

Activité antifongique *in vitro* du phoséthyl-Al sur quelques souches de *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold

Amina OUAZZANI TOUHAMI¹, Allal DOUIRA¹ ✦, Rachid BEN KIRANE¹,
Najib GMIRA¹, Naima KHETTABI² & Nour Eddine EL HALOUI¹

(Reçu le 05/4/1994 ; Accepté le 17/10/1994)

مقاومة الفوزيتيل ضد الفطريات في وسط مختبري ضد بعض فصائل (*Verticillium*)

إن تأثير الفوسفونات و هو مستقلب نشيط للفوزيتيل أليمينوم يعدل بتركيب الأوساط الزراعية. ففي الوسط الطبيعي (crisomalt) يكون هذا التأثير تجاه *Verticillium albo-atrum* أكثر حدة منه في الوسط التركيبي لـRibeiro. إضافة الفوسفات إلى الوسط الزراعي تخفف من فعالية الفوسفونات. وقد لاحظنا أن سلالات *Verticillium* المضرة بالطماطم تكون دائما أكثر حساسية للفوزيتيل أليمينوم.

الكلمات المفتاحية : فوسفونات - فوسفات - *Verticillium albo-atrum* - طماطم.

Activité antifongique *in vitro* du phoséthyl-Al sur quelques souches de *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold

La fongitoxicité du phosphonate, métabolite actif du phoséthyl-Al est modulée par la composition des milieux de culture. Sur le Cristomalt (milieu naturel) la toxicité du phosphonate vis-à-vis du *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, forme à microscélrotés, est beaucoup plus grande que sur le Ribeiro (milieu synthétique). L'addition du phosphate au milieu de culture abaisse l'efficacité du phosphonate. Ce sont toujours les souches de *Verticillium* pathogènes sur la tomate, qui sont les plus sensibles au phoséthyl-Al.

Mots clés: *Verticillium albo-atrum* - Phosphonate - Phosphate -Tomate

In vitro antifungal activity of fosetyl-Al on several strains of *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold

Toxicity of phosphonate, the active breakdown product of the fosetyl-Al, is modulated by culture media composition. On the Cristomalt (natural medium), phosphonate toxicity against *Verticillium albo-atrum* Reinke & Berthold, microsclerotial form, is higher than in synthetic media (Ribeiro). Phosphate is the main constituent of culture medium which modifies phosphonate fungitoxicity. Strains of *Verticillium*, pathogenic on tomato, are always more sensitive to fosetyl-Al.

Key Words: *Verticillium albo-atrum* - Phosphonate - Phosphate - Tomato

¹ Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences de kénitra, Université Ibn Tofail, Maroc

² Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences de Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc

✦ Auteur correspondant

INTRODUCTION

Le phosphonate est le métabolite actif du phoséthyl-Al, fongicide systémique. Son comportement est différent de celui des fongicides à action directe : il perturbe discrètement le métabolisme des agents pathogènes et conduit à une hyperproduction de métabolites secondaires éliciteurs des réactions de défense des plantes (Bompeix *et al.*, 1981; Saindrenan *et al.*, 1990).

Si les Oomycètes sont actuellement les plus concernés par l'utilisation des phosphonates, la lutte contre les champignons supérieurs (dont le *Verticillium* agent de la verticilliose) pourrait bénéficier de l'usage de ce type de composés.

Comme le phosphonate et le phosphate possèdent le même système de transport (Barchietto *et al.*, 1989), la variabilité de la composition du milieu apparaît importante non seulement pour la croissance des microorganismes, mais aussi pour l'absorption du phosphonate. L'influence du milieu a été déjà signalée par Guest (1984a) à propos de l'action *in vitro* du phoséthyl-Al sur *Pythium*.

La comparaison de plusieurs milieux de cultures (naturels ou synthétiques) est susceptible de fournir des informations concernant les facteurs dominants de la modulation de l'activité antifongique du phosphonate.

Ce travail a pour but de contribuer à la connaissance de l'effet du phoséthyl-Al sur des souches de *Verticillium albo-atrum*, forme à microsclérotés, de pouvoir pathogène différent.

Le phoséthyl-Al est un produit qui n'a jamais été testé sur le *Verticillium*. Son étude se fait sur la croissance qui représente un des modes de multiplication du champignon le plus couramment rencontré.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Phoséthyl-Aluminium

Ce fongicide contient 80% de matière active (phosphonate); il est présenté sous forme de poudre mouillable, et commercialisé par la société Rhône-Poulenc sous l'appellation Aliette R.

2. Milieux de culture

Les milieux utilisés sont de 2 types :

- milieu complet: Cristomalt (Extrait de Malt: 10 g, Agar: 15 g, 1000 ml d'eau distillée) ;
- milieux artificiels : Ribeiro riche modifié (Ribeiro, 1978) et carencé en phosphate.

3. Souches de *Verticillium*

Dix souches de *Verticillium albo-atrum*, forme à microsclérotés, ont été utilisées (Tableau 1) :

- 7 souches pathogènes sur tomate "variété Marmande" (4, 214, 15x, 12e, 12z, 142 et 27): inoculées à la tomate, elles peuvent être réisolées de tous les niveaux des plantes contaminées et induisent des symptômes de la verticilliose, notamment un ralentissement de la croissance de l'axe aérien et des altérations foliaires importantes.
- 3 souches non pathogènes sur tomate (1-2, 10a et 15v): inoculées à la tomate, elles sont capables de pénétrer et de s'installer dans les racines, l'hypocotyle et l'épicotyle des plantes contaminées, mais elles sont incapables d'induire des symptômes typiques de la verticilliose.

Tableau 1. Liste des isolats de *Verticillium* testés

N° de collection	Hôte	Provenance
4	tomate	Mohammadia
214	tomate	Bouknadel
15X	tomate	Bouknadel
12e	tomate	Bouknadel
12Z	piment	Méknès
142	piment	Méknès
27	tomate	Bouknadel
1-2	tomate	Méknès
10a	tomate	Méknès
15v	tomate	Méknès

4. Culture en milieu solide

On a utilisé les milieux Cristomalt et Ribeiro. Le premier est tamponné par 5,3 g/l et le second par 7,8 g/l d'acide 2 (N-morpho lino) éthane sulfonique (MES). Le pH est ajusté à 6,5 par NaOH à 10N. L'addition du phoséthyl-Al est effectuée avant la stérilisation.

Chaque boîte de Pétri d'un diamètre de 9 cm contenant 20 ml de milieu de culture estensemencée avec un explant de 5mm de diamètre. L'explant est prélevé dans une culture âgée de 8 jours, réalisée sur le même milieu. L'incubation se fait à 25°C et à l'obscurité. Le pourcentage d'inhibition (I) est calculé selon la formule suivante:

$$I = \frac{X_i - Y_i}{X_i} \cdot 100$$

X_i représente la croissance linéaire sur le milieu témoin et Y_i représente celle sur le milieu avec le phoséthyl-Al.

Chaque essai est répété 20 fois. Les mesures sont effectuées du 1er au 6ème jour et du 6ème au 12ème jour, après avoir déposé l'explant de *Verticillium* sur le milieu de culture.

5. Culture en milieu liquide

L'évaluation de l'effet du phoséthyl-Al sur la croissance pondérale est effectuée sur le milieu Ribeiro liquide. Des erlenmeyers de 250 ml contenant 100 ml de milieu sont ensemencés avec 3 explants de 5mm de diamètre obtenus comme décrit ci-dessus. Les cultures sont ensuite maintenues à 25°C et à l'obscurité, en conditions statiques pendant 7 jours avant chaque prélèvement. Le mycélium est ensuite séparé du milieu de culture par filtration sous vide. La croissance mycélienne est déterminée, sur 10 répétitions, par l'augmentation du poids sec, mesuré après passage dans une étuve à 70°C pendant 48 h. Le calcul du pourcentage d'inhibition est effectué selon le même principe que pour la croissance linéaire.

6. Effet du phosphate

Les milieux utilisés sont: Ribeiro complet (avec 7,3 mM de phosphate) et Ribeiro carencé (avec 0,33 mM de phosphate). Le phosphate est testé en

ajoutant aux milieux KH_2PO_4 . Le phoséthyl-Al est ajouté à différentes concentrations.

7. Calculs des CI50 et CI90

La fongitoxicité est testée en mesurant la croissance du mycélium sur le milieu de culture contenant le fongicide à diverses concentrations. L'inhibition de croissance, par rapport à la même souche non traitée, est déterminée.

L'inhibition de la croissance en fonction du logarithme de la concentration du fongicide permet de donner des droites à partir desquelles la CI 50 et la CI 90 sont calculées. La CI 50 est la concentration réduisant de moitié la croissance linéaire du champignon. La CI 90 correspond à la concentration du fongicide réduisant la croissance linéaire du champignon de 90%.

RÉSULTATS

Dans les tableaux 2 et 3, sont présentés l'effet du phoséthyl-Al sur la croissance linéaire de 10 souches de *Verticillium* cultivées sur milieu Cristomalt.

On constate tout d'abord que le pourcentage d'inhibition n'est pas constant en fonction du temps, mais diminue pendant l'incubation (1er-6ème jour et 6ème-12ème jour) chez les souches 214, 27, 4, 12e, 10a, 1-2, 15v et 15x. Ce phénomène est inverse pour la souche 12z.

Tableau 2. Pourcentage d'inhibition de la croissance linéaire de 10 souches de *Verticillium* par le phoséthyl-Al à 5 concentrations différentes sur milieu Cristomalt

S*1 ^{er} au 6 ^{ème} jour.....				6 ^{ème} au 12 ^{ème} jour.....				
Concentration en ppm.....				Concentration en ppm.....				
	100	1000	2000	3000	5000	100	1000	2000	3000	5000
4	5,8±0,3 a	100 b	100 b	100 b	100 b	11,6±1,4 a	78,9±0,3 b	100 c	100 c	100 c
214	16,6±2,1 a	100 b	100 b	100 b	100 b	14,9±3,4 a	71,9±1,6 b	100 c	100 c	100 c
15X	9,2±6,6 a	100 b	100±0,0 b	100 b	100 b	17,4±1,5 a	74,1±0,5 b	78,5±0,1 c	100 d	100 d
12e	3,8±3,6 a	100 b	100 b	100 b	100 b	22,8±3,6 a	45,3±1,3 b	100 c	100 c	100 c
12Z	15,5±1,3 a	54,7±0,1 b	100 c	100 c	100 c	20,8±0,7 a	72,3±1,0 b	100 c	100 c	100 c
142	4,7±0,4 a	71,1±0,4 b	100 c	100 c	100 c	2,3±0,7 a	66,9±1,0 b	88,3±2,8 c	100 d	100 d
27	10,3±2,2 a	50,4±2,1 b	100 c	100 c	100 c	8,4±3,6 a	50,8±2,4 b	75,1±0,7 c	79,8±0,8 d	100 e
1-2	31,4±1,4 a	46,1±0,4 b	50,6±0,4 c	56,1±0,7 d	59,3±1,0 e	36,9±3,0 a	55,8±0,7 b	63,6±0,4 c	66,3±0,6 d	70,0±1,0 e
10a	10,2±0,9 a	28,0±1,5 b	34,8±2,0 c	47,7±5,1 d	49,8±7,0 d	6,0±0,5 a	12,6±0,4 b	17,6±0,4 c	39,9±0,7 d	42,1±1,1 e
15v	10,5±1,0 a	16,9±0,6 b	21,2±0,7 c	33,0±2,3 d	38,2±3,0 e	14,5±0,7 a	18,5±0,4 b	21,2±0,2 c	23,0±0,2 d	26,5±0,4 e

*S : Souche

Sur chaque ligne, deux résultats (dans un même temps et à des concentrations différentes) sont significatifs (seuil 5%) s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun

Tableau 3. CI50 et CI90 et stabilité dans le temps de l'effet du phoséthyl-Al vis-à-vis de différentes souches de *Verticillium* sur milieu Cristomalt

Les CI 50 et CI 90 sont exprimées en ppm

Souche	CI 50	CI 90	Stabilité
4	270,42	1043,15	diminue
214	298,86	1152,86	diminue
15x	244,69	1096,63	diminue
12e	270,42	1043,15	diminue
12z	353,00	1582,35	augmente
142	492,75	1998,20	diminue
27	632,70	4023,87	diminue
1-2	812,40	>5000	diminue
10a	1040,45	>5000	diminue
15v	>5000	>5000	diminue

Ainsi, bien que le pourcentage d'inhibition de la croissance des souches 10a et 15v n'atteint pas 50% pour une concentration en phoséthyl-Al de l'ordre de 5 000 ppm, la croissance linéaire des souches 12e, 214, 15x, 4, 12z et 142 est arrêtée au 6ème jour pour une concentration de 1000 ppm.

Si on compare la croissance linéaire de ces souches à un temps donné (12ème jour), le pourcentage d'inhibition de 10a, 15v et 12e, à 1 000 ppm est de 12,6%, 18,5% et 45,3% respectivement et dépasse 50% pour les autres souches.

À la concentration de 2000 ppm de phoséthyl-Al, la croissance linéaire de 12e, 214, 4 et 12z est complètement arrêtée alors que les pourcentages d'inhibition pour les souches 10a, 15v, 1-2, 27, 15x et 142 sont 17,6%, 21,1%, 63,6%, 75,1%, 78,5% et 88,3% au 12ème jour. Aux concentrations plus élevées (3 000 et 5 000 ppm), la croissance des souches 15x et 142 est arrêtée et seules les souches non pathogènes 10a, 1-2 et 15v présentent une meilleure résistance (inhibition < 70%). Les CI 90 de ces souches sont supérieures à 5 000 ppm alors que celles des souches pathogènes sont inférieures à cette concentration (Tableau 3).

Les tableaux 4 et 5 représentent le comportement des souches de *Verticillium* vis-à-vis du phoséthyl-Al en fonction du temps sur du milieu Ribeiro carencé solide et non carencé.

Tableau 4. Pourcentage d'inhibition de la croissance linéaire de 10 souches de *Verticillium* en présence de phoséthyl-Al à 5 concentrations différentes sur milieu Ribeiro carencé

S*	1er au 6ème jour.....					6ème au 12ème jour.....				
	Concentration en ppm.....					Concentration en ppm.....				
	100	1000	2000	3000	5000	100	1000	2000	3000	5000
4	26,6 ± 0,9 a	49,2 ± 1,6 b	60,9 ± 1,1 c	100 d	100 d	35,0 ± 2,8 a	61,8 ± 0,9 b	72,5 ± 0,6 c	84,3 ± 0,4 d	100 e
214	51,4 ± 1,4 a	100 b	100 b	100 b	100 b	42,4 ± 0,7 a	76,4 ± 0,5 b	79,2 ± 0,9 c	83,3 ± 0,4 d	100 e
15X	49,7 ± 0,9 a	100 b	100 b	100 b	100 b	38,9 ± 1,0 a	77,3 ± 0,3 b	77,5 ± 0,5 b	80,7 ± 0,1 c	100 d
12e	16,4 ± 1,6 a	100 b	100 b	100 b	100 b	34,7 ± 2,9 a	78,8 ± 0,4 b	81,1 ± 0,4 c	100 d	100 d
12Z	52,3 ± 1,7 a	66,3 ± 0,6 b	70,6 ± 0,5 c	75,1 ± 0,3 d	100 e	22,4 ± 2,6 a	66,6 ± 2,6 b	77,8 ± 2,7 c	86,6 ± 0,3 d	100 ± e
142	33,1 ± 2,2 a	100 b	100 b	100 b	100 b	38,9 ± 0,6 a	49,4 ± 1,1 b	60,3 ± 0,7 c	78,8 ± 0,6 d	100 e
27	26,5 ± 0,4 a	30,9 ± 0,6 b	65,1 ± 1,3 c	73,6 ± 0,7 d	100 e	24,7 ± 2,8 a	67,3 ± 1,0 b	76,9 ± 0,4 c	86,6 ± 0,5 d	100 e
1-2	28,2 ± 0,7 a	47,9 ± 1,1 b	54,8 ± 0,3 c	59,6 ± 0,1 d	61,2 ± 0,1 e	21,3 ± 3,4 a	32,4 ± 0,4 b	39,2 ± 0,6 c	44,1 ± 0,3 d	46,2 ± 0,3 d
10 a	32,8 ± 1,3 a	54,6 ± 0,6 b	63,7 ± 0,2 c	70,5 ± 0,4 d	77,2 ± 0,4 e	24,8 ± 0,4 a	44,8 ± 1,4 b	57,6 ± 0,5 c	68,8 ± 0,5 d	73,4 ± 0,9 e
15v	27,0 ± 1,1 a	37,9 ± 0,3 b	46,2 ± 1,4 c	61,7 ± 1,5 d	65,5 ± 1,6 e	15,8 ± 1,6 a	33,7 ± 0,6 b	40,7 ± 0,1 c	51,7 ± 0,4 d	56,5 ± 0,4 e

Tableau 5. Pourcentage d'inhibition de la croissance linéaire de 10 souches de *Verticillium* en présence de phoséthyl-Al à 5 concentrations différentes sur milieu Ribeiro complet

S*	1er au 6ème jour.....					6ème au 12ème jour.....				
	Concentration en ppm.....					Concentration en ppm.....				
	100	1000	2000	3000	5000	100	1000	2000	3000	5000
4	8,5 ± 0,1 a	13,5 ± 0,1 b	25,1 ± 1,1 c	35,8 ± 2,1 d	37,5 ± 2,5 d	3,6 ± 0,2 a	10,7 ± 0,5 b	18,4 ± 1,4 c	25,5 ± 0,4 d	26,8 ± 0,4 d
214	5,0 ± 0,7 a	9,6 ± 1,1 b	23,6 ± 3,0 c	34,9 ± 0,8 d	37,5 ± 0,9 e	11,8 ± 0,4 a	15,5 ± 0,4 b	21,9 ± 0,3 c	30,5 ± 0,1 d	30,5 ± 0,6 d
15X	17,8 ± 0,1 a	36,0 ± 0,6 b	41,3 ± 0,6 c	45,7 ± 0,7 d	47,2 ± 0,9 d	22,8 ± 1,4 a	39,1 ± 1,0 b	47,0 ± 0,4 c	52,7 ± 0,7 d	55,2 ± 1,0 e
12e	8,6 ± 0,8 a	18,1 ± 1,2 b	25,2 ± 0,5 c	39,6 ± 0,6 d	42,2 ± 0,6 e	6,2 ± 0,2 a	9,3 ± 0,2 b	13,0 ± 0,3 c	18,5 ± 0,4 d	19,0 ± 0,4 d
12Z	5,4 ± 0,8 a	11,2 ± 0,7 b	17,2 ± 0,6 c	27,0 ± 1,3 d	28,2 ± 1,4 d	13,6 ± 0,1 a	23,7 ± 0,5 b	29,8 ± 1,0 c	36,0 ± 0,3 d	37,5 ± 0,4 d
142	7,2 ± 0,6 a	12,6 ± 0,7 b	23,6 ± 0,4 c	29,1 ± 1,0 d	31,5 ± 1,4 e	2,9 ± 0,3 a	6,9 ± 0,2 b	10,6 ± 0,7 c	17,6 ± 0,7 d	18,0 ± 0,9 d
27	10,8 ± 0,5 a	20,4 ± 0,6 b	25,7 ± 0,1 c	28,6 ± 0,1 d	30,5 ± 0,2 d	8,4 ± 0,1 a	13,7 ± 0,2 b	17,9 ± 0,4 c	23,6 ± 0,2 d	25,6 ± 0,2 d
1-2	4,5 ± 0,8 a	9,9 ± 0,5 b	18,8 ± 0,4 c	22,8 ± 0,4 d	24,5 ± 0,5 e	4,8 ± 1,1 a	18,4 ± 1,3 b	22,5 ± 0,7 c	26,2 ± 0,3 d	28,5 ± 0,4 e
10a	9,5 ± 0,5 a	10,8 ± 0,3 b	13,9 ± 0,9 c	17,6 ± 0,8 d	18,5 ± 0,9 d	8,6 ± 0,3 a	11,4 ± 0,4 b	13,4 ± 0,7 c	17,0 ± 0,5 d	18,2 ± 0,6 d
15v	3,9 ± 1,2 a	10,1 ± 0,5 b	13,3 ± 0,4 c	19,3 ± 0,3 d	20,5 ± 0,5 d	9,0 ± 0,5 a	18,1 ± 0,5 b	22,7 ± 0,4 c	30,3 ± 1,2 d	30,9 ± 1,2 d

* S = souche

Sur chaque ligne, deux résultats (dans un même temps et à des concentrations différentes) sont significatifs (seuil 5%) s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun

L'action du phoséthyl-Al sur milieu Ribeiro complet est relativement stable chez la souche 10a, augmente chez 15x, 12z et 1-2, et diminue chez 4, 214, 12e, 142, 27 et 15v, alors que sur milieu Ribeiro carencé, elle diminue chez les souches 4, 214, 12e, 142, 1-2, 10a et 15v et augmente seulement chez 12z et 27.

Dans le cas du milieu Ribeiro carencé solide, l'effet du phosphate sur l'activité du phoséthyl-Al peut être constaté, comme l'indiquent les tableaux 4 et 5. En présence de 3 000 ppm de phoséthyl-Al, le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de la souche non pathogène 1-2 par exemple est de l'ordre de 26,2% et 44,1% pour les milieux non carencés (7,35 mM de phosphate) et carencé (0,33 mM de phosphate) respectivement. À

la même concentration, l'inhibition de la croissance de la souche pathogène 214 passe de 30,5% sur un milieu non carencé à 83,3% sur un milieu carencé. Les CI 50 calculées pour les différentes souches sont inférieures à 5 000 ppm sur le milieu Ribeiro carencé en phosphate mais dépassent cette concentration sur le milieu Ribeiro complet (Tableau 6).

Pendant, en milieu liquide l'inhibition de la croissance pondérale se manifeste de façon plus spectaculaire (Tableau 7).

Ainsi, les pourcentages d'inhibition de la souche non pathogène 1-2 pour la même concentration en phoséthyl-Al (3000 ppm) et phosphate (7,35 et 0,33 mM) sont respectivement de 46,5% et 96% sur

Tableau 6. CI50 et CI90 et stabilité dans le temps de l'effet du phoséthyl-Al vis-à-vis de différentes souches de *Verticillium* sur milieu Ribeiro carencé en phosphate et milieu Ribeiro complet

SoucheMilieu Ribeiro carencé en phosphate.....		Milieu Ribeiro complet.....		
	C.150	C.190	stabilité	C.150	C.190	stabilité
4	544,57	2200	diminue	>5000	>5000	diminue
214	127,74	1719,86	diminue	>5000	>5000	diminue
15x	156,02	2100,64	diminue	4023,87	>5000	augmente
12e	244,69	1152,85	diminue	>5000	>5000	diminue
12z	181,27	>5000	augmente	>5000	>5000	augmente
142	403,42	2321,57	diminue	>5000	>5000	diminue
27	1900,74	>5000	augmente	>5000	>5000	diminue
1-2	3133,79	>5000	diminue	>5000	>5000	augmente
10a	854,06	>5000	diminue	>5000	>5000	stable
15v	699,24	>5000	diminue	>5000	>5000	diminue

Les CI 50 et CI 90 sont exprimées en ppm

Tableau 7. Pourcentage d'inhibition de la croissance pondérale de 10 souches de *Verticillium* en présence de phoséthyl-Al à 5 concentrations différentes sur 2 milieux liquides Ribeiro complet et Ribeiro carencé

S*Ribeiro complet (7,3 mM).....				Ribeiro carencé (0,33 mM).....				
Concentration en ppm.....				Concentration en ppm.....				
	100	1000	2000	3000	5000	100	1000	2000	3000	5000
4	23,7 ± 1,4 a	26,9 ± 3,5 a	36,2 ± 2,3 b	48,4 ± 2,6 c	60,6 ± 3,0 d	52,1 ± 2,9 a	66,4 ± 0,4 b	69,8 ± 0,7 c	100 d	100 d
214	50,6 ± 0,2 a	58,1 ± 0,2 b	66,6 ± 0,7 c	71,4 ± 0,4 d	100 e	78,9 ± 1,0 a	85,4 ± 0,7 b	85,5 ± 1,2 b	100 c	100 c
15X	37,7 ± 5,1 a	53,1 ± 2,3 b	75,5 ± 3,2 c	88,7 ± 0,5 d	100 e	66,7 ± 0,7 a	72,2 ± 0,5 b	79,5 ± 0,1 c	100 d	100 d
12e	54,3 ± 0,8 a	62,5 ± 0,4 b	64,5 ± 0,2 c	78,8 ± 1,5 d	100 e	76,3 ± 2,3 a	77,7 ± 2,6 a	88,6 ± 0,5 b	100 c	100 c
12Z	64,2 ± 2,3 a	75,6 ± 0,1 b	85,0 ± 0,6 c	88,1 ± 1,4 d	100 e	84,9 ± 0,3 a	86,4 ± 0,1 b	88,4 ± 0,6 c	100 d	100 d
142	27,2 ± 3,0 a	44,0 ± 0,4 b	48,5 ± 0,4 c	56,2 ± 0,9 d	63,8 ± 0,9 e	77,8 ± 0,4 a	79,6 ± 0,1 b	83,2 ± 0,3 c	100 d	100 d
27	30,4 ± 1,9 a	49,6 ± 1,2 b	70,3 ± 1,5 c	79,7 ± 2,3 d	88,7 ± 2,5 e	77,9 ± 0,2 a	83,0 ± 1,1 b	84,6 ± 0,4 c	100 ± 0,6 d	100 d
1-2	18,1 ± 7,1 a	36,5 ± 0,5 b	41,9 ± 0,8 c	46,5 ± 1,1 d	51,9 ± 2,5 e	28,2 ± 0,2 a	66,7 ± 1,1 b	78,6 ± 1,2 c	96,0 ± 1,1 d	98,1 ± 6,8 d
10a	18,2 ± 2,8 a	35,0 ± 1,2 b	46,5 ± 1,1 c	65,8 ± 1,5 d	85,1 ± 3,9 e	28,9 ± 3,6 a	40,9 ± 0,3 b	62,8 ± 3,5 c	89,0 ± 2,1 d	95,4 ± 3,8 e
15v	12,9 ± 3,2 a	30,8 ± 1,1 b	39,2 ± 2,1 c	48,9 ± 0,7 d	58,6 ± 0,6 e	53,5 ± 0,4 a	71,0 ± 0,3 b	78,1 ± 0,6 c	85,0 ± 0,3 d	91,9 ± 0,4 e

* S = souche

Sur chaque ligne, deux résultats (dans un même temps et à des concentrations différentes) sont significatifs (seuil 5%) s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

le milieu non carencé et carencé. De même, les pourcentages d'inhibition de la souche pathogène 214 pour la même concentration (3 000 ppm) sont respectivement de l'ordre de 71,4% et 100% pour les milieux non carencés et carencés. Ainsi ce sont toujours les souches non pathogènes qui semblent être les moins perturbées par le phoséthyl-Al.

DISCUSSION

Le phoséthyl-Al présente un comportement particulier selon les milieux de cultures employés. Sur le milieu Cristomalt et Ribeiro, pour un grand nombre de souches de *Verticillium*, l'efficacité du phoséthyl-Al diminue en fonction du temps. Elle est relativement stable et augmente au cours du temps pour d'autres. Cette différence semble être due à la nature du milieu de culture utilisé et à la souche de *Verticillium* testée.

Par comparaison des CI 50 et CI 90 sur le milieu synthétique (Ribeiro carencé ou non), on a constaté que les souches pathogènes sont beaucoup plus sensibles que les souches non pathogènes.

La même observation a été faite également sur le milieu naturel (Cristomalt) : les pourcentages d'inhibition sont beaucoup plus forts sur le Cristomalt que sur les milieux Ribeiro carencé et non carencé.

Cela montre que l'action du phosphonate dépend du milieu et de la souche de *Verticillium* considérée. Guest (1984a) signale que le phoséthyl-Al présente des activités très différentes vis-à-vis de *Pythium ultimum* dans les milieux PTG (Potato Thiamine Glucose), PVG (Potato Vegimite Glucose), Christie CV (Christie's Vegemite) et de R C D (Red Capsicum Diffusate).

Guest (1984a) a montré également que plusieurs nutriments, comme le glucose, la tyrosine, peuvent moduler l'activité du phoséthyl-Al.

Si on compare les 2 milieux de culture (Ribeiro et Cristomalt) (Tableau 8), on peut remarquer de grandes différences en sources d'azote, source de carbone, et d'éléments minéraux comme le calcium et le magnésium. Ces facteurs paraissent influencer la modulation de l'action du phosphonate.

L'effet plus intense de l'action du phosphonate en milieu liquide par rapport au milieu solide montre une autre fois la relativité des mesures de la

fongitoxicité de cette molécule. La présence de gélose diminue donc l'activité du fongicide.

Ce résultat est en accord avec celui de Ram (1973) et de Ko & Chan (1976) qui ont montré que la gélose diminue l'effet inhibiteur du sulfate de cuivre sur la germination des spores de *Alternaria solani*.

Tableau 8. Comparaison de la composition nutritive des milieux Ribeiro et Cristomalt

	Ribeiro	Cristomalt
Sucre	glucose (10 g/l)	glucose (9,3 g/l) maltose, dextrine
N	asparagine (0,1 g/l) KNO ₃ (0,15 g/l)	protide (0,52g/l)
P	7,35 mM	2 mM
Mg	2 mM	1,13 mM
Ca	0,68 mM	0,38 mM
Fe	0,0018 mM	0,02 mM
S	2 mM	0,67 mM
Microéléments	Zn	-
	Cu	-
	Mo	-
	Mn	-
	B	-
Thiamine	oui	non
Vitamine	-	vit B1, B2
MES	7,8 g/l	5,3 g/l
pH	6,5	6,5

Le phosphonate exerce une action antagoniste de celle du phosphate. Cet antagonisme peut être dû à une interaction entre ces deux anions au niveau du transport.

En effet, le phosphonate est absorbé par les *Phytophthora* grâce à deux systèmes de transport, l'un à faible affinité et l'autre à forte affinité (Barchietto *et al.*, 1988). Ce mécanisme est voisin de celui concernant le phosphate chez les champignons (Blasco *et al.*, 1976; Burns et Beaver, 1977; Borst-Pauwel, 1981), les bactéries (Rosenberg *et al.*, 1977) et les chlorelles (JeanJean *et al.*, 1972).

Vis-à-vis du phoséthyl-Al, deux catégories de souches de *Verticillium* sont à distinguer:

- Celles considérées comme sensibles ont des pourcentages d'inhibition de la croissance linéaire supérieurs à 70%, pour une concentration de l'ordre de 3 000 ppm. On y rencontre la majorité

des souches pathogènes vis-à-vis de la tomate. La concentration 3 000 ppm inhibe de 80% à 100% la croissance linéaire de certaines souches de *Phytophthora palmivora* et de *Phytophthora heveae* (Phycomycète) (Darakis *et al.*, 1985; Rosmana, 1990) et de certaines souches de *Pyricularia oryzae* (Ascomycète) (Douira *et al.*, 1993). Ce résultat montre que certaines Ascomycètes ont la même sensibilité vis-à-vis du phoséthyl-Al que certaines Phycomycètes. Malgré la faible sensibilité de *Nectria haematococca* au phosphonate (Barchietto, 1989), certains auteurs, admettent que le spectre du phoséthyl-Al est large et concerne un grand nombre de maladies occasionnées par les Ascomycètes tel que *Colletotrichum lindemuthianum* (Abu Jawda, 1981) et *Phomopsis Viticola* (Bugaret *et al.*, 1980)

- Les souches considérées comme résistantes ont des pourcentages d'inhibition de la croissance linéaire inférieurs à 60%, pour une concentration de l'ordre de 3 000 ppm. Dans cette catégorie, on trouve les souches non pathogènes vis-à-vis de la tomate.

Il existe donc une relation inverse entre le pouvoir pathogène et la résistance au phosphonate. L'existence de cette relation est très importante et confirme notre approche concernant la possibilité d'utilisation du phoséthyl-Al contre la verticilliose.

RÉFÉRENCES CITÉES

- Abu-Jawdah Y. (1981) Étude de l'effet du phoséthyl-aluminium (Alette) vis-à-vis de l'antrachnose du haricot. *Parasitica* 37, 3-13
- Barchietto T., Saindrenan P. & Bompeix G. (1988). Uptake and utilisation of phosphate ions by *Phytophthora citrophthora* and *Nectria haematococca* in relation to their selective toxicity. *Pestic. Sc.* 22 : 159-167
- Barchietto T., Saindrenan P. & Bompeix G. (1989) Characterization of phosphonate uptake in two *Phytophthora spp.* and its inhibition by phosphate. *Phytopathology* 151 : 54-58
- Barchietto T. (1989) Mode d'action d'un anti-Oomycète, l'acide phosphorique, métabolite actif du tri-éthylphosphonate d'aluminium. Thèse de Doctorat de l'Université Paris-Sud, Orsay, France
- Blasco F. Ducet G. & Azoulay E. (1976) Mise en évidence de 2 systèmes de transport du phosphate chez *Candida tropicalis*. *Biochimie* 58 : 351-357
- Bompeix G., Fettouche F. & Saindrenan P. (1981) Mode d'action du phoséthyl-Al. *Phytiatr. Phytopharm.* 30 : 257-272
- Borst-Pauwels G.W.F.H. (1981) Ion transport in yeast. *Biophys. Acta* 650 : 88-127
- Bugaret Y., Eutit J. & Lafon R. (1980) Amélioration du traitement de l'excoriose de la vigne (*Phomopsis viticola* sacc.) par l'utilisation en post débourement de la vigne de l'association de phoséthyl-Al et de folpel. *Phytiatr. Phytopharm.* 29 : 45-56
- Burns D.J.W & Beever R.E., (1977) Kinetic characterization of the two phosphate uptake systems in the fungus *Neurospora crassa*. *J. Bacteriol.* 132 : 511-518
- Darakis G., Blizoua-Bi P., Barchietto T., Renard J.L., Saindrenan P. & Bompeix G. (1985) Distribution du phoséthyl-Al dans les tissus de cocotier après traitement: hypothèse sur son mode d'action sur le *Phytophthora heveae*. *Proceedings of the Bordeaux Mixture Centenary meeting, British Crop Protection council croydon* 2 : 273-276
- Douira A., El Oirdi M., Benkirane R., El Khattabi N. & El Haloui N.E. (1993) Étude de l'efficacité *in vitro* de quelques fongicides sur la croissance de différentes souches de *Pyricularia oryzae*. *Premières journées nationales de Protection des plantes*, Rabat, 1-7 décembre
- Guest D.I. (1984a) The influence of cultural factors on the direct antifungal activities of fosethyl-Al, propa mocarb, metalaxyl, SN 75196 and Dowco 444. *Phytopathol. Z.* 111 : 155-164
- Jean Jean R., Gaudin C. & Blasco F., (1972). Mécanismes d'absorption de l'ion phosphate par les chlorelles: Influence de pH. *C. R. Acad. Sc., Paris* 275 : 1119-1121
- Ko W.H. & Chan R. (1974) Infection and colonization potential of sporangia; zoospores and chlamydospores of *Phytophthora palmivora* in soil. *Phytopathology* 64 : 1307-1309
- Ram A. (1973) Screening of fungicides against *Phytophthora palmivora* Bult *in vitro*. *Rev. Theobroma.* 3 : 14-21
- Ribeiro O.K. (1978) A source book of the genus *Phytophthora*. *J. Cramer, Vaduz*, pp. 95-96
- Rosenberg H., Gerdes R.G. & Chegwiddden K. (1977) Two systems for the uptake of phosphate in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 131 : 505-511

Rosmana M.A. (1990) Modulation *in vitro* de l'activité antifongique de l'acide phosphonique sur *Phytophthora hevea* et *Phytophthora palmivora*. Thèse de Doctorat de l'Université Paris 6

Saindrenan P. (1990) Modulation par les phosphonates de l'interaction plante-*Phytophthora spp.* Thèse de Doctorat d'Etat ès-Sciences Naturelles de l'Université Pierre et Marie Curie, Paris, France