

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE BLIDA 1
FACULTE DE SCIENCE DE LA VIE ET DE LA NATURE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme Master 2 académique en science de la vie et de la nature

Option : Biologie Des Interactions Des Plantes-Microorganismes

THEME

**Activités antagonistes de
Pseudomonas spp. fluorescents et de *Trichoderma* vis-à-vis
des formes spéciales (*lini* et *lycopersici*) de *Fusarium
oxysporum***

Soutenu devant le jury :

Présenté par :

Présidente : Mme. Bouchenak. F.
Promoteur : Pr. Benchabane. M.
Examinatrices: Mme. Ammad. F.
Mme .Benoussaid. F.

Mme. ZIDANE Aicha

Promotion: 2013/2014

REMERCIEMENTS

J'adresse mon plus profonde reconnaissance et mon entière gratitude à mon promoteur Monsieur le **Pr. BENCHABANE Messaoud** de m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la rédaction de ce travail, je le remercie pour ses bons conseils et engagements.

C'est avec un grand honneur que j'adresse mes vifs remerciements et mon profond respect aux membres du jury, en dépit de leurs charges, ont bien voulu accepter d'honorer de leur présence et d'examiner mon travail :

- **Mme .F. BOUCHENAK**
- **Mme. F. AMMAD**
- **Mme. N. BENOUSAID**

Notre gratitude ira également au personnel du laboratoire de Mycologie et Microbiologie, en particulier à **FADIL Djamila** ingénieur du laboratoire de Mycologie pour sa disponibilité et ses encouragements durant toute l'expérimentation,

Je ne saurai oublier de remercier tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à la réalisation de ce travail, et toute personne qui m'a éclairé le chemin.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

- *A mes très chers **parents** idéals qui mon offert leur courage, leur patience avec beaucoup d'amour pour tracer mon chemin dans la vie.*

- *A mon mari : **RACHID***
- *A ma fille **Lylia***
- *A mes très chers frères : **Mohamed amine et Charaf-el-dine***
- *A ma très chère sœur : **Sarah***
- *A mes amies : **Ania et Delel***
- *A tous ceux que j'aime.*

النشاطات المضادة لـ *Pseudomonas spp. fluorescents* و *Trichoderma sp.* تجاه
صنفيين *lini* و *lycopersici* من *Fusarium oxysporum*

ملخص

الهدف من هذا العمل هو إبراز التأثيرات و الإمكانيات المضادة لبعض سلالات
Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici و *Pseudomonas spp. fluorescents* تجاه *Trichoderma sp.*
lini العامل المسبب للذبول الفوزاري للكتان، و *F. oxysporum f. sp. lycopersici* العامل المسبب
للذبول الفوزاري للطماطم.

أداء الاختبار في المختبر للنمو القمي للفطريات الخيطية الثلاثة (*Trichoderma sp.*،
oxysporum f. sp. lycopersici و *oxysporum f. sp. lycopersici*) بين نمو قوي وسريع لـ *Trichoderma*
sp. lycopersici مقارنة بالسلالتين الممرضتين لـ *F. oxysporum*، والذي يمكن أن يشارك في قوة الفطر لاستعمار أفضل
للتربة و أنسجة النبات.

أظهرت نتائج المجابهة المباشرة إحداث تأثيرات مضادة من قبل السلالتين (PP و C₇R₁₂)
لـ *Pseudomonas spp. fluorescents* و *Trichoderma sp.* تجاه الصنفيين *lini* و *lycopersici* لـ *F.*
oxysporum. نسبة تثبيط النمو الفطري تصل إلى 75%.

في النبات، أدى تطبيق البكتيريا الجذرية إلى حماية بيولوجية من حيث نسبة الإصابة أو حدة المرض.
في صنف الكتان الأسمر (*Linum usitatissimum var. niagara*) نسب الحماية البيولوجية على التوالي
25% و 19,27%. في صنف الكتان الذهبي (*Linum usitatissimum var. astral*) نسب الحماية
البيولوجية على التوالي 20% و 72,72%.

الكلمات المفتاحية: حماية بيولوجية، تضاد، *Pseudomonas sp.* مشعة، *Trichoderma sp.*،
lini و *oxysporum f. sp. lycopersici*.

Antagonistic activities of fluorescent *Pseudomonas* spp. and *Trichoderma* sp. toward two formae specialis *lini* and *lycopersici* of *Fusarium oxysporum*

Abstract

The objective of this work is to highlight, the effects and the antagonistic potentialities of certain strains of fluorescent *Pseudomonas* spp. and *Trichoderma* sp. toward *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* the causal agent of the fusarium wilt of flax and, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* the causal agent of fusarium wilt of tomato.

The realization of *in vitro* test of the apical growth of the three filamentous fungi (*Trichoderma* sp., *F. oxysporum* f. sp. *lini* and *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) revealed a strong and fast growth of *Trichoderma* sp. compared to the pathogenic strains of *F. oxysporum*, which can be implied in the capacity of this fungus to better colonizing soil and plant tissues.

The results of direct confrontation showed antagonistic effects exerted by the strains (PP) and (C7R12) of fluorescent *Pseudomonas* spp. and *Trichoderma* sp. toward two formae specialis *lini* and *lycopersici* of *F. oxysporum*. The rate of inhibition of the mycelial growth going up to 75 %.

In situ, the application of the two rhizobacteria generated actions of biological control, which it is on the rates of infection or in severity of the disease. With the variety of the brown flax (*Linum usitatissimum* var. *niagara*) the rates of biological control are respectively 25% and 19, 27%. With the variety of the golden flax (*Linum usitatissimum* var. *astral*) the rates are 20% and 72, 72%.

Key words: Biological control, Antagonism, fluorescent *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *lini*,

Activités antagonistes des *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Trichoderma* sp. vis-à-vis des deux formes spéciales *lini* et *lycopersici* de *Fusarium oxysporum*

Résumé

L'objectif de ce travail est de mettre en évidence, les effets et les potentialités antagonistes de certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* l'agent causal de la fusariose vasculaire du lin et, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* l'agent causal de la fusariose vasculaire de la tomate.

La réalisation du test *in vitro* de la croissance fongique des trois champignons filamenteux (*Trichoderma* sp., *F. oxysporum* f. sp. *lini* et *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) a révélé une croissance forte et rapide de *Trichoderma* sp. par rapport aux souches pathogènes de *F. oxysporum*, ce qui peut être impliqué dans le pouvoir de ce champignon à mieux coloniser le sol et les tissus végétaux.

Les résultats de confrontation directe ont montrés des effets antagonistes exercés par les souches (PP) et (C7R12) de *Pseudomonas* sp. fluorescents et de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de deux formes spéciales *lini* et *lycopersici* de *F. oxysporum*. Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne allant jusqu'à 75%.

In situ, l'application des deux rhizobactéries a engendré des actions de biocontrôle, que ce soit sur les taux d'infection ou en sévérité de la maladie. Avec la variété du lin brun (*Linum usitatissimum* var. *niagara*) les taux de biocontrôle sont respectivement de 25% et 19,27%. Avec la variété du lin doré (*Linum usitatissimum* var. *astral*) les taux sont 20% et 72,72%.

Mots clés : Biocontrôle, Antagonisme, *Pseudomonas* spp. fluorescents, *Trichoderma* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f. sp. *lini*,

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
PARTIE 1 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE	
I. ANTAGONISME MICROBIEN.....	3
1. LES <i>PSEUDOMONAS</i> SPP. FLUORESCENTS	4
1.1. ACTIVITES PHYTOBENEFIQUES.....	4
1.1.1. Stimulation de la croissance des plantes	5
1.1.2. Protection des plantes contre les maladies d'origines telluriques	5
1.1.3. Induction de la résistance chez les plantes.....	5
1.2. MECANISMES D'ACTION	6
1.2.1. Compétition trophique	6
1.2.2. Antibiose	7
2. <i>TICHODERMA</i>	10
2.1. TAXONOMIE	10
2.2. MODES D'ACTION	10
2.2.1. Antibiose et métabolites secondaires	11
2.2.2. Mycoparasitisme et production des enzymes lytiques	11
2.2.3. La compétition.....	12
2.2.4. Colonisation racinaire.....	12
2.2.5. Stimulation de la croissance des plantes.....	13
2.2.5. Induction de la résistance chez les plantes	13
LES FUSARIOSES VASCULAIRES DU LIN ET DE LA TOMATES	14
1. <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F.SP.<i>LINI</i>	14
1.1.SYMPTOMATOLOGIE	15
1.2.CYCLE BIOLOQIQUE	16
2. <i>FUSARIUM OXYSPORUM</i> F. SP. <i>LYCOPERSICI</i>	17
2.1.SYMPTOMATOLOGIE	17
2.2.CYCLE BIOLOQIQUE	18
3. LA LUTTE CONTRE LES FUSARIOSES VASCULAIRE.....	19

PARTIE 2 : MATERIELS ET METHODES

1. MATERIELS BIOLOGIQUES	21
2. LE SOL.....	22
3. MATERIEL VEGETAL.....	23
4. ETUDE DE LA CROISSANCE FONGIQUE.....	25
5. ACTIVITE ANTAGONIST <i>IN-VITRO</i>.....	25
6. ANTAGONISME <i>IN SITU</i>	28

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. ETUDE DE LA CRISSANCE FONGIQUE.....	31
2. ACTIVITES ANTAGONISTES VIS-A-VIS DE <i>FUSARIUM</i> <i>OXYSPORUM</i>	33
2.1. INHIBITION DE DA LA CROISSANCE MYCELIENNE	33
2.2.EVOLUTION DE L'ACTIVITE DE <i>TRICHODERMA</i>	39
2.3. ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFET ANTAGONISTE DES SOUCHES DE <i>PSEUDOMONAS</i> ET DE <i>TRICHODERMA SP</i>.....	43
3. ANTAGONISME <i>IN SITU</i>	44
3.1. TAUX D'INFECTION	44
3.2. LA SEVERITE DE LA MALADIE	49
3.3. DISCUSSION.....	51
CONCLUSION.....	53
REFERENCES BIBLIOGRAFIQUES	55

**ANNEXE
RESUME**

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION

La lutte contre les maladies des plantes cultivées, notamment celles causées par les champignons phytoparasites, se base essentiellement sur les techniques de lutte chimique. Ces dernières années, en plus des cas de résistance et de l'inefficacité de certaines formulations chimiques, d'autres soucis écologiques et de santé commencent à marquer les esprits en suscitant un certain nombre de problèmes et d'oppositions (Corbaz, 1990).

En plus de ces problèmes suscités, globalement la lutte chimique est sans efficacité et ne donne pas de réussite dans le cas des maladies vasculaires, et pose encore plus de difficultés lorsque l'agent pathogène est un habitant du sol (Guillaumin et *al.*, 1998). Dans ce même contexte, les fusarioses vasculaires, en plus de leur action systémique, le champignon a la capacité de s'héberger et de se conserver pour de longues périodes dans le sol. Les fusarioses sont connues comme étant des maladies redoutables, affectant de nombreuses espèces végétales et causant des pertes économiquement considérables (Agrios, 2005).

Vis-à-vis de ce genre de pathologies végétales, d'autres alternatives sont proposées, telles que la stimulation des défenses naturelles de la plante, le choix de géotypes tolérants ou résistants et les tentatives de lutte biologique.

Parmi les agents exploités en lutte biologique vis-à-vis des fusarioses vasculaires, les rhizobactéries, ont été reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle (Bloemberg et Lugtenberg, 2001). Les effets des rhizobactéries peuvent non seulement permettre de stimuler la croissance des plantes mais aussi de s'opposer aux agents phytopathogènes (Suslow, 1982; Weller, 1988). Une grande diversité existe parmi les rhizobactéries, mais l'intérêt s'est porté sur les espèces ayant des capacités d'assurer une protection biologique des plantes vis-à-vis d'autres microorganismes phytopathogènes. Ces rhizobactéries phyto-bénéfiques sont classées en deux groupes : les symbiotiques et les non symbiotiques (Jaca, 1970). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents constituent un groupe de bactéries non symbiotique, capable d'assurer des effets positifs sur les plantes. Ces effets sont principalement la phytostimulation, la bioprotection et l'induction de la résistance chez les plantes (Leong, 1986).

La lutte contre les fusarioses vasculaires peut être menée aussi en utilisant des souches de *Trichoderma* sp, sélectionnées pour leurs activités antagonistes contre les formes spéciales pathogènes (Mouria, 2007).

Introduction

Trichoderma harzianum et *Trichoderma viridae* sont des agents antagonistes ayant démontré un bon potentiel de biocontrôle. Leur modes d'action sont variés et complexes : la compétition pour nutriments, la colonisation des racines, l'induction de la résistance systémique et l'antibiose (Michelina et al., 2011).

Notre travail s'intéresse à mettre en évidence, les effets et les potentialités antagonistes de certaines souches de *Pseudomonas putida* (PP), de *pseudomonas fluorescens* (C7R12) et de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*lini* agent de la fusariose vasculaire du lin, et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent de la fusariose vasculaire de tomate. En plus des essais d'antagonismes *in vitro*, nous avons expérimentés *in situ* l'interaction *Fusarium oxysporum* f.sp.*lini* avec les souches (PP), et (C7R12) de *Pseudomonas* spp. fluorescents. en interaction avec les plantules du lin.

PARTIE 1: Données bibliographiques

I. ANTAGONISME MICROBIEN

En raison d'un éventuel contrôle biologique des maladies des plantes, de nombreux travaux ont été réalisés sur la recherche d'antagonistes microbiens issus du sol (Lockwood, 1981 ; Digat, 1992 ; Alabouvette et al., 1993; Verma et al., 2007). Au sein de la microflore tellurique, on trouve une très grande proportion de microorganismes antagonistes : les bactéries (*Pseudomonas*, *Erwinia*, *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*), les champignons (*Trichoderma*, *Penicillium* et *Sclerotinia*) (Corbaz, 1990; Alabouvette et al., 1993) et des champignons pathogènes et non pathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Pythium*) (Alabouvette et al., 1999).

Tableau 1 : Différents microorganismes utilisés en lutte biologique.

Agents de biocontrôle	Modes d'actions	Références
<i>Aspergillus niger</i>	Production de phényléthanol, acide phénylacétique, et acide phynoxycetic	(Mujeeber et Shahana, 2002)
<i>Penicillium digitatum</i> <i>Penicillium oxalicum</i>	Liberation des enzymes Lytiques	(Mujeeber et Shahana., 2002)
<i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma viridae</i>	Compétition pour nutriments, colonisation de racines, induction de résistance systémique, antibiose	(Michelina et al., 2011)
<i>Pseudomonas spp</i>	Production de sidérophores (pyoverdine et pyochiline) et l'antibiotique.	(Dmitri et al., 2006)
<i>Bacillus subtilis</i>	Production de phényléthanol, acide phénylacétique, et acide phynoxycetic	(Shanmugam et kanoujia, 2011)
<i>Fusarium oxysporum non pathogène (Fo47)</i>	Compétition pour nutriments, colonisation de racines, induction de résistance systémique	(Alabouvette et al., 2008; Kaur et al., 2010)

PARTIE 1: Données bibliographiques

1. LES *PSEUDOMONAS* SPP. FLUORESCENTS

Le groupe des *Pseudomonas* fluorescents est composé de bactéries, qui dans les conditions de carence en fer produit des pigments jaune-vert fluorescents (Figure1), à l'origine de leur nom. Principalement huit espèces appartiennent à ce groupe : *P.aeruginosa*, (pathogène de l'homme). *P.syringae*, *P.viridiflava* et *P.cicborii* qui sont des bactéries phytopathogènes, et enfin *P.fluorescens*, *P.putida*, *P.aeofaciens* et *P.chlororaphis* qui sont des saprophytes (Jacques, 1993).



Figure 1 : Pigment jaune- vert fluorescent de *Pseudomonas* fluorescents (hppt://www.cresa.cat-Pfluorescens-Cetrimide4-800x531.jpg) 2006.

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents. sont adaptées à la survie dans le sol et la colonisation des racines des Plantes (Kiely *et al.*, 2006). Dans certains cas, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol (Digat, 1994).

Au cours de ces dix dernières années, de nombreuses publications ont été publiées sur des essais réalisés en serre ou au champ qui montre l'intérêt potentiel des *P. fluorescents* non pathogènes autant qu'agents de lutte biologique contre plusieurs agents phytopathogènes (Weller et Cook, 1983).

1.1. ACTIVITES PHYTOBENEFIQUES

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents assurent de multiples actions phytobénéfiques, notamment la phytostimulation de certaines cultures (Van Peer et Shippers, 1989), la bioprotection vis-à-vis de nombreux agents phytopathogènes (Leong *et al.*, 1986), l'induction de la résistance chez les plantes (Bakker *et al.*, 2003), la stimulation de la germination

PARTIE 1: Données bibliographiques

(Digatetal., 1990) et la stimulation des interactions entre la microflore symbiotique et la plante hôte (Howellet al., 1987).

1.1.1. Stimulation de la croissance des plantes

De nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après leur bactérisation (Van Peer et Shippers, 1989). Les mécanismes, qui induisent ces gains de croissance, sont souvent la concentration de certaines métabolites secondaires, telles que les auxines, l'acide gibbérlrique (Brown, 1972), l'éthylène (Frankenberger et al., 1993), l'acide succinique et l'acide lactique (Yoshikawa et al., 1993), l'acide indolacétique (AIA) (Mardukhova et al., 1991) et certaines vitamines (Rodelas et al., 1993).

En plus de ces métabolites secondaires, les *Pseudomonas* spp. Fluorescents peuvent contribuer dans l'amélioration de l'alimentation minérale des plantes, essentiellement pour le fer, le phosphore, l'azote et le manganèse. (Lugtenberg et al., 1991 ; Lemanceau,1992; Kol et Hajra,1997; Compant et al., 2005).

1.1.2. Protection des plantes contre les maladies d'origines telluriques

L'utilisation des bactéries pour lutter contre les maladies d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Schroth et Hancock, 1982;Leong, 1986; Neilands et Leong, 1986; Fravel, 1988; Lemanceau, 1992)

Les différents modèles biologiques utilisés, mettent en jeu différentes souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents vis-à-vis de différentes maladies. Même si les travaux de lutte biologique sont très nombreux, il est regrettable de constater que peu d'expérimentation évalue l'efficacité de cette lutte et ses conséquences positives en terme d'augmentation du rendement dans les conditions pratiques (Kloepper et al., 1980 ; Suslow et Schroth,1982 ; Weller et Cook , 1986 ; Xu et Gross, 1986 ;Saktivel et Gnanamomickam,1987 ; Leeman et al., 1991 ; Lemanceau et Alabouvette, 1991).

1.1.3. Induction de la résistance chez les plantes

Certaines PGPR peuvent induire l'expression des capacités défensives chez certaines plantes. Ce mécanisme est décrit comme l'induction de la résistance systémique (ISR) (Van Loon et al., 1998). Kloepper et al., (1980) Ont découvert indépendamment que l'ISR est le

PARTIE 1: Données bibliographiques

mode d'action des PGPR, spécialement chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents qui sont capables ainsi de supprimer les maladies.

L'induction de la résistance systémique des plantes par ces rhizobactéries, peut inhiber le développement des pathogènes d'une façon directe. Il a été démontré que les deux microorganismes sont séparés spatialement pour la durée d'expériences visant à déterminer l'existence d'une réponse d'ISR (Bakker *et al.*, 2003). La souche bactérienne CHAO appartenant au groupe des PGPR provoque une augmentation racinaire et une résistance naturelle au *Thielavio psisbaticola* sur des plantes de tabac bactérisées (Voisard *et al.*, 1989). Défago *et al.*, (1990), suggèrent donc que la production de HCN (acide cyanhydrique) par la souche CHAO provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de son système racinaire et de sa résistance naturelle.

1.2. MECANISMES D'ACTION

Les microorganismes peuvent exercer une activité antagoniste selon différents mécanismes incluant: la compétition, l'antibiose, la production de quelques métabolites secondaires à l'exemple de l'acide cyanhydrique et d'autres enzymes (Widden, 1994). Un microorganisme donné peut exercer une activité antagoniste en utilisant plusieurs mécanismes à la fois (Kloepper *et al.*, 1980)

1.2.1. Compétition trophique

Les différentes espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents qui colonisent la rhizosphère, possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Elles peuvent concurrencer les autres microorganismes pour la nourriture et pour l'espace. Leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (Haas et Keel, 2003). Cette grande rhizocompétence, vient sans doute de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres rhizobactéries, et de leur capacité à métaboliser efficacement plusieurs composés des exsudats racinaires (Chin et Bloemberg, 2000).

Même si l'utilité de la compétition pour l'espace ne peut être complètement exclue, l'essentiel des travaux concernant la compétition, instaurée pas les rhizobactéries, porte sur la compétition trophique et, en particulier, sur la compétition pour le fer, comme en témoignent les différentes synthèses bibliographiques concernant ce sujet (Meyer et Abdallah, 1978; Neilands et leong, 1986; Loper et Buyer, 1991).

PARTIE 1: Données bibliographiques

Quoique très abondant, le fer se trouve souvent sous forme de polymères d'hydroxy des ferriques très insolubles. Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents possèdent un mécanisme très spécifique de captation des ions ferriques basé sur la production de sidérophores en conditions de carence en fer.

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire chélatrices du Fe^{3+} et servant de transporteur d'ion ferrique à l'intérieur de la cellule. La compétition pour le Fe^{3+} est impliquée dans la suppression de la fusariose vasculaire (*Fusarium oxysporum*) par certaines souches fluorescentes de *Pseudomonas* via la production des sidérophores (Lepoivre, 2003).

Les *P. fluorescents* synthétisent particulièrement un pigment jaune-vert fluorescent nommé pyoverdine, ou sidérophore permettant la capture des ions de fer (Fe^{3+}); ces molécules sont constituées d'une partie peptidique liée à un chromophore fluorescent de couleur jaune-vert (Demange et al., 1987). En capturant les ions de fer, ces bactéries les rendent indisponibles aux autres microorganismes ne possédant pas de système de captation du fer à forte affinité (Haas et Defago, 2005). Un autre sidérophore sécrété par les *Pseudomonas* spp. fluorescents, la pyochéline, qui est dite de faible affinité décelée chez *P. aeruginosa* ou son énantiomère l'Enantio-pyochelin qui se trouve chez *Pseudomonas fluorescens*, permettent d'exercer une compétition pour le fer mais aussi pour le zinc et le cuivre (Phoebe et al., 2001). Certaines souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents apparaissent même capables d'incorporer les sidérophores excrétés par d'autres micro-organismes (Koster et al., 1991).

1.2.2. Antibiose

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et Baker, 1974). La production d'antibiotiques est reconnue comme un mécanisme important par le quel les agents de biocontrôle, notamment les PGPR, peuvent empêcher le développement des agents phytopathogènes (Thomashow et al., 1997). Ce mécanisme d'action est le plus important chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents, afin d'inhiber la croissance d'organismes compétiteurs. L'antibiose exercée par certaines souches a d'abord été mise en évidence *in vitro* (Lemanceau, 1992). Les recherches réalisées, par la suite, ont permis l'isolement de plusieurs molécules antibiotiques (Raaijmakers et al., 2002). Les premières molécules antibiotiques isolées d'une souche (Pf-5) de *P. fluorescens* et identifiées sont la pyrrolnitrine en 1979 (Howell et Stipanovic, 1979) puis la pyolutéorine (Howell et Stipanovic, 1980). Par la suite, d'autres composés ont été isolés comme la

PARTIE 1: Données bibliographiques

phénazine (Thomashow et Weller, 1988) le Diacetylphloroglucinol (DAPG) (Vincentet *al.*, 1991), la pyocyanine et la viscosamide (Nielsen et *al.*, 1999) (Tableau 2).

Le mode d'action de certaines de ces molécules est déjà élucidé. Les phénazines, analogues des flavines (Coenzymes), libèrent des radicaux libres en présence de pyochéline chargée en ions ferreux qui causeront des dommages aux lipides et autres macromolécules. Pour sa part, le DAPG cause des dommages aux membranes de *Pythium*spp. et inhibe fortement la germination des zoospores de cet oomycète. Le cyanide d'hydrogène produit également par *P. fluorescens* peut inhiber un grand nombre de métalloenzymes. Les lipopeptides produits par les *P. fluorescens* jouent le rôle de surfactants et peuvent s'insérer dans les membranes microbiennes causant d'importants dommages à certains microorganismes (Haas et Defago, 2005) (Tableau 2).

PARTIE 1: Données bibliographiques

Tableau 2 : Molécules actives produites par les *Pseudomonas* spp.(Raaijmakers et al., 2002 ; Fernando et al., 2006 ; Bojanowski, 2011).

Molécules actives	Espèce/souche	Référence
2,4-diacétylphloroglucinol	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Q2-87</i> <i>CHAO</i> <i>Pf-5</i> <i>Q8r1-96</i>	Vincent et al. (1991) Keel et al.(1992) Howell et Stipanovic (1979) Raaijmakers et Weller (2001)
Phénazines	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>2-79RN</i>	Weller (1983)
Oomycine A	<i>30-84</i> ¹⁰ <i>PCL1391</i>	Pierson et Thomashow(1992)
Pyolutéorine	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Hv37a</i> <i>P. fluorescens</i> <i>Pf-5</i> <i>CHAO</i>	Chin et al. (1998) Guttererson et al. (1986) Howell et Stipanovic (1979) Keel et al. (1992)
Pyrrrolnitrine		Ligon et al. (2000)
Viscosinamide	<i>P. fluorescens BL915</i>	Nielsen et al. (1999)
Butyrolactones	<i>P. fluorescens DR54</i>	Gamard et al. (1997)
Sulphonamide	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> <i>63-28</i>	
Pyocyanine	<i>Pseudomonas</i> spp.	Kim et al. (2000) Baron et Rowe (1981)
Acides pseudomonique	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Fuller et al. (1971)
Azomycine	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Shoji et al. (1996)
Karalicine	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Lampis et al. (1996)
FR901463	<i>Pseudomonas puti da</i> <i>Pseudomonas</i> spp	Nakajima et al. (1996)

2. *TICHODERMA*

2.1. TAXONOMIE

Le genre *Trichoderma* a été décrit par Persson en 1874, est utilisé depuis les années 1930 dans la lutte biologique appliquée en agriculture. Différentes espèces de ce genre ont montré leur efficacité dans la lutte contre les agents phytopathogènes aériens et telluriques.

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* sp se présente comme suit (Bissett, 2004):

- Embranchement : Amastigomycota et/ou Eumycètes
- Sous embranchement : Ascomycotina
- Classe : Sordariomycètes
- Ordre : Hypocréales
- Famille : Hypocraceae
- Genre : *Trichoderma*

2.2. MODES D'ACTION

Trichoderma sp possède une batterie de mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais qui demeurent toutefois complexes. Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène.

Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...). *Trichoderma* est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Et permet, au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes (Caron, 2002).

2.2.1. Antibiose et métabolites secondaires

L'antibiose se manifeste par un arrêt de la croissance mycélienne des champignons. *In vitro*, aucune évolution des champignons dans le temps n'est observée et les fronts mycéliens sont séparés par une zone claire, généralement de 3 à 5 mm (Caron, 1993). (Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991) ont décrit diverses substances antibiotiques produites par *Trichoderma sp* qui seraient responsables de leurs propriétés antagonistes.

La mise en évidence de la production de métabolites secondaires par *Trichoderma sp* a été rapportée pour la première fois par Weidling (1934), concernant un antifongique (Papavizas, 1985). La littérature cite que les métabolites importants de *Trichoderma sp* sont principalement des enzymes et des molécules bioactives. Elle résulte de la production de substances qui agissent comme des «antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène, telles que :

Métabolites volatils: pyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (Vizscaino et al., 2005)

Métabolites non volatils diffusibles: polyacétates (antifongiques, antibiotiques), trichotécènes (variété de toxines actives sur microorganismes et mammifères) notamment les trichodermines.

Métabolites polypeptidiques ciclosporines immunosuppresseurs anti- inflammatoire; (et les peptaïbols, qui sont généralement assimilés à des mycotoxines peptidiques) (Landreau, 2001)

2.2.2. Mycoparasitisme et production des enzymes lytiques

Les enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques sécrétées par *Trichoderma sp* telles que les chitinases et les β glucanases sont considérées comme étant les déterminants majeurs de l'activité antagoniste (Elad et al., 1982; Lorito, 1998). Des nombreux travaux indiquent clairement qu'en particulier les chitinases jouent un rôle principal (Kubicek et al., 2001). Quelques enzymes chitinolytiques de *Trichoderma harzianum* ont été purifiées et caractérisées (Harman et al., 1993).

2.2.3. La compétition

Elle se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* sp à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes, mais *Trichoderma* sp emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables. Lors de la compétition, *Trichoderma* sp croît fréquemment en parallèle avec son hôte et s'attache au mycélium de l'hôte par des crochets ou par les haustoriums soit par enroulement. ou par les appressoriums (Elad et al., 1983; Harman et al., 1993; Papavizas, 1995).

Les souches de *Trichoderma* peuvent également être agressifs (Wardle et al., 1993) et agir en tant que concurrents aux pathogènes fongiques dans leurs phases saprophytiques, surtout lorsque les nutriments constituent un facteur limitant (Simon et Sivasithamparam, 1989).

Trichoderma a un effet inhibiteur sur les sclérotés de *Botrytis* (Dubos et al., 1982). Il diminue le nombre de conidies provenant des sclérotés par effet putrescible, ce que les fongicides ne font pas. *Trichoderma* inhibe également la formation de nouveaux sclérotés.

2.2.4. Colonisation racinaire

La capacité de *Trichoderma harzianum* à produire des métabolites antifongiques, y compris des composés volatils, explique bien cet usage. Les chitinases, glucanases et protéases libérées par ces *Trichoderma* dégradent les parois des champignons pathogènes sans altérer les cellules des racines des plantes. Les métabolites antibiotiques, tels les peptaibols (par exemple, trichorzianines), agissent en synergie avec les enzymes pour attaquer les champignons cibles. *Trichoderma harzianum* se développe au contact des racines et les colonise superficiellement sans aucun dommage.

Il a été montré que *Trichoderma virens* colonise les racines du coton et inhibe la croissance de *Macrophomina phaseolina* (pourriture des racines) apporté par le sol (Howell, 2003).

2.2.5. Stimulation de la croissance des plantes

La colonisation des racines par *Trichoderma* sp peut augmenter la croissance et le développement des racines, le rendement des cultures, la résistance aux stress abiotiques et l'absorption et l'utilisation des nutriments (Harman et al., 2004).

Selon Harman et al, (2004), les champignons bénéfiques tel que *Trichoderma* sp peuvent stimuler la croissance des plantes par l'augmentation des éléments nutritifs, par une efficacité dans l'utilisation de l'azote, et par la solubilisation des éléments nutritifs dans le sol. Altomar et al, (1999) ont montré que *Trichoderma harzianum*1295-27 solubilisait le phosphate et les micro-éléments impliqués dans la stimulation de la croissance végétale.

Les effets de stimulation de la croissance proviennent de l'action directe des *Trichoderma* sur les plantes et ne sont pas directement liés aux antagonismes avec les pathogènes. Ces effets sont visibles aussi bien sur des substrats de culture non désinfectés que sur des substrats stériles. Les mécanismes de stimulation de croissance sont mal élucidés et pourraient être dû à la suppression des dommages oxydatifs sur les racines, à la sécrétion de facteurs de croissance par le champignon, à l'inhibition de la microflore gênante et à l'amélioration du transport des micronutriments (Menzies, 1993).

Les effets sont inégaux d'une souche à l'autre. Certaines souches possèdent des effets stimulateurs de croissance mais d'autres ont des effets inhibiteurs (par exemple: *Trichoderma viride* RF1 (Menzies, 1993).

2.2.6. Induction de la résistance chez les plantes

Plusieurs exemples de succès de la lutte biologique ont été attribués aux mécanismes de mycoparasitisme et où l'antibiose, à la rhizosphère compétence, aux enzymes lytiques telles que les chitinases et les glucanases et à l'induction des mécanismes de résistance de la plante (Chet, 1987; Howell et al.,1993; Lo et al., 1998; Yedidia et al., 1999). Le renforcement des activités antifongiques a été montré chez les plantes et les microorganismes. Des plants de tabac et de tomate exprimant des chitinases recombinantes à partir de *Trichoderma harzianum* ont exprimé une grande résistance à l'égard d'un grand nombre d'agents phytopathogènes (Lorito, 1998).

II. LES FUSARIOSES VASCULAIRES DU LIN ET DE LA TOMATES

Les fusarioses vasculaires sont des maladies communes de flétrissement fongique, provoquées par les formes spéciales *lini* et *lycopersici* de *Fusarium oxysporum* (Snyder *et al.*, 1940). Elles sont économiquement dommageable pour ces cultures (Dreistadt *et al.*, 2004). Les fusarioses vasculaires sont des maladies qui peuvent être présentées tout au long de la végétation (Anonyme, 2011).

Le genre *Fusarium*, se caractérise par une reproduction asexuée, en produisant trois types de spores : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores (Figure 2) (Ohara *et al.*, 2004 ; Nadas, 2010). Les microconidies sont les plus abondantes et produites par le champignon dans toutes les conditions, c'est aussi le type de spore le plus fréquemment présent dans les vaisseaux des plantes infectées. Les macroconidies sont généralement présentes sur la surface des plantes tuées par cet agent pathogène, et les chlamydospores sont moins produites comparées aux autres (Rheinberg, 1988).

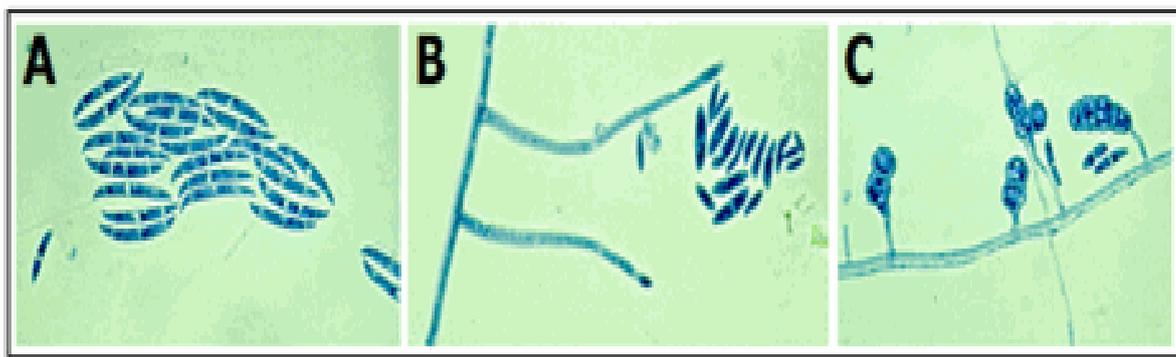


Figure 2: Conidies de *Fusarium* (Nadas, 2010).

Les études taxonomiques sur *Fusarium oxysporum*, en se basant essentiellement sur les caractéristiques morphologiques : la forme des macroconidies (Figure 2), la forme de la cellule basale des macroconidies, la forme des microconidies, la présence ou l'absence des chlamydospores (Larry *et al.*, 1993).

1. *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP.*LINI*

La fusariose vasculaire du lin est une maladie causée par le champignon *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*. La contamination se réalise uniquement à partir du sol (Murray, 1993).

PARTIE 1: Données bibliographiques

Selon *Snyder et Hansen (1940)*, la taxonomie de l'agent causal de la fusariose vasculaire du lin est comme suit :

Règne : Fungi (Eumycetes)

Embranchement : Ascomycetes

Sous Embranchement : Ascomycotina

Classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocréales

Famille : Nectriaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce : *F.oxysporum*f. sp *lini*

1.1. SYMPTOMATOLOGIE

Les plantes peuvent être attaquées par *F. oxysporum* f.sp *lini* à n'importe quel stade de leur développement, il produit généralement plusieurs symptômes mais les plus importants d'entre eux sont : le flétrissement et le brunissement du système vasculaire (Agrios, 1988; Smith et *al.*, 1988) (Figure 3).

Bien que cette maladie provoque principalement le flétrissement, la fonte des semis peut se produire en tout début de végétation. L'infection commence par les racines et le collet, la plante cesse de croître puis meurt par temps sec ou pourrit par temps humide (Rheinberg, 1988; Smith et *al.*, 1988).

Plus tard en végétation, avant l'apparition des bourgeons floraux, l'apex de la tige peut jaunir et se courber et la plante se fane. La culture semble souffrir de sécheresse et les parties attaquées sont bien jaunes brunâtres. Le feuillage se dessèche. Entre la floraison et la maturité, les plantes peuvent être attaquées. La maladie se manifeste par un dessèchement des feuilles, qui tombent prématurément.

La tige brunit et meurt, la plante prend un aspect brun rouge. Les plantes malades présentent au niveau du collet un feutrage blanc rosé par temps humide. *Fusarium oxysporum*f. sp. *Lini*, remonte dans la plante par les racines et les tissus conducteurs et produit des toxines nocives (Agrios, 1988).

PARTIE 1: Données bibliographiques

Les symptômes deviennent généralement plus apparents au cours de la période comprise entre la floraison et la maturation des fruits. Une attaque précoce en gendre une destruction totale de la linière (Jones et *al.*, 1982; Smith et *al.*, 1988).

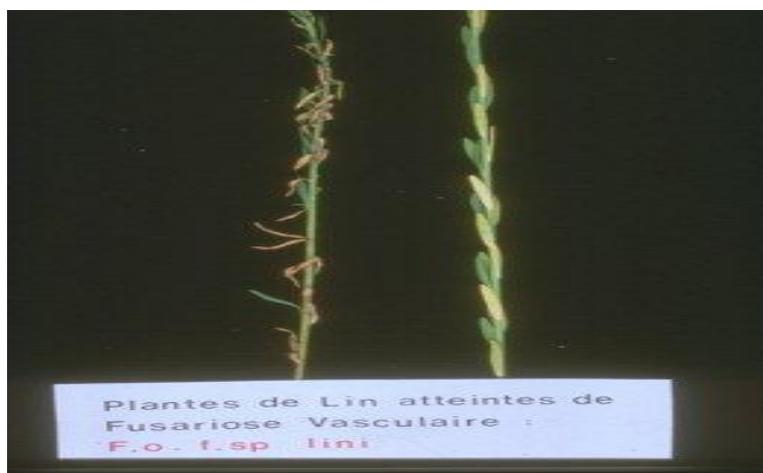


Figure 3 : Flétrissement du lin causé par *Fusarium oxysporum f.sp.lini*(Snyder Et Hansen 1985)

1.2. CYCLE BIOLOGIQUE

Le cycle de la maladie de *Fusarium oxysporum f. sp lini* inclus deux phases, phase saprophyte et phase parasitaire (Nelson, 1981 ; Beckman, 1989)

1 - La phase saprophyte :(en absence de la plante hôte), le champignon *Fusarium oxysporum f. sp lini* est un saprophyte abondant et active dans le sol et la matière organique, avec certaines formes spécifiques qui sont pathogènes des plantes (Smith et *al.*, 1988). Sa capacité saprophyte lui permet de survivre dans le sol entre les cycles des cultures dans les débris végétaux infectés. Le champignon peut survivre soit sous forme de mycélium, ou comme l'une de ses trois types de spores asexuées (Rheinberg, 1988).

2 - La phase parasitaire : (en présence de la plante hôte) : les plantes saines peuvent être infectées par *F. oxysporum* si le sol dans lequel elles poussent est contaminée par le champignon. Les racines libèrent des exsudats qui stimulent la germination des chlamydospores et la croissance du mycélium (Schroth et Hildebrand, 1964). Le champignon peut envahir la plante soit avec son tube germinatif des sporanges ou avec le mycélium en envahissant les racines, via les blessures ou au point de formation de racines latérales (Agrios, 1988).

2. *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI*

Fusarium oxysporum f. sp. *lycopersici* est l'agent responsable du flétrissement vasculaire des cultures de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) à travers le monde (Snyder et Hansen, 1940).

Selon (Agrios, 1988), la taxonomie de l'agent causal de la fusariose vasculaire de la tomate est comme suit :

Règne : Mycota

Division : Eumycota

Sub-division : Deuteromycota

Classe : Hyphomycota

Ordre : Hyphale

Famille : Tuberculariaceae

Genre : *Fusarium*

Espèce : *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Agrios, 1988).

2.1. SYMPTOMATOLOGIE

Le flétrissement fusarien ou bien la fusariose vasculaire de la tomate se distingue par une symptomatologie typique des trachéomycoses, souvent ayant comme conséquence des flétrissements et des décolorations du système vasculaire.

L'évolution des symptômes ainsi que leur gravité diffèrent selon les stades phénologiques de la plante (Figure 4) (Beckman, 1989).

Chez les jeunes plantes infectées nous observons :

- Un arrêt de croissance.
- Base de la tige plus ou moins élargie.
- Coloration des tissus vasculaires en brun foncé (Figure 4-A).
- Quelques feuilles deviennent jaunâtres et peuvent se courber vers le bas et se détacher (Figure 4-B, D).
- Flétrissement partiel ou total (Figure 4-B, C).
- Mortalité des plants (Figure 4-B).

PARTIE 1: Données bibliographiques

Chez les plantes âgées nous observons particulièrement :

- Coloration des tissus vasculaires en brun foncé (Figure 4-A).
- Jaunissement souvent unilatéral des feuilles pouvant se généraliser, suivi d'un flétrissement puis un dessèchement complet de la plante et de sa mort (Figure 4-B, D).



Figure 4 : Principaux symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate.

4-A : Décoloration vasculaire brun foncé (Cynthia, 2011).

4-B : Mort du plant (Cynthia, 2011).

4-C : Flétrissement de la tomate sous serre (Yuan-Min Shen, 2009).

4-D : jaunissement et flétrissement unilatérale de la tomate (Gardner, 2010).

2.2. CYCLE BIOLOGIQUE

Suivant la présence ou l'absence de la plante hôte (la tomate), le pathogène au cours de son cycle de vie, présente une phase saprophyte et une phase parasitaire (Nelson, 1981 ; Beckman, 1989) :

-La phase saprophyte : elle est caractérisée par la conservation du champignon au niveau du sol sous forme de macroconidies, microconidies et chlamydospores, il survit sur la matière organique provenant des débris des végétaux (Beckman, 1989).

PARTIE 1: Données bibliographiques

- La phase parasitaire : en présence de plantes hôtes, les formes de conservation germent grâce à la stimulation d'exsudats racinaire, et par contact des points de formation des racines latérales ou au niveau des blessures, permettant la pénétration du pathogène dans les racines et son évolution à travers le cortex intercellulaire jusqu'à atteindre les tissus vasculaires (Nelson, 1981).

La prolifération du champignon augmente dans les tissus vasculaires et provoque des altérations, tel que le blocage de la circulation de la sève. Cette phase se termine par la mort de la plante, ainsi la phase saprophyte recommence avec la dissémination du champignon (Nelson, 1981).

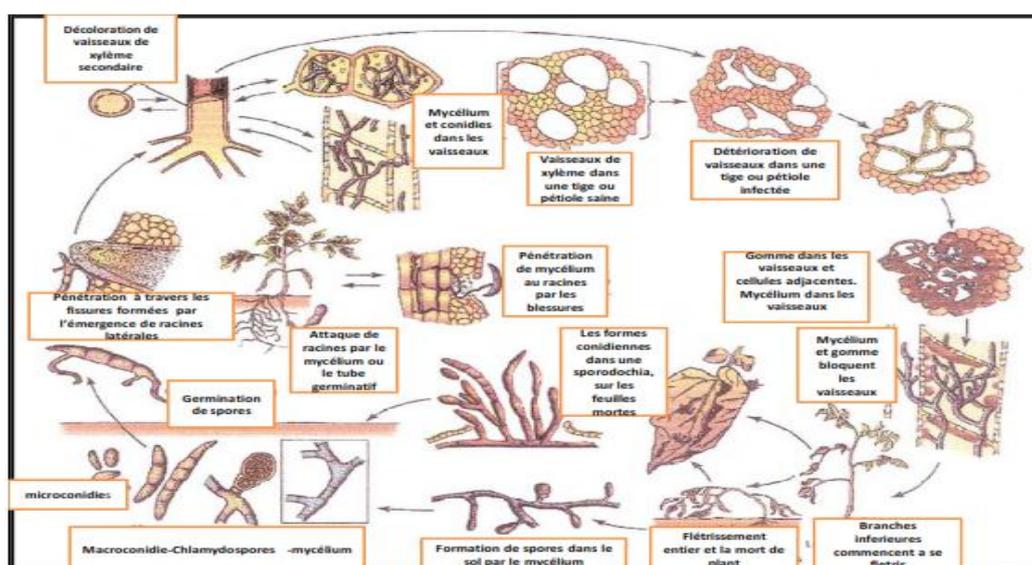


Figure 5: Cycle biologique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Agrios, 2005)

3. LA LUTTE CONTRE LES FUSARIOSES VASCULAIRES

Comme toutes les autres maladies fongiques, la lutte contre les fusarioses vasculaires s'articule principalement sur les méthodes de lutte chimique et l'amélioration des variétés sensibles. En plus de ces méthodes, il ya lieu de signaler l'importance de certains méthodes prophylactiques telle que la solarisation des sols et le choix adéquat d'une conduite culturales défavorisant l'installation et le développement de champignon.

D'une manière générale, l'ensemble des moyens de lutte utilisés contre les fusarioses vasculaires ne font que ralentir la progression de la maladie (Alabouvette et Lemanceau, 1988).

PARTIE 1: Données bibliographiques

➤ **La lutte culturale consiste à :**

- Utiliser des cultivars résistants (Steven et *al.*, 2007 ; Lebdi,2010).
- Utiliser des graines saines. (Steven et *al.*, 2007).
- Pratiquer de la jachère (Blancard, 1997).
- Fertiliser le sol surtout la fertilisation azotée (nitrate) (A.D.A.B, 2001).
- appliquer la solarisation de sol (A.D.A.B, 2001).

➤ **La lutte chimique :**

Consiste à utiliser des fongicides systémiques ou incorporés dans le sol pour limiter le développement de pathogène, tel que :

Les fongicides : comme le binomyl ou le Captaphol qui sont des produits efficace mais présentent des inconvénients comme la pollution de l'environnement, induction de chlorose chez les jeunes plantes, et la résistance de pathogène en cas d'utilisation abusive (Ryo et al., 2005).

La fumigation avec le Méthyle Bromide : c'est un fort fumigant qui a montré une efficacité relative vis-à-vis de la fusariose vasculaire, mais il peut inclure l'épuisement de la couche d'ozone, d'ailleurs il a été interdit dans certains pays (Philippae, 2008),

En raison de la forte potentialité de conservation de pathogène dans le sol et ses mécanismes d'envahissement et d'évolution dans la plante, la quasi -totalité de ces méthodes de lutte ne permettent pas de contrôler de manière efficace ce genre d'où le recours aux technique de lutte biologique qui s'est imposé ces dernières années comme une autre alternative, ou pour compléter les autres méthodes de lutte citées précédemment.

La lutte biologique vis-à-vis des champignons telluriques phytopathogènes, pourrait être réalisée par l'application de certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ou *Fusarium oxysporum* non pathogènes (Alabouvette et Lemanceau,1991).

1. MATERIELS BIOLOGIQUES

1.1. ISOLATS FUSARIENS PATHOGENES

Dans notre travail expérimental, nous avons utilisé deux isolats fusariens représentant l'espèce *Fusarium oxysporum*: l'isolat fongique de *Fusarium oxysporum f.sp.lini* (Foln), et l'isolat fongique de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* (Fol).

Tableau 3 : les souches des champignons filamenteux.

N°	Souches	Espèces	Provenance
1	Foln	<i>Fusarium oxysporum f.sp.lini</i> (Foln)	laboratoire de pathologie du sol (INRA, Dijon, France).
2	Fol	<i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i>	

La purification de cet isolat fongique est réalisée après plusieurs repiquages, par la transplantation successive de disques mycéliens dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Potato-dextrose-Agar) (Jhonston et Booth 1983).

L'incubation des cultures fongiques a été effectuée à 25°C pendant 7 jours.

1.2. ISOLATS ANTAGONISTES

1.2.1. Les deux agents bactériens et *Trichoderma* sp

L'objectif étant d'étudier les activités et les propriétés antagonistes des *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Trichoderma* sp vis-à-vis de deux isolats fongiques de *Fusarium oxysporum*. A cet effet nous recherchons à confirmer les activités, *in vitro*, de deux souches : la souche C7R12 de *Pseudomonas fluorescens*, la souche PP de *Pseudomonas putida*, originaires de France, et *Trichoderma* sp issu d'un sol de Belgique qui sont utilisées dans de nombreux travaux expérimentaux, et se caractérisent par une aptitude de biocontrôle (Anderson et Guerra, 1985; Bakker et al., 1991; Lemanceau, 1992) (Tableau 4). Ces souches proviennent de la collection microbienne du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida.

Tableau 4 : Origines des isolats bactériens.

Souches de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	Rhizosphère	Pays d'origine
<i>Pseudomonas putida</i> (PP)	Tomate	France
<i>Pseudomonas fluorescens</i> (C7R12)	Lin	France
<i>Trichoderma</i> sp	Sol	Belgique

La pureté des souches bactériennes a été vérifiée sur le milieu B de King « KB » (Annexe 1) (King et al. 1945), en réalisant plusieurs repiquages. L'ensemencement a été réalisé selon la technique de suspensions dilutions. Après incubation à 25°C pendant 24h, Les cultures purifiées, sont stokées à 4°.

L'isolat *Trichoderma sp*, conservé sur milieu PDA a une température de 4° C.

2. LE SOL

Le sol utilisé dans notre expérimentation a été prélevé a partir d'une serre au niveau du département des Biotechnologies de l'université de BLIDA 1.

Après élimination des éléments grossiers et réalisation des opérations de tamisage, le sol a subit une stérilisation dans une étuve pendant 1h 30 à 200°C, pour éliminer le maximum de la microflore tellurique indigène.

Le sol désinfecté a été mélangé avec la tourbe à raison d'une part de tourbe et deux parts de sol, le mélange obtenu (sol + tourbe) a été réparti dans des pots en plastique de dimensions de 10 cm de long et 7cm de diamètre, à raison de 160 à 180 gramme par pot.

Les caractéristiques physiques du sol ont été étudiées durant l'année 2010 au niveau du laboratoire de pédologie du département d'agronomie de l'Université de Blida (Tableau 5).

Tableau 5: Résultats d'analyses physiques du sol (Laboratoire de pédologie Département des Biotechnologies de BLIDA, 2010).

Granulométrie	Taux d'argile (A %)	10,33
	Limons fins (LF %)	23,24
	Limons grossiers (LG %)	23,77
	Sable fin (SF %)	11,88
	Sable grossier (SG %)	28,98
Matière organique (MO %)		1,89
Calcaire (caco ₃ %)		0
Horizon (cm)		0 – 20

3. MATERIEL VEGETAL

La plante utilisée pour la réalisation de nos essais d'antagonisme *in situ* est le lin commun (*Linum usitatissium*), avec deux variétés différentes *Linum usitatissimum* var. *niagara* (lin brun) et *Linum usitatissimum* var. *astral* (lin doré), originaires de France.

3.1. LES GRAINES DE LIN BRUN

Produit : Graines de lin brun

Espèce : *Linum usitatissimum* var. *niagara* (Figure 6)



Figure 6 : *Linum usitatissimum* var. *niagara*

Description : Petite graine brunâtre de forme ovale, intéressante pour sa teneur en mucilages.

3.2. FICHE TECHNIQUE DES GRAINES DE LIN DORE

Produit : Graines de lin doré

Espèce : *Linum usitatissimum* var. *astral* (Figure7)



Figure 7: *Linum usitatissimum* var. *astral*

3.3. DESENFECTIION ET SEMIS

Les graines de lin sont désinfectées par trempage dans l'eau javellisée pendant 2 à 3 minutes, suivi de 5 rinçages à l'eau distillée stérile puis séchées sur papier filtre stérile.

Les graines sont déposées dans les pots en plastique, à raison d'une graine par pot sous serre en verre. L'arrosage se fait chaque jour avec l'eau courante.

Le semis se fait généralement quand la température du sol est assez élevée vers la mi-mai, à une profondeur ne dépassant pas 2,5 à 4 cm. Son cycle végétatif est rapide, six semaines après les semis, le lin a déjà une hauteur de 10 à 15 cm. Capable d'une croissance de plusieurs centimètres par jour dans des conditions optimales, la plante atteint alors 70 à 80 cm en une quinzaine de jours. Cette période correspond à l'élongation des fibres et au remplissage des cellules fibreuses. Les fibres ont alors atteint leur longueur maximale. Les capsules contenant les graines vont se former au cours des quinze jours qui suivent la floraison. Si le tégument séminal a été endommagé au moment de la récolte, les champignons du sol risquent d'infecter la graine et de provoquer sa maladie (Daun, 1993).

4. ETUDE DE LA CROISSANCE FONGIQUE

Pour notre étude, nous avons utilisées les isolats suivants : deux formes spéciales *lini* et *lycopersici* appartenant à l'espèce *Fusarium oxysporum*, et une espèce de *Trichoderma sp.* Les champignons sont des souches qui proviennent de la collection du laboratoire de phytopathologie (Département Des Biotechnologies de l'université du BLIDA 1).

La mesure de la croissance fongique a été réalisée selon la technique de Ryan sur le milieu PDA (Ryan et coll ;1943)

Le calcul de la vitesse de croissance fongique consiste à suivre le développement du mycélium en fonction du temps d'incubation. Elle est évaluée par la mesure de la distance parcourue par le mycélium (du centre de la boîte de pétri ; c'est-à-dire du point d'incubation vers la périphérie). Elle est exprimée en mm/h ou mm/jour. (Ryan et al ; 1943).

5. ACTIVITE ANTAGONIST *IN-VITRO*

Les tests d'antagonisme *in vitro* ont été effectués avec les souches bactériennes PP et C7R12 de *Pseudomonas fluorescens* et l'isolat *Trichoderma sp* vis-à-vis de deux isolats pathogènes: Foln (*F. oxysporium f.sp lini*), agent de la fusariose vasculaire du lin, et Fol (*F.oxysporum f.sp lycopersici*), agent de la fusariose vasculaire de la tomate.

5.1. INHIBITION DE LA CROISSANCE MYCELIENNE

Dans notre expérimentation, ce test a été réalisé en deux étapes: la première concerne l'interaction bactérie antagoniste-champignon pathogène et l'autre concerne le champignon antagoniste avec le champignon pathogène. Ces deux étapes ont été réalisées pour les deux isolats fongiques pathogènes en trois répétitions sur trois milieux gélosés :

- Le milieu KB, plus favorable au développement des bactéries.
- Le milieu PDA, plus favorable au développement des champignons.
- Le milieu mixte (50 % PDA + 50 % KB).

5.1.1. Interaction bactéries antagonistes et champignons pathogènes

Cette interaction a été effectuée avec les deux souches bactériennes PP et C7R12, séparément, vis-à-vis des deux isolats fongiques de *Fusarium oxysporum f.sp.lini* (Foln), et l'isolat fongique de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*(Fol).

L'évaluation de l'action inhibitrice a été testée selon la méthode de confrontation directe en boîte de Pétri. Cette méthode consiste à prélever un disque de champignon pathogène de 0.5 cm de diamètre puis déposé à l'aide d'une pipette pasteur stérile sur une boîte de Pétri dans les trois milieux de culture. A trois cm du disque mycélien nous avons ensemencées la bactérie antagoniste, âgée de 24 heures sous formes d'un trait (Figure 8).

Chaque souche bactérienne est confrontée au champignon pathogène à raison de trois répétitions.

Le témoin consiste en une boîte contenant un disque mycélien du champignon pathogène de 0.5 cm de diamètre dans les trois milieux de culture. L'inoculation des boîtes est faite à 25°C pendant cinq jours .La lecture des résultats consiste à mesurer la distance parcourue par le champignon en direction de l'antagoniste bactérien.

L'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes est estimée selon la formule suivante (Wang *et al.*, 2002) :

$$(I\%) \text{ Inhibition} = (R \text{ témoin} - R_{\text{test}}) / R \text{ témoin} \cdot 100$$

R témoin : distance radiale maximale de croissance du champignon

R test : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste

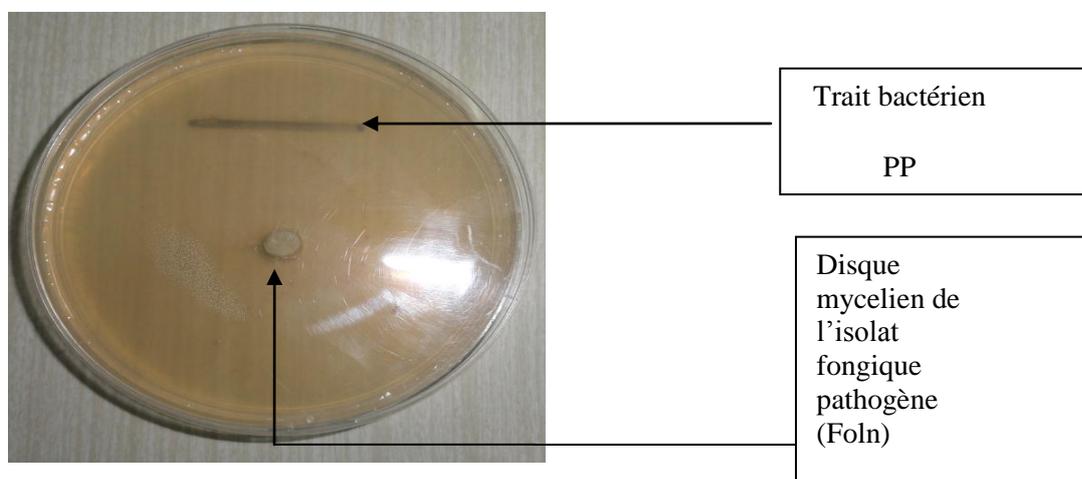


Figure 8: Méthode de confrontation directe en boîte de Pétri entre pseudomonas spp.fluorescents et Fol ou Foln.

5.1.2. Interaction champignons antagonistes et champignons pathogènes

En ce qui concerne cette interaction, le test d'antagonisme *in vitro* a été effectué selon une technique de confrontation direct en boîte de Pétri, qui consiste à déposer les deux

disques mycéliens espacés 3 cm, l'un de l'isolat pathogène (*Fusarium oxysporum f.sp.lini* (Foln), ou bien l'isolat fongique de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*, séparément, avec l'isolat antagoniste *Trichoderma sp* .dans des boites de Pétrie contenant le milieu de culture PDA.

Les témoins sont représentés par des boite de Pétri contenant uniquement le champignon pathogène. L'ensemble des boites est placé en incubation à une température de 25°C.

L'évolution de la croissance mycélienne des deux champignons est notée toutes les 24 h, par la mesure des diamètres des colonies du champignon pathogène.

Les mesures de la croissance mycélienne sont prises quotidiennement et le test s'achève lorsque l'une des colonies aura couvert l'ensemble de la boîte.

L'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne des champignons pathogènes est estimée selon la formule précédente de (Wang *et al.*, 2002).

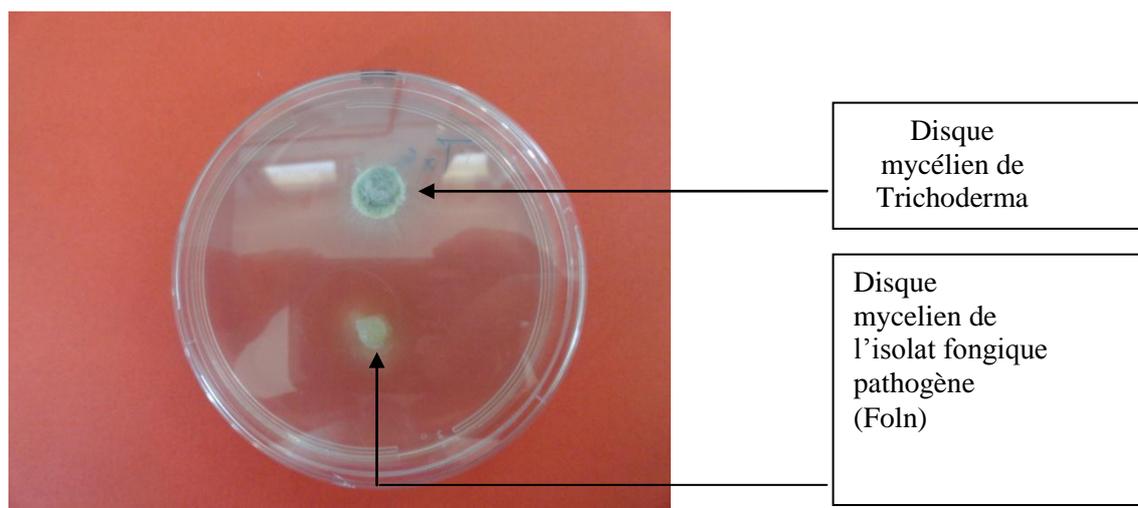


Figure 9: Essai antagonisme *in vitro* entre champignons antagonistes *Trichoderma sp*-champignons pathogènes Foln.après un jour d'incubation.

6. ANTAGONISME *IN SITU*

Les essais d'antagonisme *in situ* ont été effectués avec les deux souches bactériennes PP et C7R12 vis-à-vis de l'isolat pathogène *Foln*, agent de la fusariose vasculaire du lin. Ces essais ont été réalisés en interaction avec deux variétés de lin (var. astral et var. niagara) mises sous serre en verre.

6.1. INOCULATION DES PLANTES

Au moment du semis, nous avons appliqué une première bactérisation avec les deux souches bactériennes (PP et C7R12), séparément pour chaque variété de lin.

La seconde bactérisation a eu lieu, sur les plantes de lin âgées de vingt jours, qui seront infesté 24 heures après par la suspension conidienne. Les plantes du témoin négatif (T-) sont inoculées uniquement avec de l'eau courante et les plantes du témoin positif (T+) sont inoculées avec la suspension conidienne de l'isolat fongique *Foln*.

L'inoculum bactérien a été préparé avec la crème bactérienne âgée de 24heures, cultivée sur milieu KB. Les suspensions bactériennes sont réalisées dans une solution d'eau distillée stérile. Dans chaque pot nous avons mis 20ml de cette suspension bactérienne, dont la densité optique a été calculée par spectrophotométrie ($D.O \approx 0.85$), soit l'équivalent de 10^7 CFU/ml.

Avec des cultures pures de champignon (*Foln*) cultivés sur le milieu PDA âgées de 7 jours, nous avons préparé des suspensions conidiennes. Ces suspensions ont été préparées à partir des disques mycéliens homogénéisés dans le milieu PD liquide (Potato-Dextrose-liquide) dont la concentration est ajustée à l'aide d'une cellule de Malassez, approximativement à l'ordre de 3.8×10^6 conidies/ml. 24heures après le rappel de bactérisation, nous avons apporté, selon la même procédure lors des apports des suspensions bactériennes, 20 ml de suspensions conidienne dans chaque pot.

6.2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Les essais expérimentaux *in situ* ont été réalisés selon un dispositif composé de deux blocs aléatoires complets. Chaque bloc renferme douze traitements différents avec quatre répétitions pour chaque traitement (Figure 10).

Pour la variété 1(lin brun), les traitements sont :

T1 (C7R12 \times *Foln*), **T2** (PP \times *Foln*), **Ts₁v₁** (C7R12), **Ts₂v₁** (PP), **T(+)** v₁ (*Foln*),

T(-) v₁ (H₂O).

Pour la variété 2 (lin doré), les traitements sont:

T3 (C7R12 \times *Foln*), **T4** (PP \times *Foln*), **Ts₁v₂** (C7R12), **Ts₂v₂** (PP), **T(+)** v₂ (*Foln*),

T(-)v₂ (H₂O).



Figure 10: Le dispositif expérimental

6.3. LE SUIVI DU DEVELOPPEMENT DE LA MALADIE

Pour le suivi du déclenchement et de l'évolution de la fusariose vasculaire du lin. Deux paramètres sont pris en considération : le nombre des plantes malades exprimant le taux d'infection et la gravité de la maladie exprimée par la sévérité des symptômes apparus. Le suivi s'est basé sur une échelle qui nous permet de mettre en évidence l'apparition de l'infection. L'échelle est composée de cinq degrés différentiels représentant des symptômes caractéristiques de la maladie :

- 0 : pas de symptômes.
- 1 : jaunissement unilatéral.
- 2 : jaunissement total.
- 3 : flétrissement unilatéral.
- 4 : flétrissement total.
- 5 : mortalité.

***Taux d'infection**

L'indice de la maladie (I%) se calcule selon la formule suivante :

$$I\% = (\text{nombre de plantes malades} / \text{nombre totale de plantes testées}) \times 100$$

***Sévérité de la maladie**

$$S\% = [\sum (E.a/N.T) \times 100]$$

S: sévérité de la maladie (en %)

N: nombre de plantes totales.

T: valeur du degré le plus haut = 5

(E-a): E: classe de symptôme qui variant de 0-5.

a: nombre de plantes malades à la classe considérée.

6.4. ANALYSE STATISTIQUE

L'analyse des résultats a été basée sur l'analyse de la variance enregistrée dans les traitements. Dans le cas de différences significatives, la comparaison des traitements est établie par le test Newman-Keuls au seuil de risque d'erreur de 5% à fin de déterminer leurs amplitudes significatives (Dagenelie, 1975).

PARTIE 3 : Résultats et discussion

1. ETUDE DE LA CRISSANCE FONGIQUE

La vitesse de la croissance fongique est un caractère stable qui caractérise chaque espèce de champignons filamenteux. Elle représente la faculté et l'aptitude du champignon rapidement sur un milieu de culture donné à une température bien donné.

Le temps zéro de la croissance apicale exprime le point de départ des mensurations, c'est le top départ. Les résultats obtenus sont regroupés dans le (tableau6).

Tableau 6: Croissance fongique (en mm/j et mm/h) pour les souches étudiées de *Fusarium* et *Trichoderma* sp.

Souches	Temps zéro	1 er jour	2eme jour	3eme jour	Moyenne en mm/jours	Moyenne en mm/heure
Foln	0	7	6	6.4	6.83	0.28
Fol	0	7	8	7.5	7.5	0.31
T	0	18	27	13	19.33	0.81

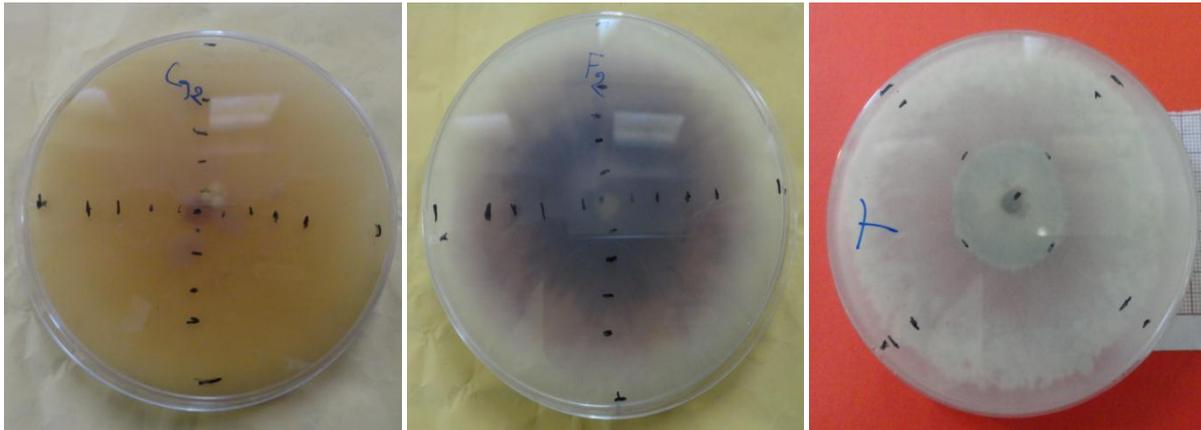
Foln: *Fusarium oxysporium* f.sp. *lini*

Fol: *Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersici*

T: *Trichoderma* sp

Les résultats obtenus ont permis de caractériser nos souches seulement en trois jours (Figure11), la souche de *Trichoderma* sp a envahi complètement la surface des milieux de culture solide en boîte de Pétri, il a montré une croissance fongique très élevée avec une croissance de 0.81 mm/h. par contre les souches de *Fusarium oxysporum* ont montrées des vitesses de croissance un peu lente comparée à celles de *Trichoderma* sp.

Nous remarquons que les valeurs de vitesse d'élongation de deux souches de *Fusarium oxysporum* se rapprochent. Les souches de *Fusarium oxysporum* sont des souches qui ont une vitesse de croissance fongique moyenne. Il leur faut 6 à 7 jours pour remplir une boîte de Pétri (Figure 11).



(1) *Fol*

(2) *Foln*

(3) *Trichoderma sp*

Figure 11: croissance fongique des champignons filamenteux

1: *Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersici*

2: *Fusarium oxysporium* f.sp. *lini*

1.1. DISCUSSION

Les champignons filamenteux se développent par extension apicale. La croissance fongique se fait à partir du point de dépôt de l'inoculum. Les spores de champignons filamenteux germent en formant des tubes germinatifs qui vont de développer de façon apicale afin de donner naissance à un réseau de cellules qui sont reliés entre eux pour former le mycélium. La propagation se fait par des hyphes qui vont s'étaler par élongation et ramification pour en fin former un réseau de mycélium, donnant naissance à des colonies, visible à l'œil.

La vitesse de la croissance fongique d'un champignon filamenteux est un caractère stable, qui caractérise chaque espèce de champignon filamenteux (Smith, J. Berr ; 1975) Plusieurs mesures ont été réalisées pour vérifier cette hypothèse. Cette vitesse d'élongation paraît d'ailleurs peu influencée par la composition du milieu de culture. Il faut toutefois noter que la croissance fongique n'est pas forcément en corrélation avec le taux de croissance de l'organisme et avec la production de biomasse mycélienne. A cet effet la fréquence de branchement est un facteur capital, mais elle est fortement influencée par la composition du milieu et les conditions d'incubation. (Raimbau et al ;1980).

2. ACTIVITES ANTAGONISTES VIS-A-VIS DE *FUSARIUM OXYSPORUM*

Le test d'antagonisme *in vitro* montre que les deux souches: la souche C7R12 de *Pseudomonas fluorescens* et la souche PP de *Pseudomonas putida*, exercent des effets antagonistes vis-à-vis de l'isolat fongique *Foln* et *Fol*, mais à des degrés divers. Cette variation dépend des espèces antagonistes utilisées et aussi des milieux de culture où elles sont cultivées (KB ; PD et milieu KB+PD)

2.1. INHIBITION DE LA CROISSANCE MYCELIENNE

2.1.1. Le cas de *Fusarium oxysporum f.sp lini*

Même à des taux variables, les deux souches bactériennes PP et C7R12, ont montré une activité antagoniste vis-à-vis de l'isolat fongique *Foln* sur les trois milieux de culture (KB, PDA et le milieu mixte). Cette inhibition est détectable durant les 120h d'observation, par la formation de zones d'inhibition vis-à-vis de l'isolat fongique *Foln* selon la méthode expérimentées (confrontation directe en boîte de Pétri) (Figure 12).

Dans tous les essais, nous remarquons que la croissance mycélienne en interaction avec les deux souches bactériennes, sur les trois milieux de culture, est inférieure à celle enregistrée chez le témoin (*Foln*) (Tableau 7, Annexe 2).

Sur le milieu KB, l'activité antagoniste enregistrée avec la souche PP apparaît plus faible par rapport à C7R12, où le taux d'inhibition atteint un maximum de 67% avec PP et 73% avec C7R12 vis-à-vis de *Foln* (Tableau 7, Annexe 2).

Sur le milieu PDA, la souche C7R12 a enregistré des taux d'inhibition plus importants, variant de 28% à 68 %. Les taux d'inhibition enregistrée par la souche PP ne varient que de 31% à 65% (Tableau 7, Annexe 2).

En utilisant le milieu mixte, l'activité antagoniste de la souche PP a engendré un taux d'inhibition maximal de 71%, et la souche C7R12 un taux maximal de 75% (Tableau 7, Annexe 2).

PARTIE 3 : Résultats et discussion

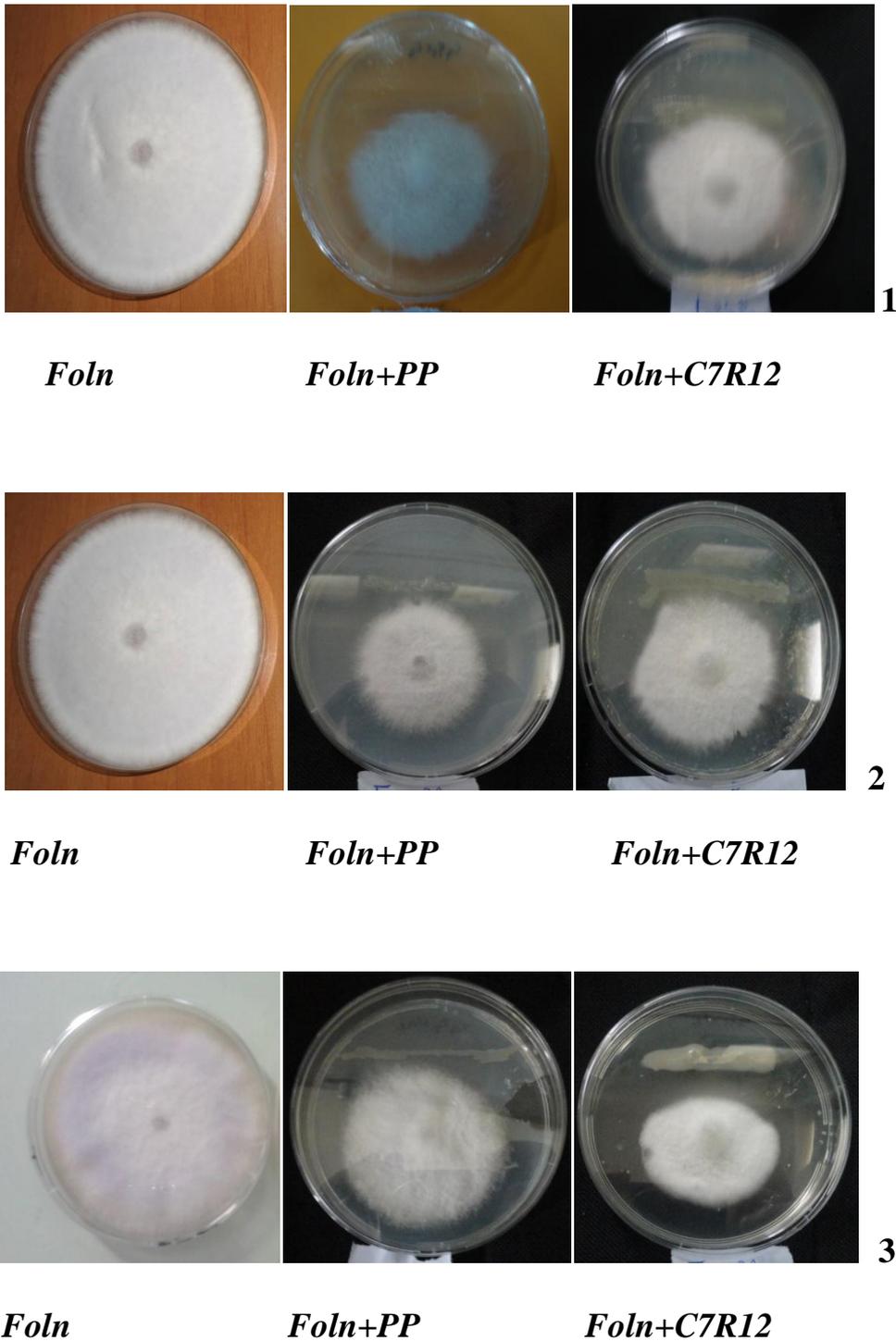


Figure 12: Exemple des activités antagonistes sur les milieux de culture

(1 : PDA, 2 : KB, 3 : PDA+KB)

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Tableau 7: Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture (cinq jour d'incubation).

Heures	PDA		KB		PDA+KB	
	<i>PP</i> × <i>Foln</i>	<i>C7R12</i> × <i>Foln</i>	<i>PP</i> × <i>Foln</i>	<i>C7R12</i> × <i>Foln</i>	<i>PP</i> × <i>Foln</i>	<i>C7R12</i> × <i>Foln</i>
24h	31	68	26	44	48	62
48h	65	57	66	73	71	75
72h	48	56	34	63	52	59
96h	52	38	64	60	48	50
120h	47	28	67	65	43	51

PP, C7R12 : Souche de *pseudomonas fluorescents*.

Foln: *Fusarium oxysporium* f.sp.*lini*

Nous remarquons que sur le milieu KB, la souche C7R12 enregistre un taux d'inhibition de 43% (24h) et 73% (48h), alors qu'il était que de 63% à (72h). Après 96h, l'activité antagoniste revient à 60%.

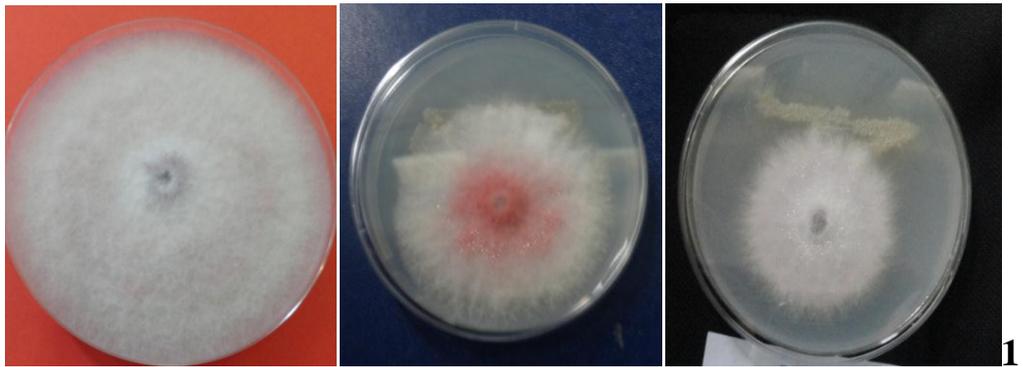
Sur les trois milieux étudiés, en comparant l'effet antagoniste des deux souches bactériennes PP et C7R12, nous constatons que la souche C7R12 est meilleure que la souche PP, en enregistrant un taux d'inhibition maximal de l'ordre de 75%, et la souche PP de l'ordre de 71% (Tableau 7, Annexe 2).

2.1.2. Le cas de *Fusarium oxysporium* f.sp lycopersici

Selon les résultats obtenus (Tableau 8, Annexe 2), nous remarquons que les deux souches bactériennes PP et C7R12 sont antagonistes sur les trois milieux de culture, mais à des taux variables, selon les différents milieux de culture.

Nous constatons que le taux de la croissance mycélienne de l'isolat fongique (*Fol*) lors de l'interaction avec les deux bactéries antagonistes, sur les trois milieux étudiés, est inférieure à celui obtenu chez le témoin (*Fol*) (Figures 19 ; Annexe 2).

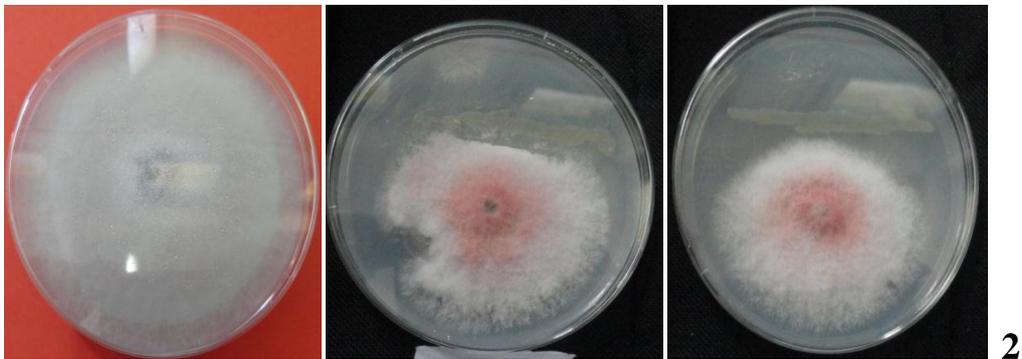
PARTIE 3 : Résultats et discussion



Fol

Fol+PP

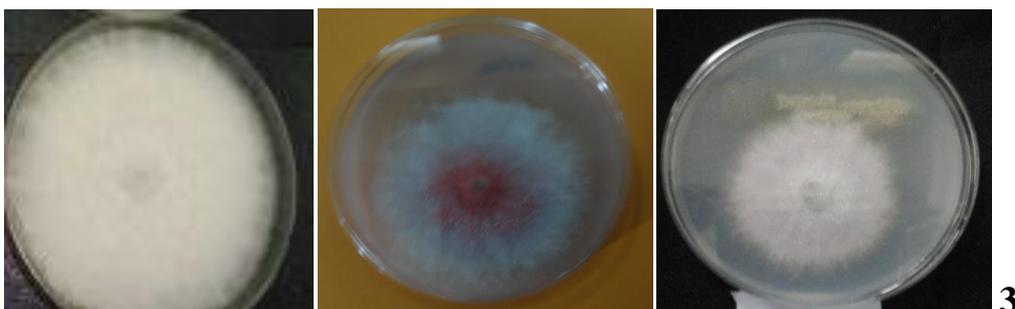
Fol+C7R12



Fol

Fol+PP

Fol+C7R12



Fol

Fol+PP

Fol+C7R12

Figure 13: Exemple des activités antagonistes sur les milieux de culture

(1 : PDA, 2 : KB, 3 : PDA+KB)

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Tableau 8: Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture (cinq jour d'incubation).

Heures	PDA		KB		PDA+KB	
	<i>PP</i> × <i>Fol</i>	<i>C7R12</i> × <i>Fol</i>	<i>PP</i> × <i>Fol</i>	<i>C7R12</i> × <i>Fol</i>	<i>PP</i> × <i>Fol</i>	<i>C7R12</i> × <i>Fol</i>
24h	59	74	15	20	40	66
48h	49	58	56	34	71	45
72h	53	39	58	64	52	48
96h	54	36	60	72	46	29
120h	46	30	67	51	42	39

PP, C7R12 : Souche de *pseudomonas fluorescents*.

Fol: *Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersici*

Sur le milieu KB liquide, la souche C7R12 a enregistré une activité antagoniste avec un taux d'inhibition variant de 20% à 72%, alors que la souche PP a exercé un taux d'inhibition de 15% à 67% (Tableau 8, Annexe 2).

Sur le milieu PDA, le taux d'inhibition varie de 46% à 59% pour la souche PP, et varie de 20% à 72% pour C7R12 (Tableau 8, Annexe 2).

Dans le cas du milieu mixte liquide, le taux d'inhibition pour la souche PP est de 40% à 71%, et pour la souche C7R12 est de 29 à 66% (Tableau 8, Annexe 2).

Après 120h d'inhibition, en comparant l'effet d'inhibition de la croissance mycelienne du l'isolat *Fol*, nous constatons que les deux souches bactériennes PP et C7R12, présentent une hétérogénéité dans leur activité antagoniste. La souche antagoniste qui a plus d'action est la souche C7R12 (20 % à 74 %) respectivement sur les milieux KB liquide et PDA. La souche bactérienne PP a enregistré un taux d'inhibition qui varie de (15 % à 71 %) sur les mêmes milieux après 120h d'incubation (Tableau 8, Annexe2).

PARTIE 3 : Résultats et discussion

2.1.3. Discussion

Les résultats obtenus à partir des tests d'inhibition de la croissance mycélienne, de l'isolat *Foln*, et l'isolat *Fol* ont montré que nos deux souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents PP et C7R12 inhibent considérablement les deux agents fongiques sur les trois milieux de culture (KB ; PD ; et PDA+KB). Ainsi, nous pouvons dire que les traitements représentés par les souches PP et C7R12 ont un bon effet antagoniste vis-à-vis de *Foln* agent de flétrissement fusarien du lin, et *Fol* agent de flétrissement fusarien de la tomate.

Nous pouvons attribuer l'activité antagoniste exercée par les deux souches, à la synthèse des métabolites secondaires particulières (Hass et *al.*, 1991, Weller et Thomashow 1993).

Le fer est un élément indispensable à la germination conidienne, La production en quantité importantes de métabolite chélatrice de Fe_{3+} permet aux *Pseudomonas* spp. fluorescents de s'approprier tout le fer nécessaire à leur croissance, vue leur forte affinité, et de le rendre inaccessible aux micro-organismes vivants dans le même milieu (Jaques et *al.*, 1994). Ces bactéries interviennent dans la suppression des maladies par le phénomène de compétition vis-à-vis du fer avec les microorganismes phytopathogènes (Lemanceau, 1992).

D'après nos résultats sur les milieux PDA et (PDA+KB), qui ne favorisent pas la production du pigment fluorescent, les souches bactériennes se caractérisent par des activités antagonistes importantes. Ceci peut s'expliquer par l'implication d'autres mécanismes d'action, en montrant que la fluorescence, signe de synthèse de sidérophores, n'est pas subordonnée obligatoirement à l'activité antagoniste. Des constatations similaires ont été révélées par plusieurs travaux avec des essais en milieux non carencés en fer (Digat, 1983 ; Geels et schippers, 1983).

L'effet antagoniste des *Pseudomonas* spp. fluorescents, peut être dû à la synthèse d'antibiotique ou d'autres métabolites à effet inhibiteur. D'après les travaux de (Howell et Stipanovic 1980), il y a implication de deux antibiotiques, la pyolutéorine et la pyvolnitrine synthétisées pas la souche Pf5 de *Pseudomonas fluorescens*

Les variations des zones d'inhibition peuvent être expliquées par d'éventuelles intensités de production de métabolites secondaires à 48h et 72h, et leur probable dégradation après 120h.

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Il a été démontré également, que certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la capacité de produire le 2 - 4 diacétyl phloroglucinal (phl), qui se caractérise par des effets d'antibiose (Lemanceau, 1992).

Ces principaux mécanismes d'action de *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent être la cause de l'activité antagoniste vis-à-vis de *Foln* *Fol*. Ces mécanismes peuvent agir séparément ou simultanément dans l'inhibition de la croissance des populations de *Foln* et de *Fol*.

2.2. EVOLUTION DE L'ACTIVITE DE *TRICHODERMA* SP

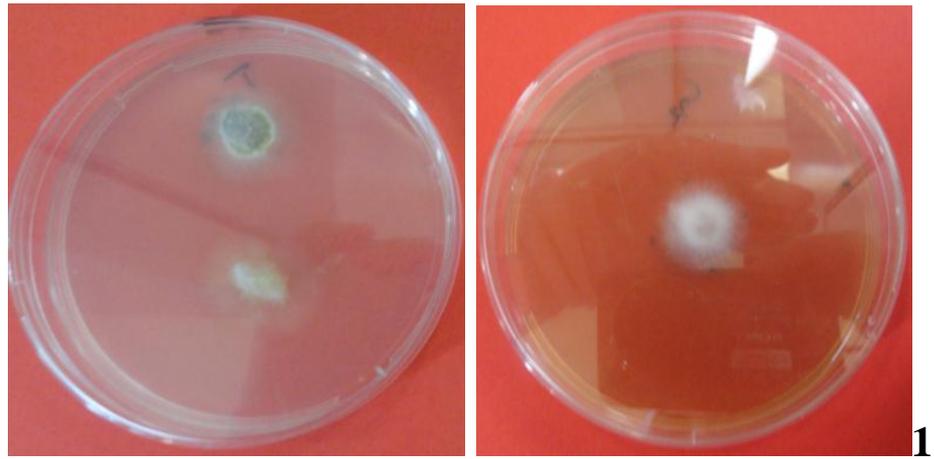
Le repiquage simultané de *Trichoderma* sp et de l'isolat de *F.oxysporum f.sp.lini* a montré une croissance plus rapide de *Trichoderma* sp. Au bout de quatre jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, alors que les isolats de *Foln* occupe une surface de 4 cm de diamètre; ce qui Correspond à un taux d'inhibition de la croissance mycélienne variant de 20% à 40%.(Tableau 9). (Figure15, Annexe 2)

Tableau 9: Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur le milieu culture PDA (*Foln*×*T*), pendant cinq jours d'incubation

Heures	PDA
	<i>Foln</i> × <i>Trichoderma</i> sp
24h	33
48h	26
72h	40
96h	20

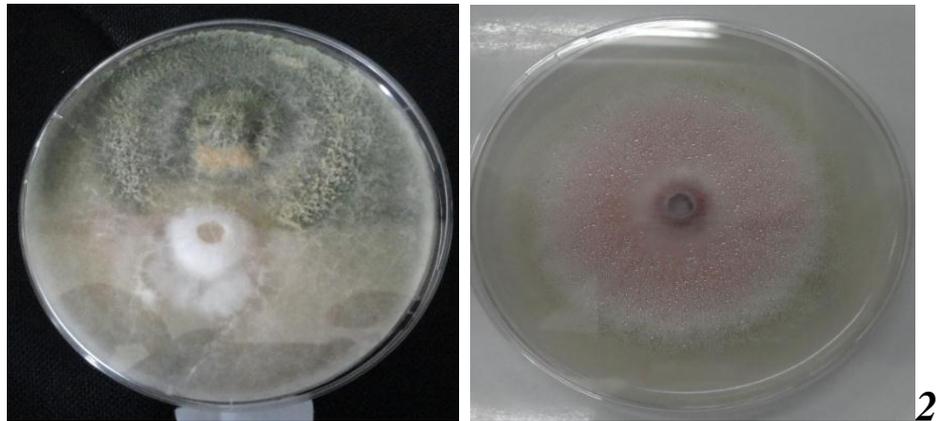
Foln: *Fusarium oxysporium* f.sp. *lini* ; *Trichoderma* sp

Nous remarquons que cet isolat antagoniste présente une certaine activité antagoniste inhibitrice en inhibant la croissance mycélienne de *Foln* sur milieu de culture PDA. Concernant l'isolat (*Fol*) occupe la même surface avec le témoin pendant les quatre jours d'incubation ; et nous avons remarqués aucune zone d'inhibition (Figure 14). Alors le teste d'inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat fongique *Fol*, avec l'antagoniste *Trichoderma* sp a montré aucune activité antagoniste visible (Figure 14).



Fol+T

Fol



Fol+T

Fol

Figure14: Exemple des activités antagonistes sur le milieu de culture PDA (*Fol*×*T*)
(1) après 24h d'incubation.
(2) après 120h d'incubation.

PARTIE 3 : Résultats et discussion

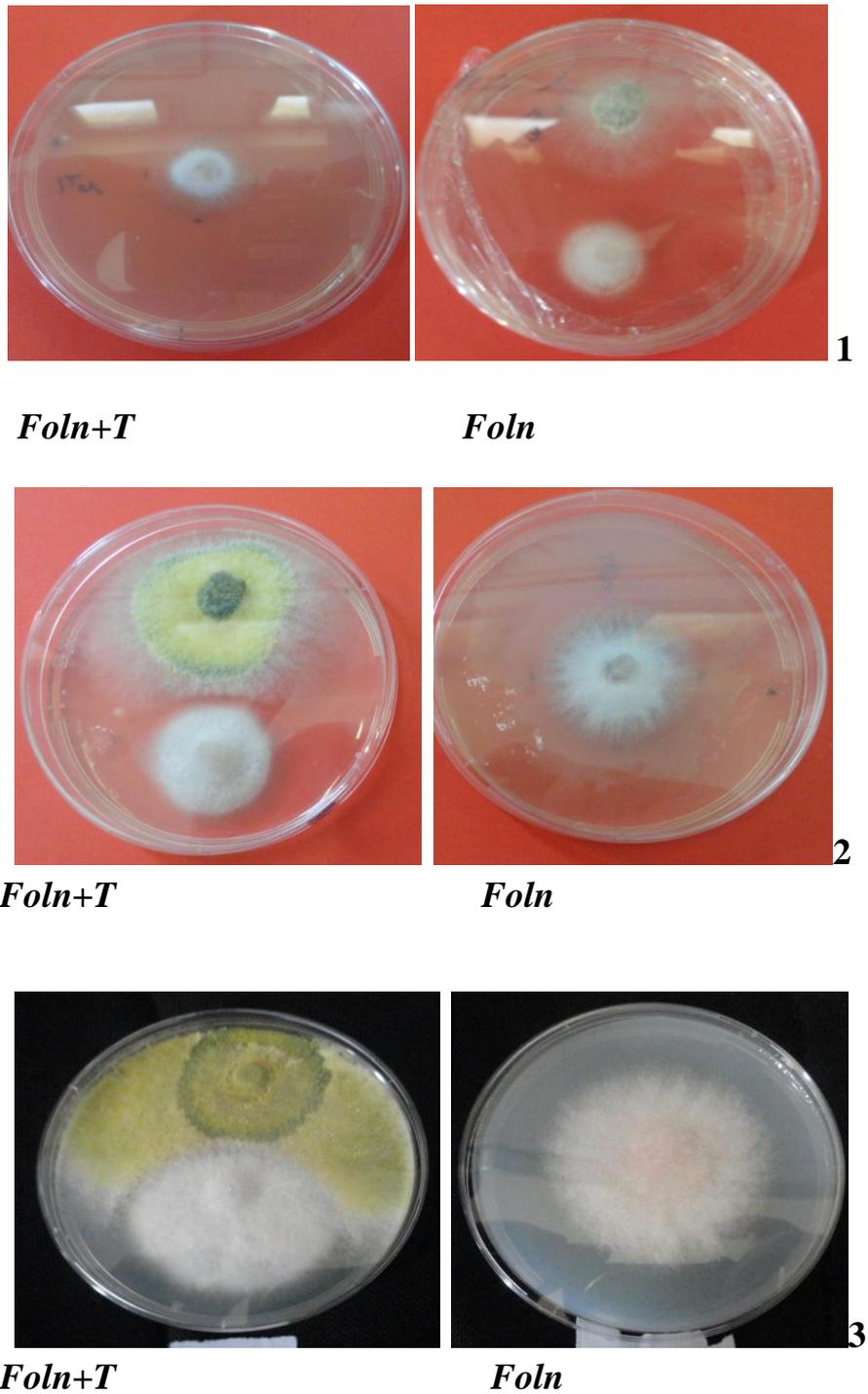


Figure 15 : Exemple des activités antagonistes sur le milieu de culture PDA (*Foln*×*T*).

- (1) après 48h d'incubation.
- (2) après 72h d'incubation.
- (3) après 96h d'incubation.

PARTIE 3 : Résultats et discussion

2.2.1. Discussion

Les résultats obtenus à partir des tests antagonistes in vitro concernant l'isolat F01n ont démontré que l'isolat cryptogamique *Trichoderma* sp a une activité d'antagonisme importante sur le milieu PDA

Envahissement du mycélium du pathogène par *Trichoderma* a été observé par Benhamou et Chet (1987) en réalisant une confrontation directe sur milieu de culture entre cet antagoniste et un autre champignon tellurique, le *Pythium ultimum* et c'est au bout de quatre à cinq jours après l'inoculation.

Daami-Remadi et El Mahjoub (2001) ont signalé, en testant l'activité antagoniste de *Trichoderma* vis-à-vis de deux espèces de *Pythium*, que pendant les trois premiers jours la boîte de Pétri est totalement envahie par *Pythium* spp et que *Trichoderma* ne commence à exercer son activité antagoniste qu'à partir du 4^{ème} jour d'incubation.

Les *Trichoderma* sont connus de longue date pour leurs activités antagonistes à l'égard de nombreux champignons, Dennis et Webster (1971) mettent en évidence des antibiotiques secrétés par les *Trichoderma*, solubles dans le chloroforme et extractibles à partir du milieu de culture.

D'après Comporata (1985), cette interprétation favorise l'action des enzymes (β 1-3) gluconase- chitinase qui conduisent à la lyse du mycélium du parasite. Beaucoup de travaux ont montré l'implication importante des enzymes chitinolytiques dans le mycoparasitisme, l'antagonisme et la lutte biologique. Dans l'interaction mycoparasitaire in vitro, une induction de l'expression des enzymes chitinolytiques est induite dans les premières heures de contact avec le pathogène, ces enzymes apparaissent à être impliquées dans la pénétration et la mort de l'hôte (Benhamou, 1990 ; Carosolio et al., 1999 ; Chérif ; Chet, 1995; Haran et al., 1996 Lorito et al., 1998).

Les espèces de *Trichoderma* peuvent, grâce à la production d'enzymes (chitinases et glucanases), parasiter directement les hyphes des champignons qu'ils combattent, les pénétrer et provoquer la lyse de leurs cellules (Fuchs et al., 1999).

Trichoderma est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Il permet, au niveau des racines, de

PARTIE 3 : Résultats et discussion

créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines (Caron, 2002).

Les espèces de *Trichoderma* sont caractérisées par une croissance rapide et une grande capacité à la compétition saprophytique (Jenkins, 1986; Cole, 1988).

La compétition se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (le carbone, l'azote, autres facteurs de croissance et des sites de développement) que les champignons pathogènes, mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables (Moussawi, 2010).

2.3. ETUDE COMPARATIVE DE L'EFFET ANTAGONISTE DES SOUCHES DE *PSEUDOMONAS* ET DE *TRICHODERMA* SP

Les essais des activités antagonistes in vitro montrent que les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* (PP, C7R12) et l'agent fongique antagoniste *Trichoderma* sp présentent des actions antagonistes vis-à-vis des deux souches de *Fusarium oxysporum* Foln.

Nous remarquons d'après les résultats obtenus (Tableau 10), que les souches de *Pseudomonas* et de *Trichoderma* sont antagonistes sur le milieu de culture utilisés PDA, selon la méthode expérimentée (confrontation directe en boîte de Pétri). Dans tous les essais, il a été constaté que la croissance mycélienne des pathogènes est nettement inférieure par rapporte aux témoins (absence des antagonistes).

Tableau 10 : taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur le milieu PDA

HEURES	PDA		
	<i>PP</i> × <i>Foln</i>	<i>C7R12</i> × <i>Foln</i>	<i>Trichoderma</i> × <i>Foln</i>
24h	31	68	33
48h	65	57	26
72h	48	56	40
96h	52	38	20

PP, *C7R12* : Souches de *pseudomonas fluorescents*.
Foln: *Fusarium oxysporium* f.sp.*lini*, *Trichoderma* sp

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Le maximum d'inhibition a été enregistré avec la souche C₇R₁₂ qui est de 68 % vis-à-vis *Foln*. L'inhibition exercée par la souche de *Trichoderma* sp n'est que de 40% vis-à-vis *Foln* et de 65 % avec la souche *PP* vis-à-vis *Foln* (Tableau 10). Les résultats obtenus à partir des tests antagonistes *in vitro* ont démontré que la souche *C7R12* est douée d'une activité d'antagonisme importante que la souche *PP* et la souche *Trichoderma* sp, sur le milieu utilisé, vis-à-vis de isolat cryptogamique *Foln*. En comparant les activités antagonistes des trois souches antagonistes, *C7R12* a montré plus d'efficacité que *PP* et *Trichoderma* sp.

3. ANTAGONISME *IN SITU*

L'étude de l'antagonisme *in situ*, a permis l'obtention des résultats avec les deux variables étudiés, à savoir l'indice de la maladie et la sévérité de la maladie (Figures 16,17,18,19,20 et 21).

3.1. TAUX D'INFECTION

D'après nos résultats (Tableaux 11, 12 et Annexe 2), nous constatons que l'évolution du taux d'infection sur les deux variétés de lin, montre le recul de la maladie dans le cas des traitements bactérisés avec les deux souches *PP* et *C7R12* par rapport aux témoins positifs, notamment avec la souche *C7R12*. Les symptômes observés dans ces cas restent sans grande gravité par rapport aux symptômes typiques observés chez les témoins malades.

Pour le lin brun, l'indice de l'infection a marqué une stagnation au seuil de 75% avec les deux souches *C7R12* et *PP*. Nous constatons que l'infection débute avec un taux de 12.5% chez la souche *C7R12* et 25% chez la souche *PP*, pour atteindre une évolution assez faible par rapport au témoin. Pour ce dernier, l'évolution de l'indice d'infection a été brusque et rapide, en commençant par un indice de l'ordre de 14.28%, dès la première observation pour dépasser le seuil de 42.8% dès la troisième observation et atteindre un maximum de 100% durant les dernières observations (Tableau12).

Quant au lin doré, l'indice de l'infection a marqué une stagnation au seuil de 75% avec la souche *C7R12* et 80% avec la souche *PP*. Nous remarquons, que l'évolution du taux d'infection en présence des deux souches reste assez faible par rapport au témoin positif, qui évolue brusquement et rapidement, en commençant par un indice de l'ordre de 14.28%, dès la première observation pour atteindre un seuil de 71.42% dès la troisième observation et un maximum de 100% durant les dernières observations (Tableau11).

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Pour les traitements associés avec les deux souches PP et C7R12 : $T_{S_1V_1}$, $T_{S_1V_1}$, ainsi que le traitement qui concerne le témoin négatif (T-), l'indice d'infection est nul.

Tableau 11 : Evolution du taux d'infection (%) sur le lin doré

Traitement /Date	T(-)	T(+)	T_3 : <i>PP+Foln</i>	T_4 : PP + <i>Foln</i>	$T_{S_1V_2}$: C7R12	$T_{S_2V_2}$: PP
02.05.2014* (1)	0	14,28	0	0	0	0
07.05.2014 (2)	0	42,85	0	20	0	0
13.05.2014 (3)	0	71,42	25	60	0	0
16.05.2014 (4)	0	71,42	25	60	0	0
26.05.2014 (5)	0	71,42	50	60	0	0
29.05.2014 (6)	0	85,71	75	80	0	0
04.06.2014 (7)	0	100	75	80	0	0
05.06.2014 (8)	0	100	75	80	0	0

1, 2, 3, ... 8 : Dates des observations symptomatologiques.

Tableau 12 : Evolution du taux d'infection (%) sur le lin brun

Traitement /Date	T(-)	T(+)	T_1 : <i>PP+Foln</i>	T_2 : PP + <i>Foln</i>	$T_{S_1V_2}$: C7R12	$T_{S_2V_1}$: PP
26.04.2014 (1)	0	14,28	0	0	0	0
07.05.2014 (2)	0	28,5	0	0	0	0
13.05.2014 (3)	0	42,8	0	25	0	0
16.05.2014 (4)	0	42,8	12,5	37,5	0	0
26.05.2014 (5)	0	87	62,5	75	0	0
29.05.2014 (6)	0	87,5	62,5	75	0	0
04.06.2014 (7)	0	100	75	75	0	0
07.06.2014 (8)	0	100	75	75	0	0

PARTIE 3 : Résultats et discussion



Figure16 : Etat des plantes de lin après 10 jours d'inoculation par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* (Foln).



Figure 17 : Etat des plantes de lin après 53 jours d'inoculation par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* (Foln).

PARTIE 3 : Résultats et discussion

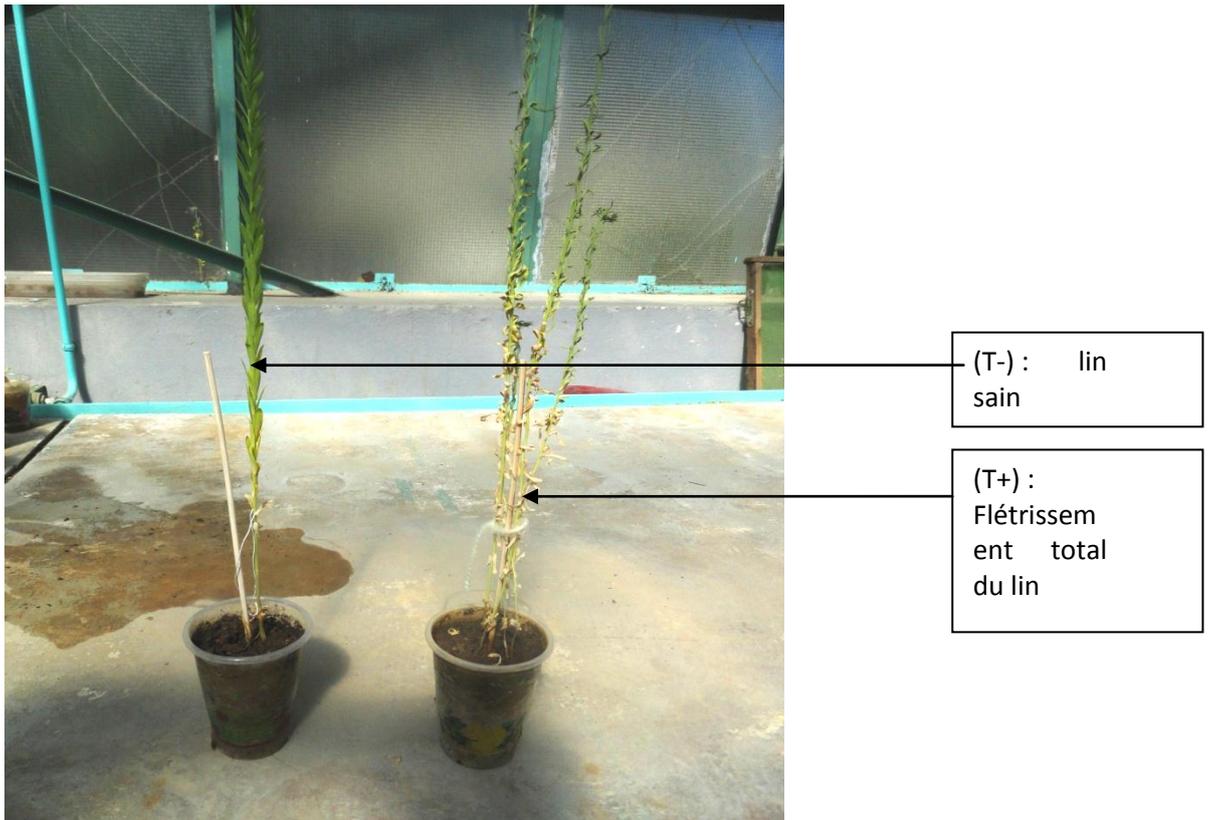


Figure18 : Différence entre le témoin positif (T+) et le témoin négatif (T-).

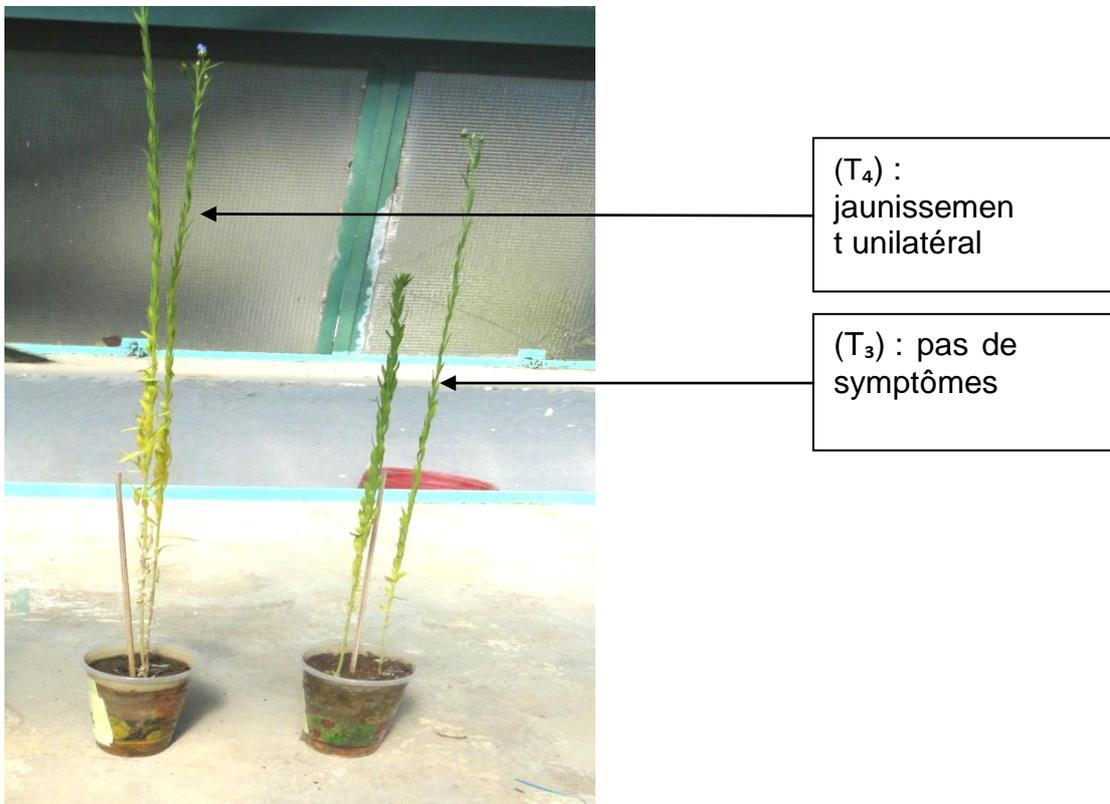


Figure19 : Différence entre T₃ (C7R12×*Foln*) et T₄ (PP×*Foln*) 28 jours après inoculation de l'isolat fongique phytopathogène *Foln*.

PARTIE 3 : Résultats et discussion

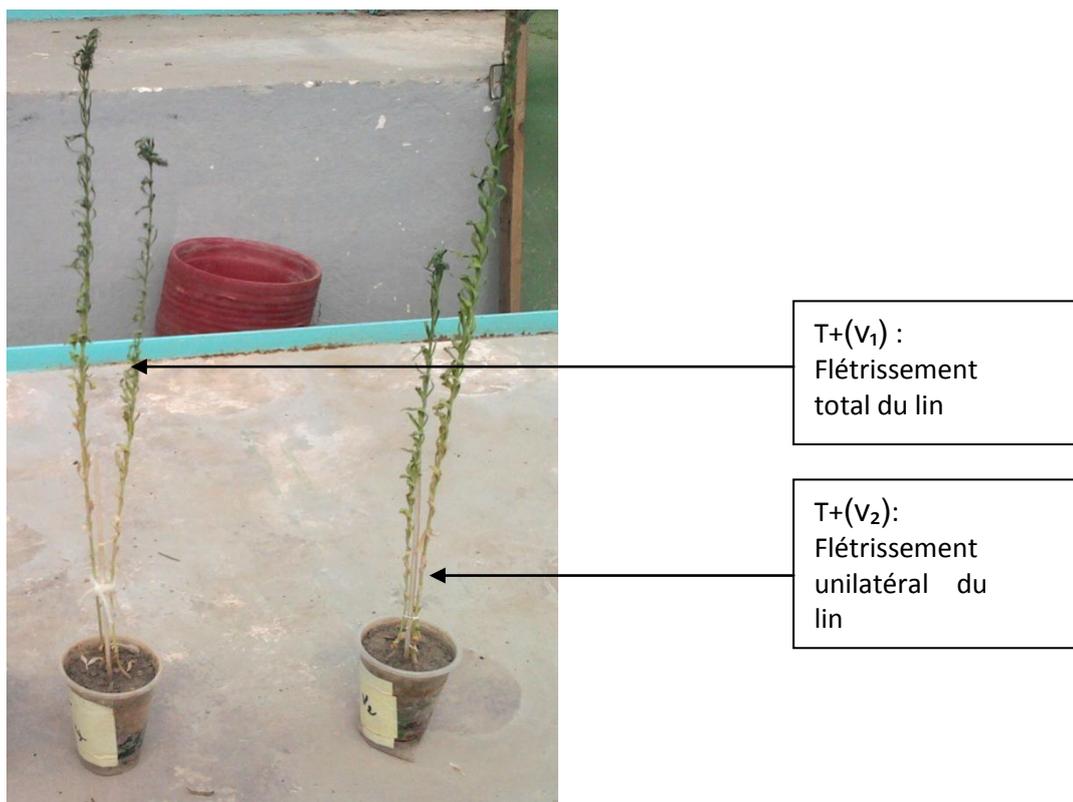


Figure 20 : Différence entre T+ (v₁) et T+ (v₂) après 45 jours d'inoculation de l'isolat fongique *Foln*.

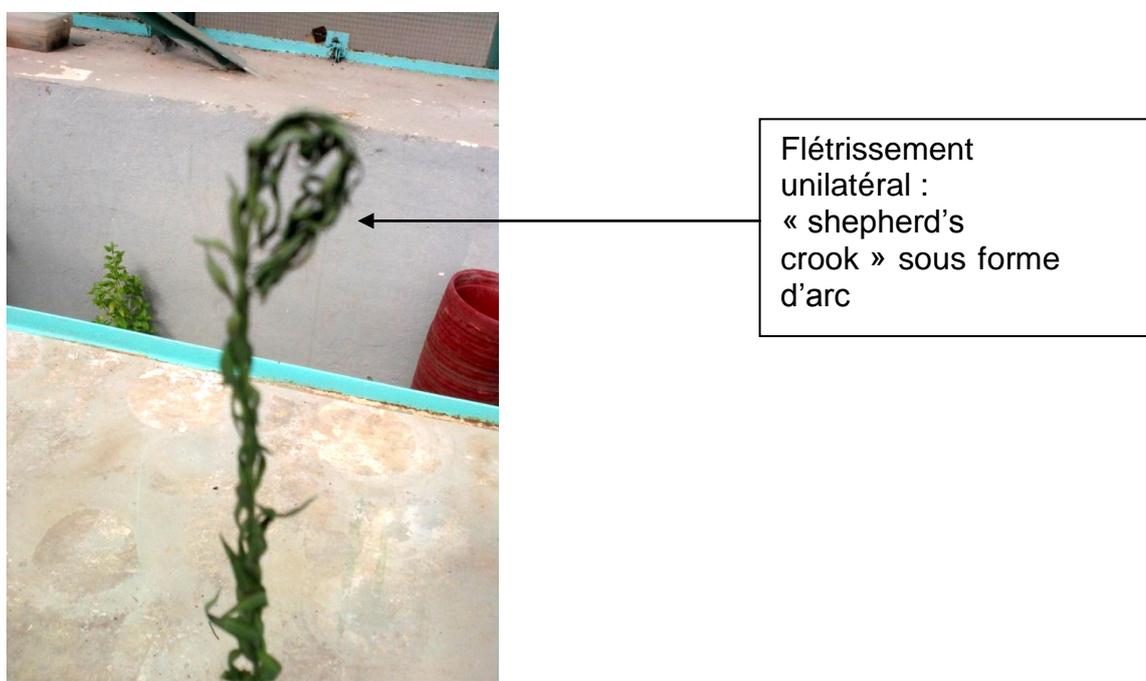


Figure 21 : Le symptôme « shepherd's crook » (sous forme d'arc) spécifique du champignon phytopathogène *Foln*, observé chez le lin à flétrissement unilatéral.

PARTIE 3 : Résultats et discussion

3.2. LA SEVERITE DE LA MALADIE

D'après les résultats obtenus (Tableaux 13, 14 et Annexe 2), nous remarquons que la bactérisation des deux variétés de lin avec les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* PP et C7R12 en interaction avec l'isolat fongique phytopathogène *Foln*, a permis de réduire la sévérité de la maladie en comparaison avec le témoin positif (*Foln*). Dans le cas de la bactérisation avec la souche C7R12 nous avons enregistré une moindre sévérité de la maladie de l'ordre de 62.5% chez le lin brun, et de l'ordre de 20% chez le lin doré. Avec la souche PP, les taux de sévérité sont de 67% chez le lin brun, et de 56% chez le lin doré. Dans le cas du témoin positif, la sévérité est de 83% chez le lin brun, et de 73.33% chez le lin doré. En comparant la sévérité de la maladie entre les deux variétés de lin, nous remarquons que le lin doré enregistre une faible sévérité par rapport au lin brun.

La sévérité de la maladie s'est déclenchée 17 jours après l'inoculation pour les témoins positifs, et après 28 jours pour les traitements T₁, T₂, T₃, et T₄. L'évolution de la sévérité de la maladie pour le cas des témoins positifs reste très importante et atteint son maximum à la huitième observation avec une moyenne de 83% pour le lin brun, et 73.33% pour le lin doré (Tableaux 13, 14 et Annexe 2).

Nous constatons que l'évolution de la maladie dans le cas des traitements T₁, T₂, T₃, et T₄ est plus faible comparée à celle du témoin positif pour les deux variétés de lin. Le taux le plus faible qui a été enregistré est de 20% avec la souche C7R12 chez le lin doré (Tableaux 13,14 et Annexe 2).

L'effet antagoniste exercé par les souches C7R12 et PP contre l'agent de la fusariose vasculaire du lin, a permis de réduire de façon significatives la sévérité de la maladie par rapport au témoin positif. Une réduction de 20.5% a été obtenue avec la souche C7R12 chez le lin brun et 53.33% chez le lin doré, suivie de PP avec une réduction de 16% chez le lin brun et 17.33% chez le lin doré (Tableaux 13 et 14).

D'après les différentes variables étudiées, nous pouvons dire que les traitements représentés par les souches C7R12 et PP ont un effet antagoniste efficace vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp.lini* agent de flétrissement fusarien du lin.

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Tableau 13 : Valeurs de la sévérité de la maladie (%) pour le lin doré

Traitement /Date	T(-)	T(+)	T ₃ : <i>PP+Foln</i>	T ₄ : PP + <i>Foln</i>	T _{S₁V₂} : C7R12	T _{S₂V₂} : PP
02.05.2014* (1)	0	3,33	0	0	0	0
07.05.2014 (2)	0	10	0	8	0	0
13.05.2014 (3)	0	16,66	5	12	0	0
16.05.2014 (4)	0	20	5	16	0	0
26.05.2014 (5)	0	23,33	20	20	0	0
29.05.2014 (6)	0	50	20	32	0	0
04.06.2014 (7)	0	70	20	56	0	0
05.06.2014 (8)	0	73,33	20	56	0	0

Tableau 14 : Valeurs de la sévérité de la maladie (%) pour le lin brun

Traitement /Date	T(-)	T(+)	T ₁ : PP+Foln	T ₂ : PP + <i>Foln</i>	T _{S₁V₂} : C7R12	T _{S₂V₁} : PP
26.04.2014 (1)	0	2,85	0	0	0	0
07.05.2014 (2)	0	5,71	0	0	0	0
13.05.2014 (3)	0	8,57	0	5	0	0
16.05.2014 (4)	0	8,57	2,5	7,5	0	0
26.05.2014 (5)	0	45	27,5	32,5	0	0
29.05.2014 (6)	0	65,71	37,5	47,5	0	0
04.06.2014 (7)	0	80	55	60	0	0
07.06.2014 (8)	0	80	62,5	67	0	0

PARTIE 3 : Résultats et discussion

3.3. DISCUSSION

Les résultats obtenus dans le test de biocontrôle *in situ*, concordent avec ceux déjà obtenus par plusieurs chercheurs sur des essais réalisés en serre ou en plein champ. Ces essais montrent l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. fluorescents en tant qu'agent de biocontrôle contre les pathogènes telluriques (Becher et Cook, 1988 ; Lemanceau, 1992).

La réduction de la sévérité de la maladie causée par *Foln* au cours de notre essai sous serre, peut s'expliquer par plusieurs mécanismes. Il paraît clairement que ces mécanismes responsables des effets de certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents reposent sur leurs activités antagonistes par la production des métabolites secondaires à l'encontre des agents phytopathogènes (Digat, 1994).

Les maladies causées par le champignon tellurique phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* peuvent provoquer de graves dommages sur le lin. Dans les conditions de culture, la lutte biologique pourrait être réalisée par l'application de certaines souches de *Pseudomonas* spp fluorescents ou *Fusarium oxysporum* non pathogènes. Soixante-quatre souches de *Pseudomonas* spp fluorescents ont été testés pour leur capacité à réduire l'incidence de la fusariose du lin, appliquées seules ou en association avec une souche non pathogène présélectionnée de *Fusarium oxysporum* (*Fo47*), et les résultats ont été bien prometteurs (Alabouvette ; Lemanceau, 1991).

La protection contre la fusariose du lin assurée par l'inoculation seule de *P. fluorescens* *Ps60* rif producteur de DAPG a été plus efficace comparée à celle assurée par le mutant *Ps 17-8D* non producteur de DAPG. Cette protection est probablement liée à la synthèse de l'antibiotique de DAPG (antibiose) (Lemanceau, 1992).

La lutte biologique peut être définie comme étant l'introduction d'un ennemi naturel à un ravageur/pathogène donné pour réduire les dommages causés par ce dernier (Bale et al., 2008). Si les traitements avec des pesticides présentent de bons résultats à court terme, à long terme leur action secondaire sur l'environnement devient inquiétante (Corbaz, 1990).

Le traitement chimique représente une solution de facilité, qui correspond aussi au besoin d'absolu de l'homme, désirant un résultat rapide et total. La lutte biologique au contraire n'a qu'une efficacité relative et demande davantage d'observation, mais à long terme, elle est plus intéressante sur tous les plans (Corbaz, 1990).

PARTIE 3 : Résultats et discussion

Les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* saprophytes, particulièrement *Pseudomonas fluorescens* et *P. putida*, ont été identifiées comme des agents potentiels dans le contrôle biologique des champignons telluriques phytopathogènes sur différentes plantes (Howell et Stipanovic, 1979)

Les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* ont été étudiés comme agents potentiels de lutte biologique contre la fusariose du lin. Ces bactéries doivent avant tout coloniser la rhizosphère concernée. Cette colonisation implique un chimiotactisme envers les exsudats racinaires, une absorption des microorganismes sur les racines, et enfin une compétition pour les substrats nutritifs présents. Cette seule colonisation peut entraîner une occupation de sites suffisante pour empêcher la croissance d'autres micro-organismes, dont le pathogène responsable de la fusariose du lin (Jacques et al., 1993).

L'utilisation des rhizobactéries qui favorisent la croissance des plantes en agriculture, peut permettre de stimuler la croissance des plantes et d'inhiber l'action des pathogènes. L'emploi des PGPR modifiés génétiquement ou non peut permettre de diminuer l'utilisation des pesticides (Beauchamp, 1993).

Parmi les modes d'action antagonistes de ces *Pseudomonas* spp. *fluorescents*, la compétition et l'antibiose ont été particulièrement étudiées (Lemanceau, 1992).

Afin de mieux maîtriser la complexité de ces interactions, il faut développer des études permettant, d'une part, de mesurer, dans un même système plante/micro-organisme, l'importance de chacun des mécanismes d'action des *Pseudomonas* et, d'autres part, d'analyser le comportement d'une souche donnée dans différentes rhizosphères. Ces travaux permettront de relier l'ensemble des mécanismes (colonisation, antibiose, sidérophore) dont l'intégration pourrait améliorer l'efficacité des agents de lutttes biologique dont les *Pseudomonas* (Jacques et al., 1993).

CONCLUSION

Les pressions sociales en vue de diminuer l'utilisation des pesticides en agriculture accentuent la demande pour des produits biologiques aptes à réduire l'action des agents phytopathogènes. Il devient donc important de développer les différentes méthodes de lutte biologique par l'utilisation d'organismes antagonistes, afin de réduire les effets des phytopathogènes et de favoriser la croissance et la santé des plantes.

L'utilisation des PGPR, peut permettre de stimuler la croissance des plantes et de réduire l'effet des agents phytopathogènes, et ainsi ils peuvent permettre de diminuer l'utilisation des pesticides, ce qui devrait encourager les efforts des recherches dans ce domaine.

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents constituent l'un des groupes les plus étudiés dans le cadre de la lutte biologique. Au cours de ces trente dernières années, de nombreux auteurs se sont efforcés de détailler chacune des propriétés susceptibles d'expliquer la prédominance des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans le sol et plus particulièrement au niveau de la rhizosphère, et c'est cette approche qui a le mérite de nous avoir fait découvrir des mécanismes biochimiques passionnants tels que l'antibiose et la compétition pour le fer par le biais des sidérophores.

Le genre *Trichoderma* a été utilisé depuis les années 1930 dans la lutte biologique appliquée en agriculture. Différentes espèces de ce genre ont montré leur efficacité dans la lutte contre les agents phytopathogènes aériens et telluriques.

En effet, les résultats des tests antagonistes *in vitro*, en utilisant les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents C7R12 et PP et à l'égard de *Fusarium oxysporum f.sp lini* et *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* sur les trois milieux de culture (KB, PDA et le milieu mixte) ont révélé une inhibition de la croissance mycélienne du pathogènes testés. Les bactéries antagonistes montrent une variabilité du taux d'inhibition vis à vis du champignon pathogène *Foln* et *Fol*. Nous avons constaté que la variation de l'activité antagoniste *in vitro* dépend non seulement des souches antagonistes, mais aussi du milieu de culture utilisé.

Les essais sur les milieux PDA entre les pathogènes testés et l'isolat cryptogamique de genre *Trichoderma*, ont montré un effet antagoniste notable sur la croissance mycélienne du pathogène *Foln*.

Conclusion

Concernant le teste d'inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat fongique *Fol*, avec l'antagoniste *Trichoderma* sp nous avons remarqué aucune activité antagoniste visible

L'étude comparative des effets antagonistes a démontré que la souche C7R12 est douée d'une activité d'antagoniste importante que la souche PP et la souche *Trichoderma* sp, sur le milieu utilisé PDA, vis-à-vis de isolat cryptogamique *Foln*. La souche C7R12 a montré plus d'efficacité que PP et *Trichoderma* sp.

L'application *in situ* confirme davantage les actions antagonistes des deux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents PP et C7R12 vis-à-vis de l'agent fusarien *Foln*. Il apparaît que les effets antagonistes diffèrent selon la souche bactérienne. Les meilleurs résultats sont obtenus avec la souche C7R12, qui inhibe l'expression de la maladie de façon très significative.

Par ces résultats, nous constatons un rôle protecteur des souches bactériennes antagonistes envers les plantes de lin vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp.lini*.

Le problème le plus important qui rend le succès de l'utilisation des PGPR et de *Trichoderma* incertain en agriculture provient de leur inconstance à promouvoir la croissance des plantes. Cette variabilité peut s'expliquer par les facteurs biotiques et abiotiques affectant la survie et les effets des PGPR et de *Trichoderma* dans la rhizosphère.

Nous souhaitons continuer les recherches sur les caractéristiques des souches antagonistes, surtout dans des conditions contrôlées à fin de mieux comprendre certains mécanismes d'action qui peuvent être spécifiques selon les souches. Un autre volet s'avère indispensable, à la réussite de cette technique biologique, qui consiste à engager des études sur la bioformulation des ces biopesticides pour des usages pratiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

Agrios G.N, (2005). *Plant pathology*, 5th edn, Elsevier Academic Press, Burlington, Mass, p 952.

Agrios GN, (1988). *Plant Pathology*, 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York.803.

Agrios, G.N., 2005. *Plant Pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK

Alabouvette C., 1999. Fusarium wilt suppressive soils: an example of disease suppressive soils. *Aust J. Plant pathol.* 28: 57-64.

Alabouvette, C., Lemanceau, P. and Steinberg, C. 1993. Recent advances in the biological control of Fusarium Wilt. *Pestic. Sci.* 37 : 365-373.

Anderson, A. J., and D. Guerra (1985). Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in a hydroponic system. *Phytopathology* 75:992-995.

Anonyme, (2011). Identifier les maladies les plus fréquentes du lin. <http://www.syndicat-agricole.com/actualites/lin-identifier-les-quatre-maladies-les-plus-frequentes:H31HY6NN.html>
bacterium. *Phytopathology*, 69:480-2.

Bakker, P.A.H.M., R. van Peer et B. Schippers (1991). Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent *Pseudomonas*: mechanisms and prospects. Pages 217- 230 in A. R. B. Beemster, G. J. Bollen, M. Gerlagh, M. A. Ruissen, B. Schippers et A. Tempel (réds.), *Biotic interactions and soilborne diseases*. Elsevier, New York.

Bakker, P.A.H.M., Ran, L.X., Pieterse, C.M.J., and Vanloon, L.C. (2003). Understanding the involvement of rhizobacteria .mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant disease. *Can.J.Plant. Pathol.* 25:5-9.

Bakker, P.A.H.M., Ran, L.X., Pieterse, C.M.J., and Vanloon, L.C. (2003). Understanding the involvement of rhizobacteria .mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant disease. *Can.J.Plant. Pathol.* 25:5-9.

Beckman, C.H. (1989). Colonization of the vascular system of plants by fungal wilt pathogens: a basis for modiling the interaction between host and parasite in time and space, in *vascular wilt diseases of plants*. (Tjamos, E.C. et Beckman C.H. Eds) springer-verlag, Heidelberg, Berlin, pp.19-32.

Bissett, J. 2004. Commentaires de l'adresse internet suivante : [http ://www](http://www)

Références bibliographiques

- Bloemberg GV .Lugtenberg BJJ. (2001).** Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria .Gurr opin plant Biol.4:343-350
- Bojanowski, A. (2011).** Molecules antifongiques et activité antagoniste de deux souches de *Pseudomonas* envers *Helminthosporium solani*, agent responsable de la tache argentée de la pomme de terre. Département de phytopathologie Faculté des sciences Agronomiques. Université Laval Québec. 59pages.
- Brown,M.E.(1972).** Plant growth substances produced by micro-organisms of soil and rhizosphere.J.Appl.bacterial35:443-451.
- Caron, J. 1993.** Isolement et caractérisation de divers isolats de Trichoderma comme agent de lutte.
- Caron., 2002.** phytopathologiste Horti-Protection inc. conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi. Champignons phytopathogènes du sol. Bull. Soc. Pharm. 144 : 211-224.
- Caron., 2002.** phytopathologiste Horti-Protection inc. conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi. Champignons phytopathogènes du sol. Bull. Soc. Pharm. 144 : 211-224.
- Carosolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortes, C., Guttierrez, A., Chet, I. and**
- Cherif, M and Bnhamou, N., 1990.** Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a Trichoderma spp on Fusarium oxysporum f.sp radicislycopersici. Phytopathology 80: 1406-1414.
- Chet, L. 1987.** Trichoderma-application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi, p. 147-160. In I. Chet (ed.), Innovative approaches to plant disease control. John Wiley & Sons, New York.
- Chin-A-Woeng. T. F, Bloemberg. G. V, and Lugtenberg. B. J, (2003).** «Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria». New. Phyto. N° 157, pp.503-523.
- Cole (J.S.), Zvenyika (Z.), 1988.** Integrated control of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* in tobacco transplants with *Trichoderma harzianum* and triadimenol. - *Plant Pathol.*, 37(2), 271-277.
- COMPORATA ,1985.** « Antagonisme in vitro de Trichoderma spp vis à vis de Rhizoctinia solani, pp. 613-620. INRA Paris (FR).

Références bibliographiques

- Cook, R. et Baker, K. (1974).** Biological control of plant pathogens. Freeman, San Francisco, CA, USA. 380 pages.
- Corbaz, R. (1990).** Phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses, polytechniques et universitaires romandes CH-1015, 286p. Damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic
- Cynthia, M., 2011.** “plant disease control”. Oregon state university extension, p1.
- Daami- Remadi M., El Mahjoub M., 2001.** Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. l’INRAT 74, p. 167–186.
- Demange P, Wendenbaum S, Bateman A, Dell A, Abdellah MA (1987).** Bacterial siderophores: structure and physicochemical properties of pyoverdins and related compounds. In : Winkelmann G, Van der Helm D, Neilands JB, éd. Iron transport in microbes, plants and animals. Weinheim: VCH, 197: 167-87.
- Dennis, L. and J. Webster. 1971b.** Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 41-48.
- Digat, B., Gaudillat, M., Labardie, J.M. (1990).** Susceptibility of various tomato and lettuce genotype to plant growth promoting *Pseudomonas*. *Symbiosis* 9:295-303
- Digat, B. 1992.** Control biologique et stimulation de la germination par la bactérisation. *Phytoma. Défense des végétaux.* 441 : 34-38.
- Digat, B. (1994).** Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes :
- Dmitri V. Mavrodii Wulf Blankenfeldt, and Linda S. Thomashow, 2006,** “Phenazine Compounds in Fluorescent *Pseudomonas* Spp. Biosynthesis and Regulation”, *Phytopathology* Vol. 44: 417-445 p.
- Dreistadt, SH et Clark, JK (2004).** Ravageurs des arbres et arbustes paysage: un guide de gestion intégrée des ravageurs. ANR Publications. 233-34.
- Dubos, B., F. Jailloux et J. Bulit. 1982.** Protection des vignobles contre la pourriture grise : les propriétés antagonistes du *Trichoderma* à l’égard du *Botrytis cinerea*. Pages 205-218 dans *La Sélection des Plantes*, Bordeaux.
- Elad, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1982.** Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology* 28: 719-725.

Références bibliographiques

- Farvel, D.R. (1988).** Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathology*
- Fernando, W., Nakkeeran, S. et Zhang, Y. (2006).** Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases. Dans: *PGPR: Biocontrol and Biofertilization* (Siddiqui, Z.A.), Springer, Dordrecht, The Netherlands. Pp. 67-109.
- Frankenberger, W.T.JR. And Arshad, M. (1991).** Microbial production of plant growth regulating substance in soil, pp162-171.
- Ghisalberti, E.L. and K. Sivasthamparam. 1991.** Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma*.
- Guillaumin, J.J., Chillali M., Ighili-Idder H., Mohammed C., Escarmant B.L. and Botton (1998).** Variation in the ITS and IGS regions of ribosomal DNA among the biological species of European *Armillaria*. *Mycol. Res.*, 10(2): 533-540.
- Haas D., Keel C., (2003).** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas spp.* and relevance for biological control of plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 41 pp. 117-153.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Vitebro, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004.** *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews/Microbiology* 2: 43-56;
- Altomar, C., Norvell, A., Bjokman, T. and Harman, G. E., 1999. Solubilisation of phosphates and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 2926-2933
- Harman, G.E., C.K. Hayes, M. Lorito, R.M. Broadway, A. Di Pietro, C. Peterbauer and A. Tronsmo. 1993.** Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum* : purification of chitinobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83 : 313-318.
- Harran, S., Shickler, H., Oppenheim, A. and Chet, I. 1996.** Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology* 86: 980-985
- Herrea Estrella, A. 1999.** Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech 42, in mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 929-935.
- Howell C.R., Plant disease, 87, 4-10, 2003,** inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite.

Références bibliographiques

- Howell CR, Stipanovic RC. (1979).** Control of *Rhizobactonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens*
- Howell, CR. et Stipanovic, R.D. (1980).** Suppression of *Pythium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* 70: 712-715.
- Howell, C.R., Okon, J. (1987).** Recent results of greenhouse and field trials on bacterial-induced growth promotion with no symptoms of plant diseases. *Int. Workshop PGPR. Ontario, Canada.* 29-33
- Inbar, J. and Chet, I. 1995.** The role of recognition in the induction of specific chitinases during mycoparasitism by *Trichoderma harzianum*. *Microbiology* 141: 2823-2829.
- Jaca (V.) (1970).** Thèse de Doctorat de Spécialité, Université de Nancy .
- Jones, J.P., J.B. Jones, and W. Miller. (1982).** Fusarium wilt on tomato. Fla. Dept. Agric. & Consumer Serv., Div. of Plant Industry. *Plant Pathology Circular No. 237.*
- Kaur, R ; Kaur, J ; Singh S., 2010.** “Non pathogenic fusarium as a biological control agent » *Plant Pathol. J.*, 9: 79-91.
- Kiely, P.D., Haynes, J.M., Higgins, C.H., Franks, A., Mark, G.L., Morrissey, J.P. and O’Garra, F. (2006).** Exploiting new systems-based strategies to elucidate plant-bacterial interactions in the rhizosphere-*Microb Ecol* 51, 257-266.
- King, E. O., Ward, M. K., and Raney, D .E. (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301.
- Kloepper, J.W., Keong, J., Teintze, M. et Schroth, M.N. (1980).** Enhanced plant growth promoting rhizobacteria. *Nature* 286: 885-88.
- Koster M, Van de Vossenbergh J, Van Klompenburg W, Leong J, Weisbeek P. (1991).** Characterization and regulation of a second high-affinity iron transport system (PubB) in a *Pseudomonas putida* WCS35. In: Gallu E, ed. *Book of abstracts of the the third international symposium on Pseudomonas biology and biotechnology.* Rome: Giuliana Boera. p107.
- Kubicek, C. P., Mach, R. L., Peterbauer, C. K. and Lorito, M. 2001.** *Trichoderma* from genes to biocontrol. *Journal of Plant pathology* 83: 11-23.

Références bibliographiques

- Landreau, A. 2001.** Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes : 201 p.
- Larryl, S ; Jeanne, D ; Chaetes, M. (1993).** Méthodes' for research on soil-borne phytopathogenic fungi.
- Leeman M,cheffer RJ,Schippers B. (1991).** Control of Fusarium wilt of radish by pseudomonas fluorescens WCS374,in green house trials.In :plant growth promoting rhizobacteria _progress and prospects (C Keel,B koller, Defago ,eds) IOBC/WPRS,XIV/8:34-38.
- Lemanceau P,Alabouvette C. (1991).** Biological control of Fusarium diseases by pseudomonas fluorescent and non- pathogenic Fusarium .Crop Protec 10:279-286
- Lemanceau, p. (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: exemples des *Pseudomonas fluorescens*. Agronomie 12 : 413-437.
- Lemanceau,P., 1988.** Réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires : Etude critique des théories proposées. Pdr thesis. University of Lyon, Lyon.
- Leong, J .(1986).** Siderophores: Theirbiochemistry and possible rote in the biocontrol of plant pathogens.Annu.Rev.Phytopathol.24:187-209
- Leong, J .(1986).** Siderophores: Theirbiochemistry and possible rote in the biocontrol of plant pathogens.Annu.Rev.Phytopathol.24:187-209
- Lockwood, J. L. 1981.** Exploitation competition. In : The fungal community. Its organization and role in the ecosystem (Dt Wicklow, G C carrol, eds) M. Dekker, Inc. 833p.
- Loper, J.E., Buyer, J.S. (1991).** Sidérophores in microbial interactions on plant surfaces. Mol plant-Microbe interact 4: 5-13.
- Lorito, M. 1998.** Chitinolytic enzymes and their genes.In: Harman G.E., Kubiceck C.P. (eds). Trichoderma and Gliocladium, Vol 2. Enzymes, biological control and commercial application, pp. 73-99. Taylor and Francis, London UK.
- Lorito, M. 1998.** Chitinolytic enzymes and their genes.In: Harman G.E., Kubiceck C.P. (eds). Trichoderma and Gliocladium, Vol 2. Enzymes, biological control and commercial application, pp. 73-99. Taylor and Francis, London UK.

Références bibliographiques

- Mardukhova .E.A, Skvortsova .N.P., kOchetkov .V.V, Dubeikovskii .A.N, Boron .A.M, (1991).** Synthesis of the phytohormone indol-3-acetic acid by rhizosphere bacteria of the genus pseudomonas, *Microbiologiya*, N°60:494-500.
- Menzies J G. 1993.** A strain of *Trichoderma viride* pathogenic to germinating seedlings of cucumber, pepper and tomato. *Plant Pathol.* 42: 784-791.
- Meyer, J.M. & Abdallah, M.A. (1978).** The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens* : biosynthesis, purification and physicochemical
- Michelina R, Massimo G, Oscar A, Bernard, Jurgen K, Philippe N., 2011** « lutte biologique N°2 : tomate » Food Quality and Safety 6 TH FRAMEWORK PROGRAMME, p 5.
- Mujeebur R.K., Shahana M.K., 2002.** Effects of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato. *Bioresource technology* 85: 213-215.
- Murray, H. (1996).** File: //A: Growing Flax-Diseases.htm.
- Nadales E.P., 2010.** Msb2, a mucin-like membrane protein functioning in signaling and pathogenesis of *Fusarium oxysporum*, Doctoral thesis, Córdoba, 201 p.
- Neilands, J.B. et Leong, S.A. (1986).** Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann. Rev. plant physiol.* 37:187-208.
- Nelson PE., 1981.** Life cycle and epidemiology of F.o in fungal wilt diseases of plants (Mace ME., Bell A A., et Beckman CH. Eds) Academic Press, New york. Pp 51-80.
- Nelson, P.E. (1981).** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*, in fungal wilt disease of plants (Mace, M.E.; Bell, A.A. et Beckman, C.H. Eds) Academic
- Nielsen, T.H., Christophersen, C, Anthoni, U. et Sorensen, J. (1999).** Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. *Journal of Applied Microbiology* 86: 80-90.
- Ohara T., Inoue I., Namiki F., Kunoh H. and Tsuge T., 2004.** REN1 is required for development of microconidia and macroconidia, but not of chlamydospores, in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Genetics Society of America*, 166, pp 113-124.

Références bibliographiques

- Papavizas, G.C. 1985.** Trichoderma and Gliocladium : Biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23 : 23-54.
- Philippae, C, N, (2008),** “Protaction intégrée des cultures maraichères sous serre : expérience et entous pour un contex en évolution » cahier d’agriculture volume 1, 45 -49.
- Phoebe, C. H., Jr., Combie, J., Albert, F. G., Van Tran, K., Cabrera, J., Correira, H. J., Guo, Y., Lindermuth, J., Rauert, N., Galbraith, W., and Selitrennikoff, C. P. J. (2001).** *Antibiot. (Tokyo)* 54, 56-65 PR gene expression in tomato inoculated with virulent *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and the biocontrol strain *F. oxysporum* Fo47”, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Volume 73, Issues 1-3, , Pages 9-15 .
- Raaijmakers, J., Vlami, M. et de Souza, J. (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 537-547.
- RAIMBAULT, M. & ALAZARD, D.,** Culture method to study fungal growth in solid fermentation. *Europ. J. Appl. Microbiol. Biofechnol.*, 1980, 9, 199-209.
- Rheinberg, F. (1988).** Motivation and learning activities: How research could proceed. *International Journal of Educational Research*, 12, 299-306.
- Rodelas,B ;Salmeron,V.; Martinez –Toleo,M.V.andGonzalez-Loper,J. (1993).** Production of vitamins by *azospirillum brasilense* in chemically defined media. *Pant and soil*153:97-101.
- RYAN, F. J., BEADLE, G. W. & TATUM, E. L.,** The tube method of measuring the growth rate of *Neurospora*. *Amer. J. Boiany*, 1943, 30, 784-799.
- Ryo I, Kentaro S, Hideo Na, Han-Young, L, Takayuki M,Isamu, Y, Tohru, T, and Tsutomu, A, 2005,** “Foliar Spray of Validamycin A or Validoxylami ne A Controls Tomato Fusari um Wi It”, *biochemistry and ce ll biology*. Vol. 95, No. 10, 1209-1216p. Sac synder and H.N , Hans” , PP728 Soilborne Plant Pathogen Class Project, Spring.
- Sakthivel N. Gnanamanicham SS. (1987).** Evaluation of *pseudomonas* fluorescent for enhancement of gain yields in rice (*Oryza Sativa* L) .*App environ microbial* 53:2056-2059.
- Schoroth, M.N. et Hildebrand, D.C. (1964).** Influence of plant escudates on rootinfecting fungi. *Annual Review of phytopathology* 2, pp.101-132. Nelson PE, Dignani MC, Anaissie EJ. *Taxonomie, la biologie et les aspects cliniques de l'espèce Fusarium*. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7:479.

Références bibliographiques

Schoroth, M.N. and Hancock, J.G. (1982). Diseases suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216:1376-1381.

Schoroth, M.N. and Hancock, J.G. (1982). Diseases suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216:1376-1381.

Shanmugam, V ; Kanoujia, N., 2011. “Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycospersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture ‘‘Biological Control’’ Volume 57, Issue 2, Pages 85-93.

Simon A, Sivasithamparam K 1989. Pathogen suppression: a case study in biological suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in soil. *Soil BiolBiochem* 21: 331-337.

Smith IM, Dunez J, Phillips DH, Lelliott RA, Archer SA, (1988). European handbook of plant diseases. Blackwell Scientific Publications. Oxford: 583

SMITH, J. E. & BERRY, D. R., The filamentous fungi. - 1. Industrial mycology. Edward Arnold, Publ. Limited, London, 1975.

Snyder W. C., Hansen H. N. (1940). The species concept in *Fusarium*. *Am. J. Bot.* 27, 64-67 species and production of increased-growth response of wheat by

Snyder W.C., Hansen H.N., 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27, pp 64-67

Steven, T, K., Peter, G., Albert, O, P., (2007) “vegetebele disease” academic press, second impression , manson published Lrd, London.P 334-335.

Suslow TV, Schrath MN. (1982). Rhizobacteria of sugarbeet: Effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72:199-206.

Suslow TV, Schrath MN. (1982). Rhizobacteria of sugarbeet: Effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72:199-206.

Thomashow.L.S, and Weller .D.M. (1988). Role of phenazines antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces Graminis* Var.*Tritici*., *J.Bacteriol*, N° 170 :3488-3508.

Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria-*Annu.Rev.Phytopathol.* 36:453-483.

Références bibliographiques

- Van Peer. R and Shippers.B, (1989).** Plant growth responses to bacterization with selected pseudomonas spp. strains and rhizosphere microbial development in hydroponic cultures, Can.J.Microbiol, N°35:456-463.
- Verma., Brar., Tyagi., Surampalli., Valéro., 2007.** Antagonistic fungi, Trichoderma spp.: Panoply of biological control .volume 40 numéro1 p 118.
- Vincent, M.N., Harrison, L.A., Brackin, J.M., Kovacevich, P.A., Mukerji, P., Weller, D.M., Pierson, E.A., (1991).** Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne Pseudomonas aureofaciens strain. Applied and Environmental Microbiology 57, 2928–2934.
- Vizcaino, J.A.; Sanz, L. ; Cardoza, R.E. ; Monte, E. & Gutierrez, S. , 2005** Trichoderma & Gliocladium, Volume 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics.
- Wang S.L., Chang W.T. et al 2002.,** purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produced by *Monascus purpureus* CCR31499 in a shrimp and crab shell powder medium. J. Agric. Food. Chem ., 50:2249-2255
- Weller DM ,Cook RJ . (1986).** Increased growth of wheat by seed treatments with pseudomonas fluorescent , and implication of Pithium control. Can J plant Pathol 8:328-334.
- Weller, D.M, Cook RJ.(1983).** Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonas .Phytopathology;73:463-9.
- Widden, P. (1994).** Competition and the fungal community. Dans: The mycota IV. Environmental and Microbiological (Esser, K, Wicklow, D.T., Sverdrup, B.E.). Springer-Verlag, Berlin, Allemagne. Pp. 135-147.
- Xu G W, Grass D C. (1986).** Field evaluations of the interaction among fluorescent pseudomonas , *Erwinia carotovora* , and Potato yields, Phytopathology 76:423-430.
- Yedidia, I., N. Benhamou and I. Chet. 1999.** Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 65 : 1061-1070.
- Yoshikawa, M.; Firai, N.; Wakabayashi, K.; Sugiza –Ku, H. and Iwamura, H. (1993).** Succinic and lactic acid as plant growth promoting compounds produced by rhizosphere pseudomonas putida Can J.Microbiol 39:1150-1154.
- Yuan-Min Shen. 2009.** “Fusarium wilt in green house”, Taiching District Agriculture, Taiwan, p 1.

ANNEXE 1 : MILIEUX DE CULTURES

✓ **Milieu B de King** (KING et *al.*, 1954).

Peptone (Difco) 20g.

Glycerol (prolabo) 15ml.

K₂HPO₄ (sigma) 1.5g.

MgSo₄ (sigma) 1.5g.

Agar (sigma) 15g.

Eau distillée 1000ml.

PH=7.2, autoclavage 20minutes à 120°C.

✓ **Milieu PDA** (Potato Dextrose Agar) (Jonsthor et Booth , 1983).

Pomme de terre 200g.

Dextrose 20g.

Agar 15g.

Eau distillée 1000ml.

PH=7, autoclavage 20 minutes à 120°C.

✓ **Milieu mixte.**

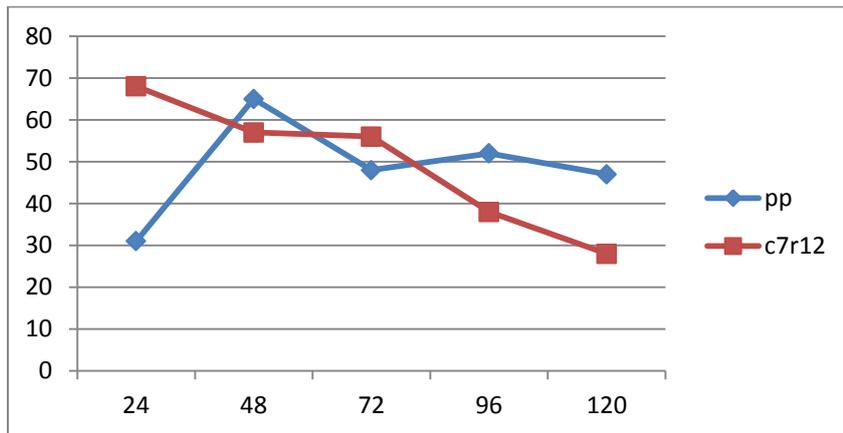
PDA 50%.

KB 50%.

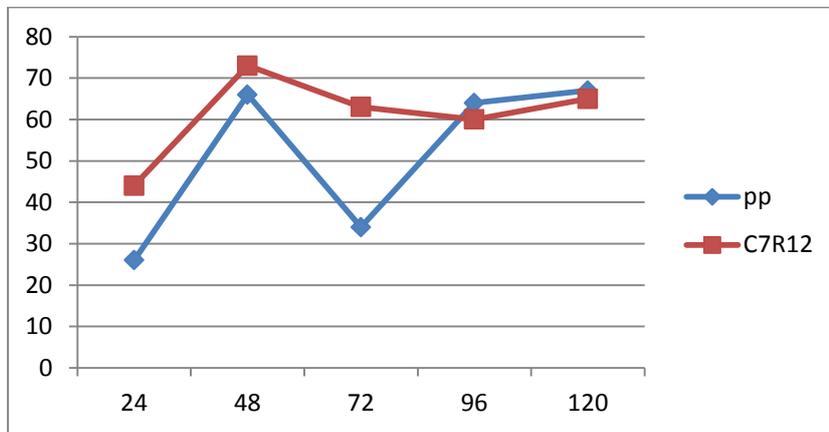
PH= 7, autoclavage 20 minutes à 120°

✓ **Milieu PD liquide** : Le milieu PD est de même composition que PDA, mais sans Agar.

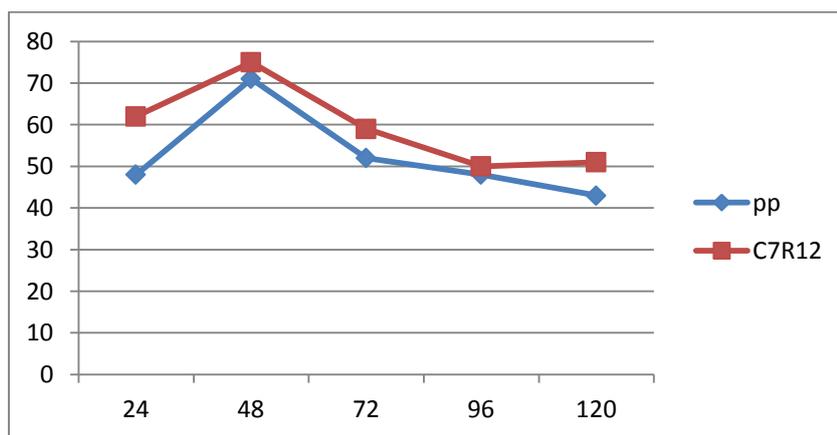
ANNEXE 2 : LES FIGURES



A : PDA

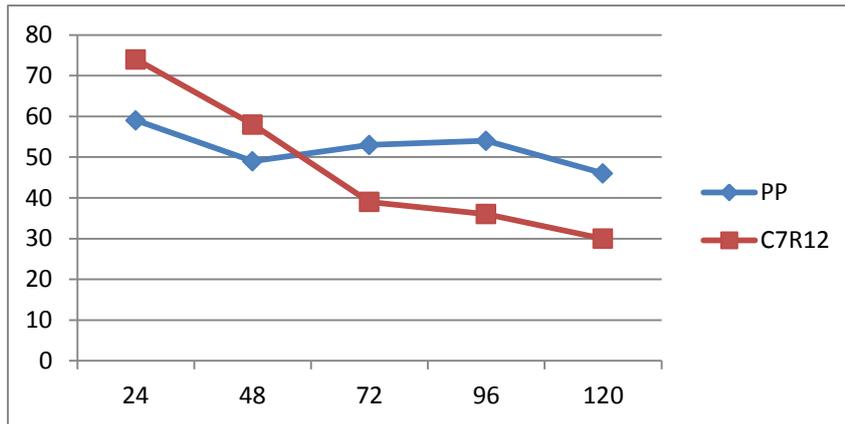


B : KB

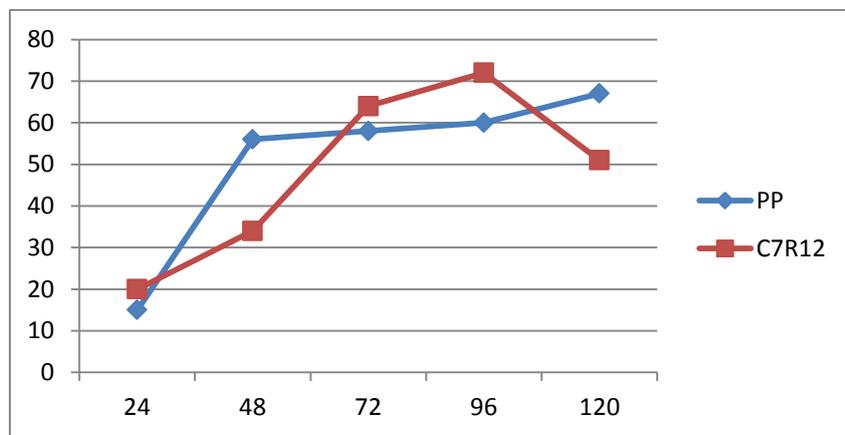


C : Mixte

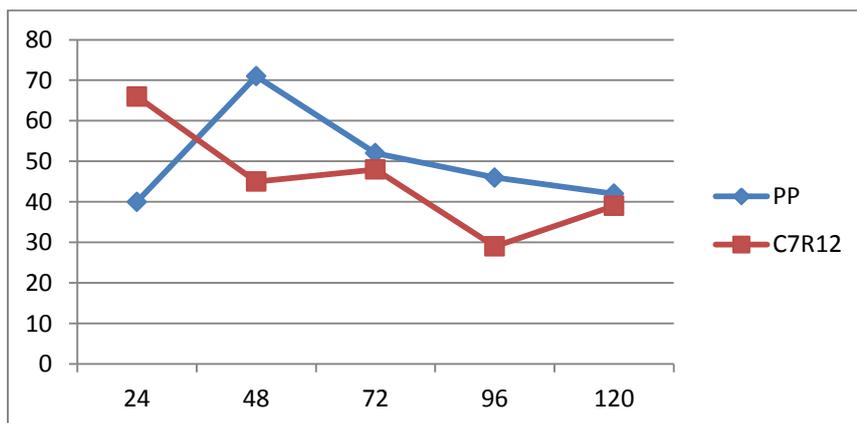
Figure 1 : le taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture (Foln).



A : PDA



B : KB



C : Mixte

Figure 2 : le taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture (Fol)

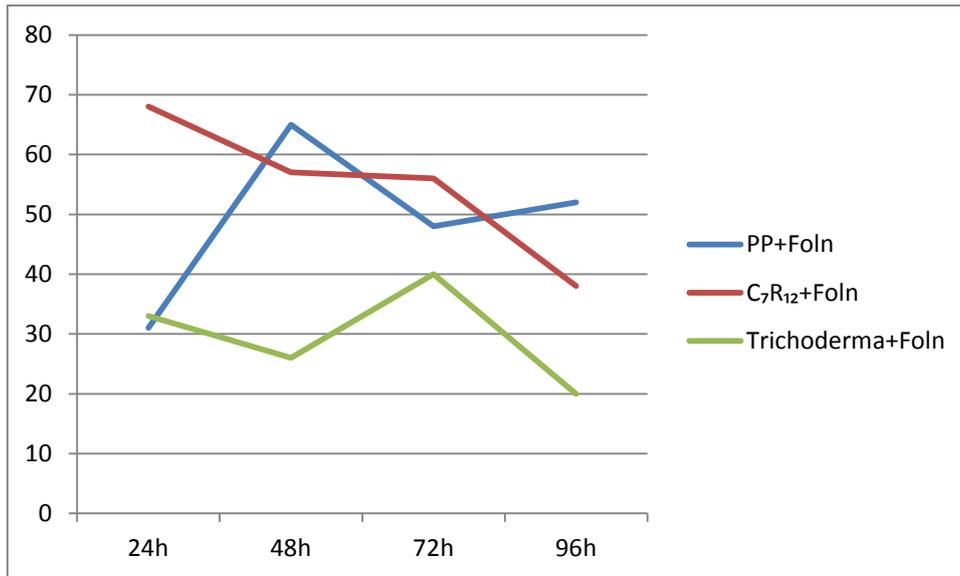


Figure 3: Le taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur le milieu PDA

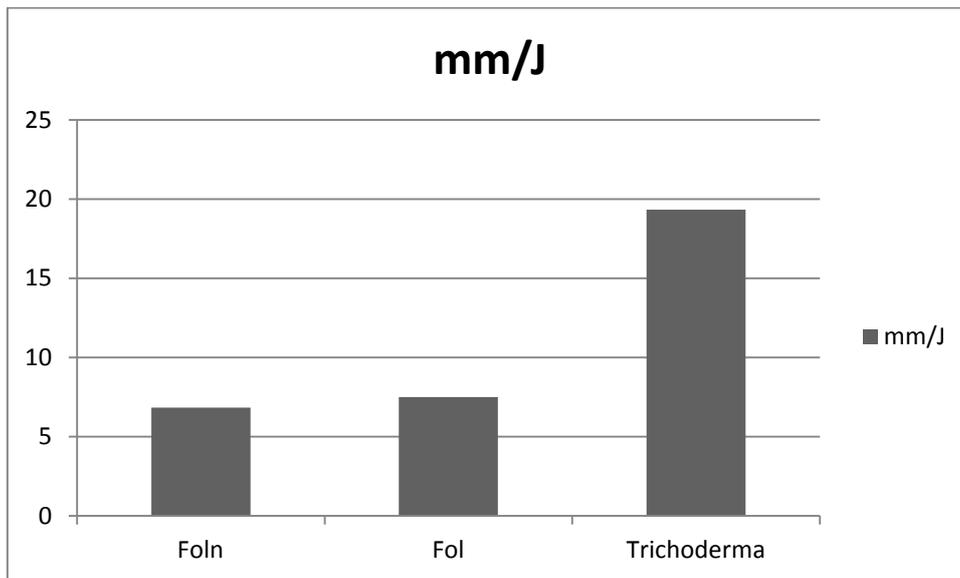
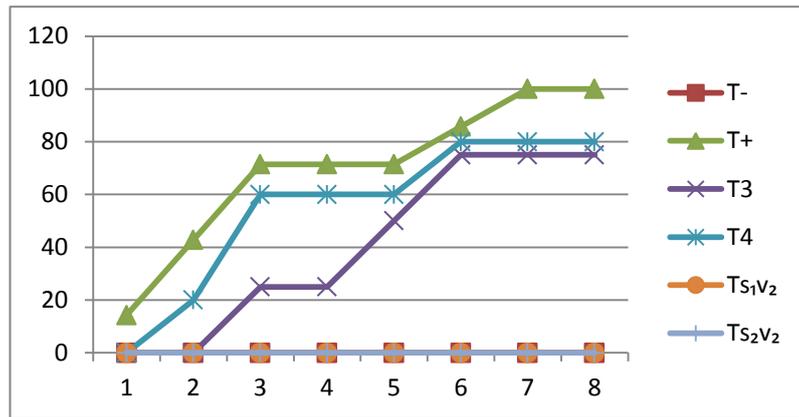
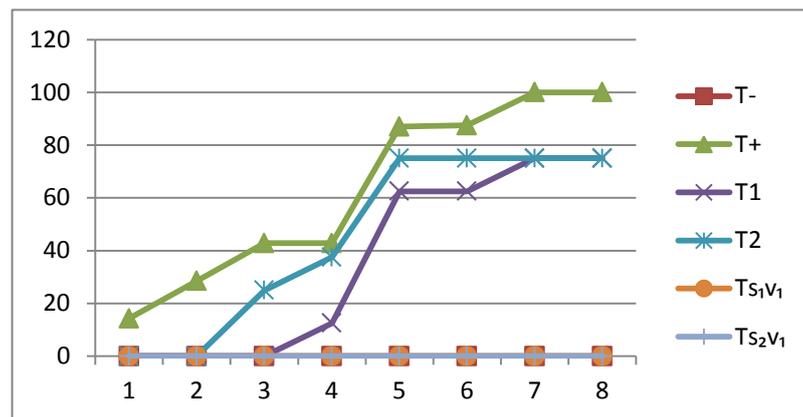


Figure 4: La croissance fongique des champignons filamenteux

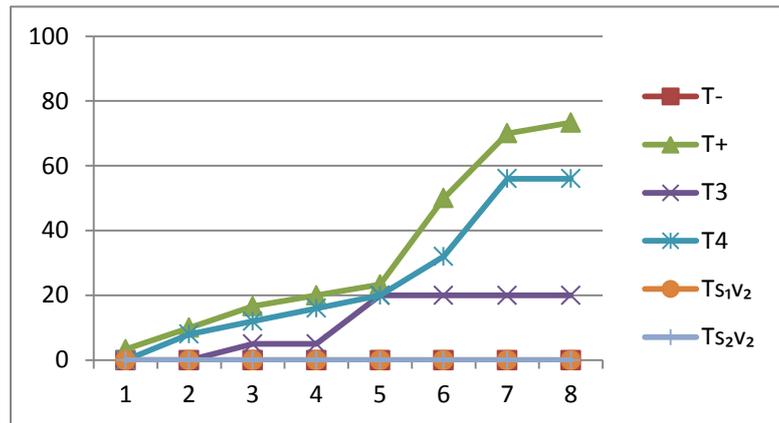


A : Lin doré

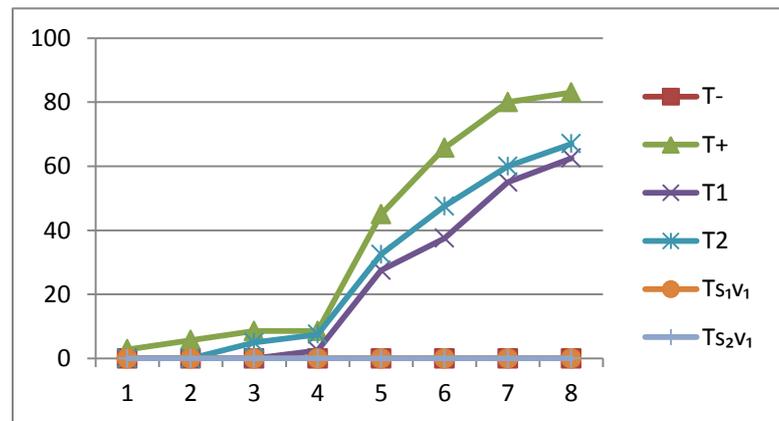


B : Lin brun

Figure 5: Evolution du taux d'infection (%) pour les deux variétés de lin.



A : lin doré



B : Lin brun

Figure 6: Taux de la sévérité de la maladie (%) pour les deux variétés de lin.

ANNEXE 3 :FICHES TECHNIQUEDES

GRAINES DE LIN BRUN

Certification : Produit de l'agriculture biologique certifié par ULASE 26270 LORIOLO.

Créé en 2002, ULASE est un organisme de certification, basé à Loriol-sur-Drôme. Il est spécialisé dans la certification des secteurs agricole et agroalimentaire.

Lot: LIS/AB/LIB/345C50

Condition de conservation : Conserver au froid (< 10°C) et au sec.

Poids net : 250g

Fabricant : Filière BIOCOOP « ensemble pour plus de sens ».

Biocoop est un réseau coopératif français dédié à la distribution de produits alimentaires [biologiques](#) ainsi que de produits issus du [commerce équitable](#), d'[écoproduits](#) et de cosmétiques. Biocoop a pour objectif de soutenir le développement de l'agriculture biologique durable en France et l'accessibilité aux produits biologiques.

Caractéristiques physiques et nutritionnelles : moyenne pour 100 g

- Humidité Max. 9 %
- Glucides 34.2 g
- Protéines 19,5 g
- Lipides 34 g dont AGS: 4 % /AGMI : 22,0 % et AGPI: 74,0 %
- Fibres 27,9 g
- Valeur énergétique 492 Kcal 2059 KJ
- Matières minérales Ca: 199 mg / P: 681 mg / Fe : 6,22 mg / Na : 34 mg/ P : 498

mg/ Mg : 362 mg.

➤ Vitamines A: 0 / B1: 0.17 mg / B2: 0.16 mg / B3: 1.40 mg / B6: 0.93 mg / C: 1,3 mg

GRAINES DE LIN DORE

Lot : 12317097

Condition de la conservation : à conserver à l'abri de la lumière, dans un endroit frais (T° 20C) et sec

Certification : certifié ECOCERT SASF_ 32600 FR BIO 01

Ecocert est un organisme de contrôle et de certification fondé en France en 1991 par des ingénieurs agronomes conscients de la nécessité de développer une agriculture respectueuse de l'environnement et d'offrir une reconnaissance à ceux qui s'engagent dans ce mode de production

Poids net : 500g

Fabrication : MARKAL ZA les plaines-F26320ST-MARCEL-LES-VALENCE-France.

Markal est spécialisé dans la production et transformation de céréales et autres produits biologiques. Situé dans la Drôme, près de Valence

Caractéristiques physiques et nutritionnelles

- Glucides : 37.2g
- Protéines : 18g
- Lipides : 34g
- Fibres : 8,8g
- Valeur énergétique : 498Kcal
- Humidité : Max 9
- Matières minérales : 35g dont : Ca : 271mg /P : 462mg /Fe : 43,8mg
- Vitamines : B1 :0,17mg/B2 :0,16IU /NIACINE : 1,14IU

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Différents microorganismes utilisés en lutte biologique.....	3
Tableau 2 : Molécules actives produites par les <i>Pseudomonas</i> spp. (Raaijmakers et al., 2002 ; Fernando et al., 2006 ; Bojanowski, 2011	14
Tableau 3 : les souches des champignons filamenteux	21
Tableau 4 : Origines des isolats bactériens	22
Tableau 5 : Résultats d'analyses physiques du sol (Laboratoire de pédologie Département des microbiologies de BLIDA, 2010).....	23
Tableau 6 : Croissance fongique (en mm/j et mm/h) pour les souches étudiées de <i>Fusarium</i> et <i>Trichoderma</i> sp	31
Tableau 7 : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture (cinq jour d'incubation)	35
Tableau 8 : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture (cinq jour d'incubation.....	37
Tableau 9 : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur le milieu culture PDA (<i>Foln</i> × <i>T</i>), pendant cinq jours d'incubation	39
Tableau 10 : taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne sur le milieu PDA.....	43
Tableau 11 : Evolution du taux d'infection (%) sur le lin doré.....	45
Tableau 12 : Evolution du taux d'infection (%) sur le lin brun	45
Tableau 13 : Valeurs de la sévérité de la maladie (%) pour le lin doré	50
Tableau 14 : Valeurs de la sévérité de la maladie (%) pour le lin brun	50

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Pigment jaune- vert fluorescent de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (hppt://www.cresa.cat-Pfluorescens-Cetrimide4-800x531.jpg).....	4
Figure 2 : <i>Conidies de Fusarium (Nadales, 2010)</i>	14
Figure 3 : Flétrissement du lin causé par <i>Fusarium.oxysporum f.sp.lini</i> (Snyder Et Hansen 1985).....	16
Figure 4 : Principaux symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate.....	18
Figure 5 : Cycle biologique de <i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i> (Agrios, 2005.....	19
Figure 6 : <i>Linum usitatissimum var. niagara</i>	24
Figure 7 : <i>Linum usitatissimum var. astral</i>	24
Figure 8 : Méthode de confrontation directe en boîte de Pétri entre <i>pseudomonas spp.fluorescens</i> et <i>Fol</i> ou <i>Foln</i>	27
Figure 9 : Essai antagonisme <i>in vitro</i> entre champignons antagonistes <i>Trichoderma sp-</i> champignons pathogènes <i>Foln</i> .après un jour d'incubation.....	28
Figure 10 : Le dispositif expérimental.....	29
Figure 11 :croissance fongique des champignons filamenteux.....	32
Figure 12 : Exemple des activités antagonistes sur les milieux de culture.....	34
Figure 13 : Exemple des activités antagonistes sur les milieux de culture.....	36
Figure14 : Exemple des activités antagonistes sur le milieu de culture PDA (<i>Fol</i> × <i>T</i>).....	40
Figure 15 : Exemple des activités antagonistes sur le milieu de culture PDA (<i>Foln</i> × <i>T</i>).....	41
Figure16 : Etat des plantes de lin après 10 jours d'inoculation par <i>Fusarium oxysporum f.sp. lini (Foln)</i>	46
Figure 17 : Etat des plantes de lin après 53 jours d'inoculation par <i>Fusarium oxysporum f.sp. lini (Foln)</i>	46
Figure18 : Différence entre le témoin positif (T+) et le témoin négatif (T-).....	47
Figure19 : Différence entre T ₃ (C7R12× <i>Foln</i>) et T ₄ (PP× <i>Foln</i>) 28 jours après inoculation de l'isolat fongique phytopathogène <i>Foln</i>	47
Figure20 : Différence entre T+ (v ₁) et T+ (v ₂) après 45 jours d'inoculation de l'isolat fongique <i>Foln</i>	48
Figure 21 : Le symptôme « shepherd's crook » (sous forme d'arc) spécifique du champignon phytopathogène <i>Foln</i> , observé chez le lin à flétrissement unilatéral.....	48

Liste des abréviations

C : Celsius

C.F.U : Colonies forming unities

Do : Densité optique

F : *Fusarium*

Foln : *Fusarium Oxysporum* f.sp *lini* .

Fol : *Fusarium Oxysporum* f.sp *lycopercisi*

f.sp : Forme special

g : Gramme

h : Heure

ml : millilitre

mm : Millimètre.

pH : potentiel Hydrogène

P : *Pseudomonas*.

T : Témoin.

Ts₁ v₁ : Témoin souche 1 variété 1.

% : Pourcentage.