

ESSAI DE LUTTE *in vitro* PAR LE GLYPHOSATE CONTRE DES CHAMPIGNONS TELLURIQUES PHYTOPATHOGENES : *FUSARIUM* ET *PYTHIUM*

Reçu le 25/02/2006 – Accepté le 02/07/2007

Résumé

Les maladies cryptogamiques sont considérées comme facteurs limitant de la production des céréales, des cultures maraîchères et forestières, car elles occasionnent des pertes considérables. Ces maladies sont causées par plusieurs espèces, les plus fréquemment mises en cause appartiennent aux genres *Rhizoctonia*, *Fusarium* et *Pythium*. Ces deux dernières sont sensibles à un herbicide organo-phosphoré : le glyphosate (N-[phosphonométhyl] glycine) [1, 2, 3].

Les essais effectués au laboratoire sur des souches de *Fusarium* et de *Pythium*, montrent que les concentrations de glyphosate testées (0.5 - 1 - 1.5 et 2 mM) diminuent la croissance mycélienne des *Fusaria* jusqu'à l'inhiber à 2 mM, alors que nous notons une inhibition de celles des *Pythium* dès la concentration de 0.5 mM.

L'étude microscopique révèle que les concentrations 0.5, 1 et 1.5 mM de glyphosate augmentent le nombre de conidies de *Fusarium oxysporum* ; la formation de chlamydo-spores est stimulée par une concentration de 1.5 mM. Chez *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, cependant, une diminution du nombre de conidies à 0.5 mM et leur absence à 1 et 1.5 mM est notée dans les conditions expérimentales (T= 28°C, milieu PDA). La concentration de 2 mM est inhibitrice de la vitesse de croissance et de la formation des organes de reproduction des espèces de *Fusarium* et *Pythium*.

Mots clés : *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, *Pythium*, glyphosate, croissance mycélienne, organes de reproduction.

Abstract

Cryptogamic diseases are considered as limiting factors of cereals, crop and forest production, because causing considerable losses. These diseases are caused by several species. The most frequently blamed belong to *Rhizoctonia*, *Fusarium* and *Pythium* kinds. These two last genus appear to be sensitive to an organo-phosphorated weedkiller: the glyphosate [1, 2, 3]. The tests carried out towards *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (Killian & Maire) Gordon, and some stocks of *Pythium*, show that glyphosate concentrations tested (0.5 - 1 - 1.5 and 2 mM) decrease *Fusaria* mycelial growth until inhibiting it at 2mM concentration level; whereas growth of *Pythium* is inhibited from 0.5mM concentration.

Microscopic studies of the mycelial colonies reveal that 0.5 - 1 and 1.5 mM glyphosate concentrations increase *Fusarium oxysporum* conidia number; 1.5 mM molarity stimulates chlamydo-spore formation. Concerning with *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* however, a reduction in the number of conidia is observed at 0.5 mM; their absence at 1 and 1.5 mM is noted under the experimental conditions (T = 28°C, medium PDA). 2 mM concentration inhibits growing speed and reproductive organs production of *Fusarium* and *Pythium* species.

Key words: *Fusarium oxysporum*, *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, *Pythium*, glyphosate, mycelial growth, reproductive organs.

T. AZOUAOU-AIT KETTOUT
B. BOUCENNA
M. AMGOUD
F. RAHMANIA

Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides, Faculté des Sciences Biologiques, USTHB, BP n°32 El Alia Bab Ezzouar, 16111 Alger, Algérie.

ملخص

تعتبر الأمراض الفطرية سبب من أسباب انخفاض إنتاج الحبوب، الخضار والفواكه والنباتات الغابية. هذه الأمراض ناتجة عن عدد كبير من الفطريات من بينها *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*. هذين الأخيرين يتأثران بإستعمال مبيد الأعشاب الضارة Glyphosate : فوسفومثيل قليسين. بحيث تؤكد التجارب المخبرية ان التركيزات 0,5 ، 1 ، 1,5 و 2 ملمول يتسبب في انخفاض نمو مسيليوم *Fusarium* وتثبيته في التركيز 2 ملمول. أما *Pythium* فهو يتأثر بهذا المركب ابتداء من التركيز 0,5 ملمول. تبين الدراسة المجهرية إزداد في عدد الأعضاء التكاثرية (*Fusarium oxysporum* Conidies) و تكوين Chlamydo-spores عند التركيز 1,5 ملمول من Glyphosate. عند *Fusarium oxysporum f.sp. albenidis* نلاحظ انخفاض في عدد هذه الأعضاء أو إنعدامها حسب التركيز المستعمل.

La majorité des pertes de rendements agricoles ou sylvicoles est généralement due aux champignons telluriques phytopathogènes dont *Pythium* et *Fusarium*, qui, une fois établis dans le sol par les structures de résistances (oospores, sporanges et chlamydospores) sont difficiles à éliminer [4].

La protection des végétaux vis-à-vis des champignons pathogènes peut être envisagée par l'application de fongicides.

Des études récentes ont montré l'efficacité du Glyphosate, le seul herbicide organo-phosphoré capable d'inhiber la croissance mycélienne et les organes de reproduction sexués des *Pythium* et *Fusarium* [1, 2, 3, 5].

Ces auteurs ont montré que l'application du glyphosate, ou de dérivés du glyphosate qui sont disponibles dans le sol, ou de glyphosate issu des exsudats racinaires ou des graines traitées, inhibe la croissance de ces champignons.

L'objectif de cette étude est de tester l'effet du glyphosate *in vitro* sur la croissance mycélienne et sur la formation des organes reproducteurs des genres *Fusarium* et *Pythium* isolés des sols algériens.

MATERIELS ET METHODES

Les souches fongiques

Nous avons utilisé une souche de *Fusarium oxysporum* isolée en 1998 des sols de la palmeraie de Béni Abbés, une souche de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, isolée en 2001 de palmes de dattier bayoudé, à Ghardaïa et quatre souches de *Pythium*, isolées en 2002, (la souche E42 isolée du sol à proximité des plantules de *Nymphaea folia*, Alger ; la souche E16 isolée de sols de serres cultivées, Alger ; la souche E57 isolée de sols non cultivés Alger, la souche E55 isolée de sols non cultivé à Tizi Ouzou).

Le milieu de culture

Le PDA (Potato-Dextrose-Agar), est le milieu utilisé pour la purification des souches et l'étude de l'effet de l'herbicide

(Glyphosate) sur la croissance mycélienne et sur la formation des organes de reproduction des deux genres fongiques. **A ce milieu, nous ajoutons le glyphosate, ou non, selon que l'on s'adresse au témoin ou à l'essai.**

L'herbicide utilisé

Nous avons testé un herbicide organo-phosphoré, le Glyphosate. Il nous a été fourni à la concentration de 36%, par le Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales de la Faculté des Sciences Biologiques de l'USTHB.

Ensemencement des souches

Cette technique consiste à prélever des différentes boîtes de Petri contenant les différentes espèces de *Pythium* et *Fusarium*, quelques filaments mycéliens ou bien une bouture de la colonie mycélienne formée sur le milieu PDA, à l'endroit où les hyphes sont les plus jeunes, et à la déposer à la périphérie des boîtes de Petri. Les boîtes sont ensuite mises à incuber à une température de 28°C. L'extension de la culture fongique s'observe après quelques jours pour les différentes espèces; on procède alors à des repiquages successifs en vue de l'obtention de cultures pures des champignons.

Choix des concentrations du Glyphosate

Nous avons choisi pour notre expérimentation quatre molarités (0.5 – 1 – 1.5 et 2 mM), et ce après plusieurs essais préliminaires.

Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie

Cette étude consiste à visualiser l'aspect de la colonie à l'œil nu sur le milieu PDA en présence et en absence du glyphosate à différentes concentrations.

Effet du glyphosate sur la vitesse de croissance

La vitesse de croissance des espèces fongiques a été étudiée sur le milieu PDA additionné ou non de glyphosate aux concentrations choisies. Des disques de 4 mm de diamètre sont prélevés dans les cultures pures de *Pythium* et *Fusarium*, puis déposés au centre des boîtes de Petri contenant le milieu PDA seul (témoin) et le milieu PDA additionné de glyphosate à des concentrations variées (essais). Ces boîtes sont incubées à la température de 28°C.

Après 24 heures, la vitesse de croissance est mesurée et notée chaque jour pendant une semaine (la première mesure n'est pas prise en considération). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque souche et pour chaque concentration. La croissance mycélienne est exprimée en mm/j.

Effet du glyphosate sur la formation des organes de reproduction

Cet aspect est précisé par des observations au microscope photonique American Optical, au grossissement 400.

RESULTATS

Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie

L'étude macroscopique qui consiste à visualiser l'aspect des colonies, nous a permis d'obtenir les résultats suivants:

Fusarium oxysporum (*F.o*) présente un mycélium aérien blanchâtre, les premiers jours de son développement. Sur le milieu additionné de glyphosate son aspect est irrégulier et le mycélium devient cotonneux (Fig. 1).

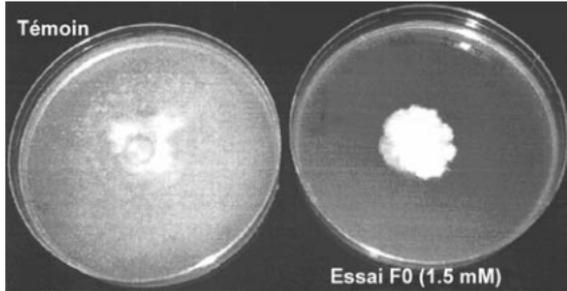


Figure 1 : Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie et sur la vitesse de croissance du *Fusarium oxysporum* sur milieu PDA après 10 jours d'incubation.

Fusarium oxysporum f. sp. *albedinis* (*F.o.a*) possède un mycélium plus ou moins aérien et de couleur blanchâtre. En présence du glyphosate, le mycélium devient cotonneux (Fig. 2).

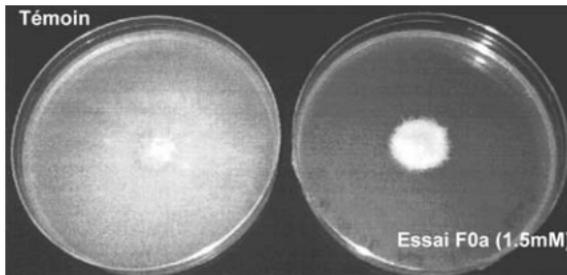


Figure 2 : Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie et sur la vitesse de croissance du *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* sur milieu PDA après 10 jours d'incubation.

La souche de *Pythium* E16, présente un aspect arachnoïde avec un mycélium aérien de couleur blanchâtre.

Sur milieu additionné de glyphosate, le mycélium devient cotonneux (Fig. 3).

Les souches de *Pythium* E42 et E55, présentent un aspect rayonné, le mycélium est aérien et blanchâtre. Sous l'effet du glyphosate à différentes concentrations, la croissance mycélienne des deux souches est inhibée (Fig. 4 et 5).

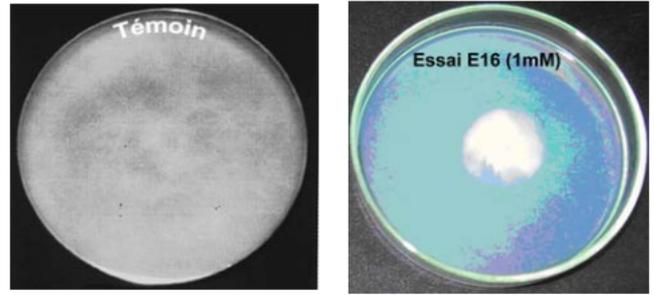


Figure 3 : Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie et sur la vitesse de croissance de la souche E16 sur milieu PDA après 10 jours d'incubation.

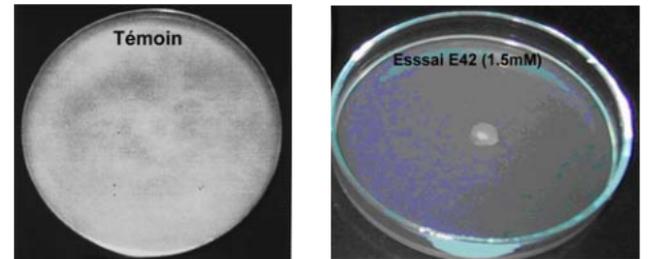


Figure 4 : Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie et sur la vitesse de croissance mycélienne de la souche E42 sur milieu PDA après 10 jours d'incubation.

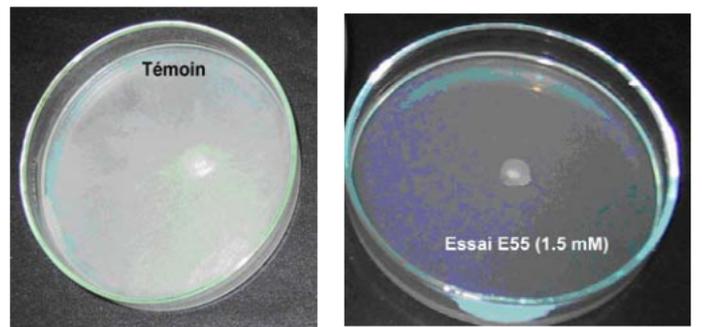


Figure 5 : Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie et sur la vitesse de croissance de la souche E55 sur milieu PDA après 10 jours d'incubation.

La souche de *Pythium* E57 présente un aspect rosacé avec un mycélium blanchâtre plus ou moins aérien (Fig. 6).

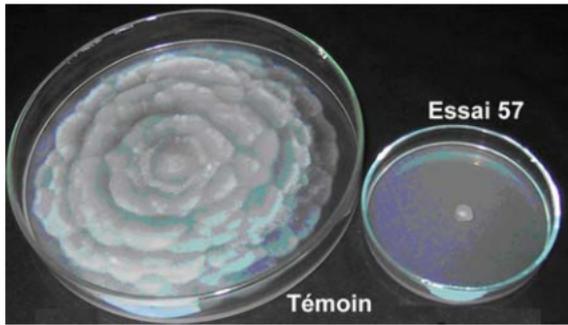


Figure 6 : Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie et sur la vitesse de croissance mycélienne de la souche E57 sur milieu PDA après 10 jours d'incubation.

Effet du glyphosate sur la vitesse de croissance

Les résultats obtenus (Tab. 1 et Fig.7) montrent que le glyphosate affecte la croissance mycélienne des différentes souches fongiques testées. En effet, plus la concentration du glyphosate augmente plus la vitesse de croissance mycélienne diminue jusqu'à s'inhiber à la concentration de 1.5 mM pour les souches de *Pythium* et à 2 mM pour celles de *Fusarium*.

Tableau 1 : Effet du glyphosate sur la croissance mycélienne des différentes espèces de *Fusarium* et souches de *Pythium* testées exprimée en mm/j.

Concentrations (mM)	Souches					
	<i>F.o</i>	<i>F.o.a</i>	E16	E42	E55	E57
Témoin	4,43	4	10	21	26,5	7,4
0,5	1	1,27	8,83	0	0	0,33
1	0,5	0,88	0,66	0	0	0
1,5	0,43	0,58	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0

Nous constatons également que la croissance des souches E42 et E55 est inhibée à la molarité de 0.5mM, alors que celle de la souche E16 se poursuit sensiblement à cette concentration. Les espèces de *Fusarium* paraissent moins sensibles que les souches de *Pythium* à ces molarités (cf. Fig. 4 et 5).

Effet du glyphosate sur les organes de reproduction

L'étude microscopique effectuée sur les souches étudiées a permis d'obtenir les résultats suivants:

Aux concentrations de 0.5 et 1 mM, *Fusarium oxysporum* possède un nombre important de macroconidies et de microconidies unicellulaires et bicellulaires et ce, comparé au témoin; alors que *Fusarium oxysporum f sp albedinis*, très peu de microconidies sont dénombrées.

A la concentration de 1.5 mM, le nombre de macro et microconidies est plus élevé par rapport aux concentrations précédentes ; la présence de chlamydospores (organes de résistance) chez *Fusarium oxysporum* est notée. Quant à *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*, cette concentration diminue la production de microconidies et inhibe celle des chlamydospores.

Concernant les souches de *Pythium* (E16, E42, E55 et E57), aussi bien la croissance mycélienne que la formation des organes de reproduction (Oogones, Anthéridies et sporanges) sont inhibées.

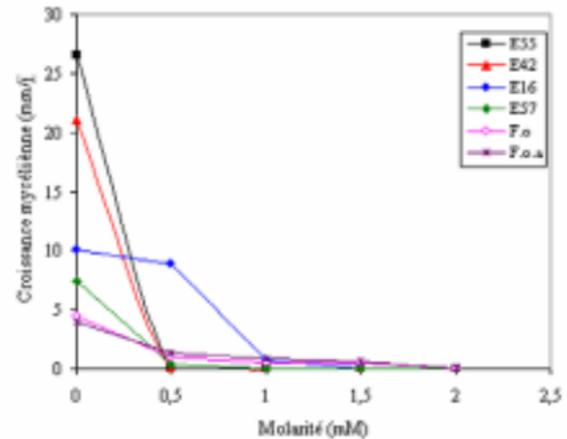


Figure 7 : Réponse des souches testées aux différentes molarité de Glyphosate sur le milieu PDA.

La composition du milieu P.D.A.est la suivante : 250g de Pomme de Terre, 10g de Glucose, 20g d'Agar et un litre d'eau distillée.

DISCUSSIONS

Dans ce travail, nous avons testé l'effet *in vitro* du glyphosate sur la croissance mycélienne et sur la formation des organes de reproduction des deux genres (*Fusarium* et *Pythium*).

L'étude macroscopique montre que la croissance mycélienne des différentes souches choisies, est affectée par les différentes molarités du glyphosate.

En effet plus la concentration du glyphosate augmente plus le diamètre de la colonie diminue jusqu'à inhibition de la croissance mycélienne à

1.5mM pour le genre *Pythium* et à 2 mM pour le genre *Fusarium*.

Les résultats obtenus dans les conditions expérimentales montrent que les *Fusaria* sont moins sensibles que les *Pythium*. Ces résultats corroborent ceux de Ait Kettout *et al* [6], qui ont montré que la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* et *Pythium intermedium* est affectée par les différentes molarités de glyphosate testées (0.01 - 0.08 - 0.1 - 0.4 - 1 et 2 mM).

La concentration de 2mM du glyphosate inhibe la croissance mycélienne de *Pythium intermedium*.

Des résultats similaires ont été obtenus par Liu *et al.*, Meriles *et al.*[7,8]. Ces auteurs montrent qu'*in vitro*, le glyphosate à forte concentration (100 µg/ml) réduit significativement la croissance mycélienne de *P. ultimum* et *P. sylvaticum* et le genre *Fusarium*

L'étude microscopique que nous avons réalisée, a permis de montrer que le glyphosate affecte le nombre de conidies. En effet, chez *Fusarium oxysporum* le nombre de micro et de macroconidies augmente en fonction de la concentration du glyphosate ; cet herbicide stimule la formation de chlamydospores à forte concentration (1.5mM). Ces résultats corroborent ceux de Cochran [9], qui montre que les facteurs de l'inhibition de la croissance mycélienne peuvent initier la sporulation.

L'étude microscopique effectuée sur *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* et sur la souche de *Pythium* E16 montre une diminution des organes de reproduction sexuée. En effet quand la croissance mycélienne diminue, le nombre d'organes de reproduction de la souche de *Pythium* E16, et celui des conidies de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* diminuent. Ces résultats sont en accord avec ceux de Kawate *et al.*, Sanogo *et al.*[5,10], qui ont montré que l'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium solani f. sp. pisi* et de *Pythium ultimum*, correspond à l'inhibition de la sporulation et ce, à la concentration de 2 mM du glyphosate, et à 39 g/l pour *Fusarium solani f. sp. glycine*.

CONCLUSION

Les espèces de *Pythium* et *Fusarium* sont largement distribuées en Algérie et possèdent un potentiel infectieux non négligeable. En effet les travaux de [11,12] ont montré que les espèces de *Pythium* sont capables d'induire aussi bien la fonte de semis de pré- émergence que celle de post- émergence, chez diverses essences végétales.

Lors de ce travail, nous avons testé l'effet du glyphosate *in vitro* contre des champignons telluriques phytopathogènes (*Fusarium* et *Pythium*). Les résultats obtenus au cours de nos travaux montrent que le glyphosate affecte l'aspect de la colonie fongique et cause une diminution et / ou une inhibition de la croissance mycélienne, selon les concentrations testées (0.5 - 1 - 1.5 - 2 mM). La concentration de 2mM paraît inhibitrice pour toutes les souches testées (*F.o - F.o.a -E16 - E 42 - E55* et *E57*). Il a un effet également sur les organes de reproduction, soit en les stimulant soit en les inhibant, selon les concentrations et selon la sensibilité des espèces vis à vis de cet herbicide.

Les résultats obtenus nous permettent de conclure que :

- la concentration de 2 mM de glyphosate inhibe la croissance mycélienne et la production des organes de reproduction sexuée et asexuée des deux genres fongiques testés (*Fusarium* et *Pythium*),
- les souches *E₄₂* et *E₅₅* sont les plus sensibles au glyphosate par rapport aux souches de *Pythium* (*E₁₆* et *E₅₇*).
- Le genre *Fusarium* paraît moins sensible que le genre *Pythium* à cet herbicide.
- Les résultats obtenus lors de ce travail sont fort intéressants et mériteraient d'être complétés par une étude *in vivo* afin de se rapprocher des conditions naturelles où plusieurs facteurs entrent en jeu tels que :
- les colloïdes du sol et les matières organiques qui diminuent la concentration du fongicide par absorption [5];
- la température, l'humidité et le pH du sol qui sont différents de ceux du laboratoire ;
- la présence d'autres microorganismes dans le sol qui interagissent avec les souches expérimentées, les pesticides et le milieu.

REFERENCES

- [1]- Coupland D., Caseley, J.C., Presence of ¹⁴C activity in root exudates and guttation fluid from *Agropyron repens* treated with ¹⁴C labelled glyphosate. *New Phytol.*, 83,(1979),pp 556-560.
- [2]- Gossbard E., Effects of glyphosate on the microflora with reference to the decomposition of treated vegetation and interaction with some plant pathogens. Pages 159-185 in E. Grossbard and D. Atkinson, eds the herbicides glyphosate. Butterworthe, London, (1985).
- [3]- Lévesque C.A., Rahe J.E., Effects of glyphosate on *Fusarium spp*: its influence on root colonization of weeds, propagule density in the

- soil, and crop emergence. *Can. J. of Microbiol.* 33,(1987), pp.321-324.
- [4]- Hendrix J.W., sterols in growth and reproduction of fungi. *Ann. Rev. Phytopath.*, 8, (1970), pp. 111-170.
- [5]- Kawate M.K., Kawate S.C., Ogg A.G & Kraft J. M., Response of *Fusarium solani f. sp. pisi* and *Pythium ultimum* to glyphosate. *Weed Science.*, 40 (1992), pp. 497-502.
- [6]- Ait Kettout. T., Amgoud. M.; Boucenna. B. et Rahmania. F., Effet du glyphosate sur la croissance mycélienne et les organes de reproduction de *Pythium intermedium*. *Journées Techniques Phytosanitaires*. INPV (2001) :pp 242-249.
- [7]- Liu L., Z.K Punja and J.E.Rahe., Altered root exudation and suppression of induced lignification as mechanisms of predisposition by glyphosate of bean root (*Phaseolus vulgaris* L) to colonization by *Pythium* spp. *Physiological and molecular plant pathology*.(1997), 51,111-127
- [8]- Meriles J.M; Vargas Gil S; Haro R.J; March G.J; Guzman C.A. Glyphosate and previous crop residue effect on deleterious and beneficial soil-borne fungi from a peanut-corn-soybean rotation. *J.Phytopathol* .(2006),151,n°5;309-316.
- [9]- Cochran V.W., pages 377-380 in *Physiology of fungi*. John wiley & sons, New yourk, (1958).
- [10]- Sanogo S. Yang X.B and H.Scherm .Effects of herbicides on *Fusarium solani f.sp.glycine* and development of sudden death syndrome in glyphosate-tolerant soybean. *Phytopathol* (2000), 90: 57-66.
- [11]- Amgoud. M., Boucenna B. Ait kettout T et Rahmania F. Recherche de microorganismes antagonistes aux *Pythium* : Agent de fonte de semis et pourriture de racine. *Journées Techniques Phytosanitaires*. INPV (2001) :pp
- [12]- Boucenna. B. Ait kettout T. Amgoud. M. et Rahmania F.Essais de contrôle de *Pythium aphanidermatum* par *Bacillus sp.* *Journées Techniques Phytosanitaires*. INPV (2001), pp.203-241.

