1998).** Les agrumes. Bureau des Ressources Génétiques, plate-forme espèces tropicales et méditerranéennes
- **Barkley, N.A., Roose, M.L., Krueger, R.R., &Federici, C.T. (2006).** Assessinggenetic diversity and population structure in a citrus germplasm collection utilizing simple sequencerepeat markers (SSRs). Theor. Appl. Genet.,Mapm 2013.
- **Bellahcene M, 2004.** La Verticilliose de l'olivier: Etude épidimiologique et diversité génétique de Verticillium dahlia Kleb., agent de la Verticilliose. ThèseDoct. D'état, Univ. Oran Es-sénia, Algérie, 145p.
- **Bellahcene,M., Fortas, Z., Belabid,L. et Nicole, M. (2002).** Importance et distribution de Verticilliumdahliae, agent de la verticilliose de l'olivier en Algérie. Thèse de doctorat, Université de Mostaganem, Algerie, 134-142.
- **Boccase.B et Laville (1976) :** Livre , Citrus diseases and their contrôle.
- **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisible importance industrielle. 2^{ème} édition. Masson. Collection Biotechnologies. Pp., 34-428.Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., 1990. Moisissures utiles et nuisible importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. Pp., 34-428.
- **Boudoudou. D, A. Fadli, A. Talha ,Younes ,B. Allal Douira and H.Benyahia :**Effect of seasonal and citrus rootstocks on inoculum density of Phytophthora spp. in Citrus orchard in a heavysoil of the Gharb region of Morocco Biolife | 2015 | Vol 3 | Issue 2 ,pp., 377.
- **Chliyh.M, Filali-Maltouf.A, Rhimini.Y, Selmaoui.K, El Modafar.C, Ouazzani.A, Touhami.A Moukhli.A, Oukabli, Benkirane.R and Douira.A (2014).** comparative study of pathogenicity tests for Verticillium dahliae and Phytophthora

palmivora causing wilt and decline of olive tree (*Olea europaea* L.) *Int. J. Pure App. Biosci.* 2 (2): 28-38 (2014).

- **Cirulli.M, Colella.C, D'Amico.M, Amenduni.M and Bubici.G(2008).** Comparaison of screening méthodes for the evaluation of Olive resistance to verticilliumdahliaeKleb, dipartimento di biologia et patologiavegetale, Universitadegli studi, Via Amendola 165 /A,70126 ,Bari,Italy.
- **De-Rocca-Sierra, &Ollitrault, P. (1992).** Les ressources génétiques chez les agrumes. Le courrier de l'environnement de l'INRA, 3.
- **Doveri S., Baldoni L., 2007.** Olive. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, 4: 253264.
- **Gilles Benaouf, 2005:** Institut technique d'agriculture biologique 149, rue de Bercy 75595 Paris CEDEX 1.
- **Guechi, A., Mebarkia, A. et Rouag, N. (2005).** Utilisation du cryptonol et d'un fertilisant contre la verticilliose de l'olivier. Laboratoire de microbiologie et de phytopathologie, Université de Sétif.
- **Graham J., Timmer L.W., 2003:** Phytophthora Diseases of Citrus. University of Florida.
- **Guide de l'olivier. 2010.** La cochenille noire de l'olivier, pp 21-30.
- **Hiemstra, J. A. & Harris, D. C. (1998).** A compendium of Verticillium wilts in tree species. Wageningen: CPRO-DLO.
- **Jamoussi, B. (1955).**Les maladies de dépérissement des Agrumes. Laboratoire de cryptogamie du museum national d'histoire naturelle orstom. A la revue de mycologie, Directeur : rogerheim de l'institut, Tome XX, No1.Collection de référence n°1785.
- **Lebdi, Grissa, 2010 :** Etude de base sur les cultures d'agrumes et de tomates en Tunisie. Regional Integrated Pest Management Program in the Near East GTFS/REM/070/ITA.
- **Loudyi,2008 :**Transfert de technologie en agriculture Ministère d'agriculture et de développement rural Royaume du Maroc.

- **Luro, F., Rist, D., & Ollitrault, P. (2001).** Evaluation of genetic relationships in citrus genus by means of sequenced tagged microsatellites. *Acta Hort. (ISHS)*, 546, 237-242. doi:<http://www.actahort.org/books/546/54627.htm>.
- **Mariau, D. (1999).** Les maladies des cultures pérennes tropicales, Editions Quae, pp. 287.
- **Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime :** Veille économique-Secteur oléicole Septembre 2013, Note stratégique n°95.
- **Ministère de l'Agriculture et de la Pêche Maritime (MAPM) :** Note de veille secteur agrumicole Novembre 2013 ; Note stratégique n°97.
- **Nadori, E.B., Nhami A., 2005 :** La culture du clémentinier au Maroc : évolution et perspectives.
- **Ollitrault, P., & Luro, F. (1997).** L'amélioration des plantes tropicales. In A. Charrier, J. Michel, H. Serge & N. Dominique (Eds.), (pp. 13-36): CIRAD.
- **Pellegrin, 1981 :** Analyse d'une population de *Phytophthora* en milieu tropical. *fruits* 36, 593-605.
- **Rossetti (v.) 1971.** Estudo comparativo da resistencia a *phytophthora citrophthora* e *P. parasitica* de onze variedades de *citrus sinensis*, usadas como porta-enxertos para Paranja Hamlin de clone nuclear e clone velho. *Anais de I Congresso Brasileiro de Fruticultura*, 1971, P.189-503.
- **Swingle, W. T., & Reece, P. C. (1967).** The botany of citrus and its wild relatives. In W. Reuther, L. D. Batchelor & H. J. Webber (Eds.). *The Citrus Industry* (Vol. 1, pp. 130-190): University of California Berkeley.
- **Tanaka, T. (1961).** *Citrologia: semi centennial commemoration papers on citrus studies*. Osaka Japan.
- **Tjamos, E.C. 1993.** Prospects and strategies in controlling *Verticillium* wilt of olive. *EPPO. Bull.* (23): 505-512
- **Vallavieille, 1983 :** Structure d'une population phytopathogène sélectionnée sous la pression d'une population hôte pérenne: le cas de *Phytophthora* sp. inféodé aux agrumes de la plaine orientale corse. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Paris-Sud (FR).

Annexes

Annexe I : Superficies des lésions.

| Essai gommose USA | | | | | | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|--|--|--|--|
| Superficie de la lésion de <i>Phytophthora citrophthora</i> 16 (mm ²) sur troncs. | | | | | | | | | | | |
| Variétés | V1 | V2 | V3 | V5 | V6 | V9 | V10 | | | | |
| | 400 | 288 | 231 | 285 | 550 | 228 | 320 | | | | |
| | 459 | 84 | 250 | 264 | 475 | 513 | 275 | | | | |
| | 650 | 341 | 352 | 253 | 396 | 760 | 377 | | | | |
| | 483 | 242 | 348 | 312 | 319 | 930 | 288 | | | | |
| | 351 | 275 | 220 | 153 | 522 | 324 | 275 | | | | |
| | 171 | 319 | 420 | 209 | 493 | 475 | 570 | | | | |
| | 364 | 250 | 312 | 276 | 464 | 1015 | 455 | | | | |
| | 275 | 385 | 230 | 260 | 748 | 840 | 150 | | | | |
| | | 240 | 264 | 210 | 540 | 374 | 198 | | | | |
| | | | | | | | | | | | |

Essai gommose USA

Superficie de la lésion de *Phytophthora citrophthora* 16 (mm²) sur baguettes.

| Variétés | V1 | V2 | V3 | V5 | V6 | V9 | V10 | | | | | |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|--|--|--|
| | 300 | 112 | 162 | 160 | 120 | 165 | 200 | | | | | |
| | 190 | 90 | 117 | 126 | 135 | 352 | 162 | | | | | |
| | 135 | 144 | 96 | 135 | 180 | 190 | 180 | | | | | |
| | 200 | 114 | 98 | 112 | 128 | 200 | 190 | | | | | |
| | 96 | 98 | 98 | 150 | 200 | 209 | 190 | | | | | |
| | 84 | 16 | 84 | 144 | 144 | 275 | 90 | | | | | |
| | 135 | 156 | 90 | 112 | 136 | 180 | 135 | | | | | |
| | 126 | 90 | 105 | 120 | 170 | 220 | 120 | | | | | |
| | 170 | 105 | 126 | 135 | 128 | 209 | 170 | | | | | |
| | 144 | 90 | 90 | 187 | 170 | 180 | 136 | | | | | |
| | 120 | 144 | 105 | 144 | 144 | 220 | 135 | | | | | |
| | 170 | 112 | 90 | 170 | 128 | 190 | 120 | | | | | |
| | | | | | | | | | | | | |

Essai gommose 6

Superficie des lésions de *Phytophthora citrophthora* 16 sur troncs (mm2)

| Variétés | V1 | V2 | V3 | V4 | V5 | V6 | V7 | V8 | V9 | V10 | V11 | V12 |
|----------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|
| | 210 | 140 | 119 | | 120 | 90 | 90 | 99 | 133 | 140 | 154 | 198 |
| | 272 | 112 | 156 | | 198 | 100 | 15 | 90 | 180 | 80 | 270 | 228 |
| | 210 | 153 | 42 | | 81 | 120 | 117 | 63 | 525 | 90 | 220 | 275 |
| | 272 | 210 | | | 153 | 90 | 30 | 81 | 374 | 154 | 234 | 209 |
| | 210 | 144 | | | 280 | 162 | 165 | 48 | 216 | 165 | 144 | 160 |
| | 210 | 91 | | | 180 | 187 | 176 | 81 | 120 | 150 | 171 | 120 |
| | 196 | 160 | | | | 132 | 180 | 56 | 325 | 180 | 228 | 210 |
| | 169 | 234 | | | | 130 | 204 | 35 | 253 | 128 | 210 | 209 |
| | 169 | 192 | | | | 143 | 110 | 42 | 276 | 48 | 190 | 170 |
| | 195 | 266 | | | | 48 | 80 | 56 | 165 | 104 | 348 | 104 |
| | 130 | 154 | | | | 168 | 120 | | 300 | 144 | 220 | 128 |
| | 156 | 162 | | | | 110 | 228 | | 120 | 144 | 190 | 165 |
| | 143 | 162 | | | | 70 | 110 | | 112 | 120 | 209 | 238 |
| | 120 | 165 | | | | 156 | 90 | | | 84 | 170 | 77 |
| | 168 | 126 | | | | 182 | 120 | | | 120 | 180 | 126 |
| | 182 | 144 | | | | 120 | 132 | | | 165 | 190 | 176 |
| | 210 | 50 | | | | 80 | 81 | | | 150 | 228 | 165 |
| | 169 | 96 | | | | 140 | 120 | | | 120 | 204 | 209 |
| | 168 | 152 | | | | 130 | 140 | | | 200 | 128 | 280 |
| | 156 | 171 | | | | 130 | 70 | | | 132 | 187 | 140 |
| | 132 | 78 | | | | 140 | 99 | | | 154 | 187 | |
| | 195 | 168 | | | | 192 | 255 | | | 160 | 288 | |
| | 144 | 189 | | | | 132 | 120 | | | 90 | 165 | |
| | 224 | 190 | | | | 108 | 90 | | | 160 | | |
| | 169 | 180 | | | | 156 | 81 | | | 160 | | |
| | 121 | 187 | | | | 132 | 42 | | | 144 | | |
| | 144 | 266 | | | | 130 | 176 | | | 176 | | |
| | 182 | 104 | | | | 90 | 91 | | | 140 | | |
| | | 96 | | | | | 110 | | | 60 | | |
| | | | | | | | | | | 49 | | |
| | | | | | | | | | | 96 | | |
| | | | | | | | | | | 143 | | |
| | | | | | | | | | | 117 | | |
| | | | | | | | | | | 88 | | |
| | | | | | | | | | | 64 | | |
| | | | | | | | | | | 40 | | |

(Essai gommose 6)

Superficie de lésion sur baguette de *Phytophthora citrophthora* 16 (mm2).

| Variétés | V1 | V2 | V3 | V4 | V5 | V6 | V7 | V8 | V9 | V10 | V11 | V12 |
|----------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 162 | 55 | 96 | | 170 | 72 | 112 | 84 | 96 | 102 | 72 | 126 |
| | 136 | 133 | 98 | | 300 | 60 | 144 | 84 | 35 | 14 | 72 | 126 |
| | 144 | 72 | 108 | | 132 | 60 | 160 | 54 | 105 | 65 | 84 | 119 |
| | 152 | 75 | 84 | | 84 | 112 | 66 | 72 | 91 | 65 | 72 | 90 |
| | 152 | 55 | 72 | | 152 | 171 | 80 | 78 | 66 | 91 | 45 | 105 |
| | 50 | 66 | 84 | | 70 | 98 | 104 | 72 | 60 | 126 | 84 | 126 |
| | 216 | 50 | 60 | | 135 | 60 | 66 | 91 | 104 | 114 | 84 | 90 |
| | 104 | 66 | 72 | | 105 | 84 | 84 | 119 | 50 | 96 | 60 | 105 |
| | 117 | 77 | 55 | | | 112 | 90 | 170 | 60 | 102 | 70 | 112 |
| | 126 | 45 | 72 | | | 133 | 55 | 50 | 91 | 65 | 66 | 108 |
| | 136 | 60 | 84 | | | 105 | 96 | | 60 | 112 | 60 | 96 |
| | 136 | 54 | 105 | | | 66 | 72 | | 104 | 112 | 84 | 136 |
| | 108 | 45 | | | | 170 | 108 | | | 90 | 70 | 450 |
| | 84 | 66 | | | | 270 | 77 | | | 126 | 84 | 105 |
| | 152 | 36 | | | | 255 | 133 | | | 84 | 72 | 119 |
| | 75 | 60 | | | | 50 | 112 | | | 120 | 84 | 171 |
| | 120 | 54 | | | | 190 | 84 | | | 88 | 78 | 90 |
| | 480 | 60 | | | | 133 | 105 | | | 66 | 105 | 225 |
| | 135 | 54 | | | | 171 | 200 | | | 45 | 60 | 90 |
| | 60 | 54 | | | | 166 | 102 | | | 133 | 72 | 96 |
| | 70 | 72 | | | | 133 | 84 | | | 55 | 112 | |
| | 114 | 70 | | | | 96 | 104 | | | 100 | 98 | |
| | 104 | 70 | | | | 190 | 98 | | | 154 | 84 | |
| | 147 | 96 | | | | 60 | 90 | | | 189 | | |
| | 198 | 32 | | | | 90 | 108 | | | 104 | | |
| | 165 | 54 | | | | 84 | 105 | | | 126 | | |
| | 120 | 63 | | | | 120 | 84 | | | 90 | | |
| | 153 | 60 | | | | 91 | 144 | | | 105 | | |
| | | 77 | | | | | 120 | | | 144 | | |
| | | | | | | | | | | 108 | | |
| | | | | | | | | | | 112 | | |
| | | | | | | | | | | 90 | | |
| | | | | | | | | | | 98 | | |
| | | | | | | | | | | 75 | | |
| | | | | | | | | | | 144 | | |
| | | | | | | | | | | 90 | | |

Annexe II : Analyse de variance

➤ Essai gommoose 6

Superficies moyennes des lésions sur troncs

| | | | | | Valeur | |
|----------------|-----|-------------|-------------------------------|-------|--------|----|
| Source | DDL | Anova SS | Carré moyen | F | Pr | >F |
| VAR | 10 | 371316.0304 | 37131.6030 | 12.36 | <.0001 | |
| Le Système SAS | | | 20:30 Sunday, June 13, 2015 3 | | | |

Superficies moyennes des lésions sur baguettes

| | | | | | Valeur | |
|----------------|-----|-------------|--------------------------------|------|--------|----|
| Source | DDL | Anova SS | Carré moyen | F | Pr | >F |
| VAR | 10 | 159540.0324 | 15954.0032 | 7.03 | <.0001 | |
| Le Système SAS | | | 20:30 Sunday, June 13, 2015 18 | | | |

Essai gommoose USA.

Superficies moyennes des lésions sur des troncs

| | | | | | Valeur | |
|----------------|-----|-------------|--------------------------------|------|--------|----|
| Source | DDL | Anova SS | Carré moyen | F | Pr | >F |
| VAR | 6 | 962428.3580 | 160404.7263 | 7.63 | <.0001 | |
| Le Système SAS | | | 20:30 Sunday, June 13, 2015 36 | | | |

Superficies moyennes de lésions sur baguettes

| | | | | | Valeur | |
|----------------|-----|-------------|--------------------|-------|--------|--|
| Source | DDL | Anova SS | Carré moyen | F | Pr | |
| >F | | | | | | |
| VAR | 6 | 99869.23810 | 16644.87302 | 11.58 | <.0001 | |
| Le système SAS | | | | | | |
| 13, 2015 47 | | | 20:30 Sunday, June | | | |

Annexe III : Milieux de culture utilisés.

1- Milieu sélectif pour l'isolement de *Verticilium* (Guechi et al., 2005)

| Ingrédients | quantités |
|-------------------------------------|-----------|
| Saccharose | 7,5g |
| NaNo ₃ | 2g |
| MgSo ₄ 7H ₂ O | 0,5g |
| K ₂ HPO ₄ | 1g |
| FeSo ₄ 4H ₂ O | 0,01g |
| Pentachloronitrobenzen | 0,05g |
| Chlorophenicol | 1g |
| Agar | 20g |
| Ethanol | 5ml |
| Streptomycine | 0,5g |
| Compléter avec l'ED | 1l |

2- Milieu de culture V8

| Ingrédients | quantités (g) |
|----------------|---------------|
| Carotte | 35 |
| Tomate fraîche | 30 |

| | |
|--------------------|------|
| Céleri | 6.5 |
| Betterave potagère | 12.5 |
| Persil | 5.5 |
| Laitue | 5.5 |
| Radis | 6.5 |
| Epinards | 6.5 |

Après la préparation de jus de légumes on ajoute :

| | |
|---|-------|
| Agar | 20g |
| Acide ascorbique | 50mg |
| Acide citrique | 50 mg |
| Carbonate de calcium (CACO ₃) | 3g |
| Compléter avec l'ED | 1l |

3 - PDA : Potato Dextrose Agar

1. Suspendre 40 g de PDA et 5 g d'agar agar dans 1 litre d'eau distillée.
2. Agitation pour dissoudre complètement le milieu.
3. Stériliser à 121° C pendant 15 minutes.