

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

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Spécialité : Biologie des interactions Plantes-Microorganismes (BIMP)

THEME

**Action d'antibiose des *Pseudomonas spp fluorescents*
et *Trichoderma harzianum* contre le *Fusarium f.sp*
*oxysporum lycopersici In vitro.***

Soutenu devant le jury :

Présenté par :

Présidente : M^{me} BOUDJEMIA H.

M^{elle}. ABBOU Amel

Promoteur : Pr. BENCHABANE M.

Examinatrices : M^{me}. BENSALD F.

M^{me}. OUSRIR S.

Année Universitaire: 2013/2014

Remerciements

Tout d'abord je remercie **ALLAH** de m'avoir donné le courage et la force pour effectuer ce modeste travail, Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur Monsieur le **Professeur Benchabane Messaoud** maître de conférence à l'université de Blida d'avoir accepté la direction de ce travail et d'avoir m'accueilli au sein de son laboratoire. Je le remercie de m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la rédaction de ce travail,

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 :

- **M^{me} Boudjemia.H**
- **M^{me} Bensaid Fatiha**
- **M^{me} Ousrir Samira**

Ma 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.

Une pensée particulière ma très chère **MAMAN** que Dieu ait son âme dont j'aurais voulu qu'elle soit parmi nous aujourd'hui pour partager ces instants mais hélas elle nous a quitté....Pour elle, qui a marqué mon existence je prie le bon Dieu de l'accueillir en son vaste paradis.

Un grand merci aux personnes les plus chères à mes yeux, à mon cher **PERE** qui m'a soutenu jusqu'à la dernière minute, et qui m'a donné l'amour et le courage pour continuer, à mes chers frères et **Farid** et **Mehdi**, ma belle sœur **Asma** pour leur encouragement et mes chers nièces **Melek**, **Lyna** et mon neveu **Yacine**.

Un merci tout spéciale pour mes collègues et mes ami(e)s ainsi pour toute ma famille.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	01
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Les fusarioses vasculaires.....	03
I.1. Généralités sur <i>Fusarium</i>	03
I.2. Agent causal (<i>Fusarium oxysporum</i>).....	03
I.3. Biologie de <i>Fusarium oxysporum</i>	06
I.4. Symptomatologie et épidémiologie.....	08
I.5. Cycle de vie.....	13
I.6. Lutte contre les fusarioses.....	14
II. Les rhizobactéries phyto-bénéfiques.....	20
II.1. Généralités sur les <i>Pseudomonas spp fluorescent</i>	20
II.2. Stimulation de la croissance végétale.....	21
II.3. Induction de la résistance systémique.....	22
II.4. Protection des plantes contre les maladies d'origines telluriques.....	23
II.5. La compétences rhizosphérique.....	23
II.6. Les sidérophores.....	23
II.7. L'antibiose.....	25
II.8. Production de l'acide Cyanhydrique (HCN).....	27
III. Champignons bénéfiques ou PGPF.....	27
III.1. Taxonomie.....	28
III.2. Application du genre <i>Trichoderma</i> dans la lutte biologique.....	30
III.3. Mode d'action de <i>Trichoderma</i>	30
MATERIELS ET METHODES	
VI.1. Matériel biologique.....	36
VI.1.1. Souches bactériennes de <i>Pseudomonas</i>	36
VI.1.2. Isolats cryptogamiques.....	36
VI.1.3. Le sol.....	37

VI.2. Antagonisme <i>in vitro</i>	39
VI.2.1. Inhibition de la croissance mycélienne.....	39
VI.2.2. Inhibition de l'élongation du tube germinatif.....	41
VI.3. Antagonisme dans le sol.....	42
VI.3.1. Bactérisation et inoculation du sol.....	42
VI.3.2. Comptage des spores.....	43

RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Activités antagonistes directes.....	44
V.1.1. Inhibition de la croissance mycélienne.....	44
V.1.2. Inhibition de l'élongation du tube germinatif.....	49
V.2. Antagonisme dans le sol.....	54
V.3. Interprétation des résultats.....	57

CONCLUSION	63
-------------------------	----

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXE

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

C : Celsius

C.F.U : Colonies forming unities

Do : Densité optique

F : *Fusarium*

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

Fo : *Fusarium oxysporum*.

f.sp : Forme special

g : Gramme

% : Pourcentage.

h : Heure

mm : Millimètre.

pH : potentiel Hydrogène

P : *Pseudomonas*.

T.h : *Trichoderma harzianum*

Liste des Tableaux

TABLEAU 1 : Groupes de comptabilité végétative chez les différentes formes de <i>Fusarium oxysporum</i> (VCG) (Ozbay et Newman, 2010).....	04
TABLEAU 2 : Tableau montrant les différents microorganismes utilisés en lutte biologique.....	20
TABLEAU 3 : principales molécules antibiotiques produites par certaines souches de <i>Pseudomonas fluorescents</i>	26
TABLEAU 4 : Origine des microorganismes testés.....	37
TABLEAU 5 : Résultats d'analyses physiques de sol (El Houari, 2010).....	38
TABLEAU 6 : Résultats d'analyses chimiques de sol (El Houari, 2010).....	38
TABLEAU 7 : Taux de réduction de la croissance mycélienne en (%) de <i>Fusarium oxysporum</i> et <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> par les souches antagonistes (méthode de spots et confrontation directe).....	46
TABLEAU 8 : Taux d'inhibition de l'élongation du tube germinatif de l'isolat Fo en (mm).....	52
TABLEAU 9 : Taux d'inhibition de l'élongation du tube germinatif de l'isolat Fol en (mm).....	52
TABLEAU 10 : Densité de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> et de <i>Fusarium oxysporum</i> par gramme de sol après une semaine.....	54

Liste des Figures

Figure 1 : Fructification de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (Tousson et Nelson, 1976).....	07
Figure2 : Principaux symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate.....	10
Figure 3 : Structure de la Lycomarasmine (Abadie <i>et al.</i> , 1998).....	13
Figure 4 : Structure de l'acide fusarique (Abadie <i>et al.</i> , 1998).....	13
Figure 5 : Cycle biologique de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (Agrios, 2005).....	15
Figure 6 : Mécanismes des sidérophores.....	25
Figure 7.A : Effets inhibiteurs de <i>T.harzianum</i> de la croissance mycélienne en (mm) des souches de <i>F.oxysporum</i> dans le milieu KB.....	46
Figure 7.B : Effets inhibiteurs de <i>T.harzianum</i> de la croissance mycélienne en (mm) des souches de <i>F.oxysporum</i> dans le milieu PDA+KB.....	47
Figure 7.C : Effets inhibiteurs de <i>T.harzianum</i> de la croissance mycélienne en (mm) des souches de <i>F.oxysporum</i> dans le milieu PDA.....	47
Figure 7 : Effets inhibiteurs de <i>T.harzianum</i> de la croissance mycélienne en (mm) des souches de <i>F.oxysporum</i> dans les trois milieux utilisés.....	47
Figure 8 : Exemples des activités antagonistes sur les milieux de culture solides.....	48
Figure 9 : Exemples des activités antagonistes sur les milieux de culture liquide vues au microscope optique Gx400.....	51
Figure 10: Taux d'inhibition de l'élongation du tube germinatif de l'isolat Fol.....	53
Figure 11 : Taux d'inhibition de l'élongation du tube germinatif de l'isolat Fo.....	53
Figure 12 : densité de Fo et Fol après une semaine.....	55
Figure 13 : Nombre de colonies issues du sol.....	55
Figure 14 : Inhibition parfaite de <i>Fusarium</i> par <i>Trichoderma</i>	55
Figure 15 : Antagonisme dans le sol.....	56

Résumé

Action d'antibiose des *Pseudomonas spp fluorescents* et *Trichoderma harzianum* contre *Fusarium f.sp oxysporum lycopersici* *In vitro*.

Le contrôle des agents pathogènes et la croissance de la plante peuvent être exercés par certaines bactéries et de champignons de la rhizosphère. Notre objectif de ce travail est la mise en évidence des capacités d'antibiose ainsi d'antagonisme des deux souches de *Pseudomonas*, *Pseudomonas putida* (PP) et *Pseudomonas fluorescents* (C7R12) et de l'isolat fongique *Trichoderma harzianum* (T.h) vis-à-vis des agents phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum*. Dans cette étude nous avons réalisé des essais concernant les activités d'antibiose et d'antagonisme *in vitro* sur des milieux solides, liquides et dans le sol.

Les essais de confrontation directe réalisés *in vitro*, sur milieu de culture solide ou liquide, ont révélé que ces antagonistes ont pu inhiber le développement des pathogènes (la croissance mycélienne, la germination conidienne et l'élongation des tubes germinatifs des champignons phytopathogènes) de façon significative. Les taux d'inhibition varient de 26,81% à 45,62% sur milieux solides et de 38.15 % à 78.87 % sur milieux liquides. Il a été constaté l'implication des effets d'antibiose ainsi que ceux de la compétition trophique. L'action de ces paramètres vitaux, pour la croissance des pathogènes, peut contribuer largement dans la répression de ses capacités reproductives et infectieuses. Les interactions réalisées au niveau du sol, avec l'application des antagonistes, ont permis de réduire de façon significative le développement des deux pathogènes, qui ont été minimisés de 10^6 à 10^5 colonies/g de sol.

Finalement, nous avons constaté qu'il existe une diversité dans les mécanismes d'action (selon la nature fongique ou bactérienne de l'antagoniste), des intensités antagonistes et d'antibioses fluctuantes selon les conditions expérimentales (les milieux de culture utilisés).

Mots clés : *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescents*, C7R12, *Trichoderma harzianum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum*, antibiose, bioprotection, antagonisme microbien.

Abstract

Action of antibiosis of fluorescent *Pseudomonas* spp and *Trichoderma harzianum* in the biocontrol of *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* *In vitro*.

The biocontrol of the pathogenic agents can be inducing by some bacteria and fungi of the rhizosphere. The objective of our present work is the description of the antagonistic and capacity antibiosis of two strains of *Pseudomonas*, *Pseudomonas fluorescence* (CTR12) and *Pseudomonas putida* (PP) and the fungic isolate, *Trichoderma harzianum* against phytopathogenics agents: *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* and *Fusarium oxysporum*. In this study, we have realized some tests concerning the activities of antibiosis and *In vitro* antagonism on solid or liquid cultural media and in soil.

Tests of direct confrontation realized *in vitro*, on solid or liquid cultural media, revealed that these antagonists were able to inhibit the development of the pathogenic with an high level (the mycelia growth, conidia germination And elongation of structural's pathogens. The rate fluctuate between 26, 81% to 45, 62% on solid cultural media and between 38,15% to 78,87% on liquid cultural media.

It has been noted the implication of antibiosis effects as those of the trophic competition. The action of these vital parameters, for the growth of pathogenic, can contribute extensively in the repression of its reproduction and infection processes. The interactions experimented in soil with the application of the antagonists, permitted to reduce significantly the development of both pathogens. It minimized to 10^5 colonies/g of soil.

Finally, it was noted a diversity in the mechanisms of action (according to the fungi or bacterial nature of the antagonist), of the fluctuating antagonistic intensities according to experimental condition's (the media cultural used).

Keywords: *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescents*, CTR12, *Trichoderma harzianum*, *Fusarium oxysporum*. f.sp *lycopersici*, *Fusarium oxysporum*, Antibiosis, bioprotection, microbial antagonism.

f.sp oxysporum Trichoderma harzianum Pseudomonas spp fluorescents
Fusarium oxysporum

أظهرت بعض الدراسات أهمية بعض أصناف البكتيريا و الفطريات التي تنمو بجوار جذور النباتات و التي بإمكانها تحفيز النمو النباتي و إبطال تأثير الجراثيم الطفيلية الضارة عن طريق التضاد الحيوي.

الغرض من هذه الدراسة هو إظهار المفعول البيولوجي لعزلات أحياء دقيقة نافعة في مكافحة و إبادة الإضرار المرضية
الفطريين الضارين بالنبات *Fusarium oxysporum Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*

الأحياء الدقيقة النافعة المستعملة في تجاربنا هي من صنفين عزلتين بكتيريا C7R12 PP
Trichoderma harzianum Pseudomonas spp fluorescents و عزلة فطرية من سلالة

دراستنا أظهرت المفعول الميكروبيولوجي الايجابي بواسطة تجارب مخبري و التي أظهرت أن المفعول البيولوجي
توقيف انتاش بنيات التوليد، الأوساط المغذية. التجارب المجر أظهرت أن المفعول المرضي الضار
للفطريين *Fusarium oxysporum Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* قد تراجع بنسبة تتراوح بين
المغذية 78,87% 38,15% بين 26,81% 45,62% و في التربة تراجع من التركيز 10^6
التركيز 10^5 .

دراستنا أظهرت أن المفعول الحيوي للتضاد الميكروبيولوجي نابع من عدة ميكانيزمات فعالة بحسب طبيعة الكائن الحي الدقيق
(بكتيريا أو فطر) و حدة المفعول المتغير حسب الظروف التجريبية(الأوساط المغذية). إن الأحياء الدقيقة المجربة بإمكانها
التأثير بطرق عدة : التضاد الحيوي، التنافس علي الأغذية و الأمكنة و كذا التقليل من شدة الفطر(تواجهه أو مفعوله) مباشرة في
التربة. استعمال مزيج من هذه الأحياء الدقيقة المختبرة في أعمالنا بإمكانها الزيادة في المفعول الايجابي و ذلك بطرق تكميلية
أو تضاعفية.

:

Pseudomonas fluorescens, Trichoderma harzianum, Fusaium oxysporum f.sp.lycopercisi
التضاد الحيوي المكافحة البيولوجية العداء الحيوي.

Introduction

Les microorganismes sont des êtres vivants microscopiques pouvant vivre dans différents milieux comme l'eau, l'air et le sol. Ils vivent en interaction avec leur environnement et forment ainsi de véritables écosystèmes. Les microorganismes sont présents en très grand nombre dans le sol : 10^9 bactéries et 10^6 spores de champignons par gramme de sol (Burgess, 1981).

Avec les systèmes de production agricoles intensifs, les populations des organismes nuisibles ont tendance à augmenter, ce qui accentue la gravité des dommages infligés aux cultures. Les impératifs de rentabilité qui imposent des rendements élevés et des produits de qualité, dans ces systèmes, font de la protection des plantes une activité vitale. La maîtrise de ces parasites n'est accomplie qu'au prix d'interventions phytosanitaires fréquentes. Celles-ci présentent, par contre, des effets néfastes sur l'environnement et favorisent le développement de souches résistantes. La prise de conscience du coût environnemental de ces pratiques et les craintes des consommateurs du danger que peuvent constituer les résidus de pesticides pour la santé humaine font naître un intérêt grandissant pour d'autres alternatives de lutte.

Parmi les alternatives envisagées, les laboratoires de recherche se penchent, depuis plusieurs années, sur les moyens de lutte biologique qui visent à contrôler les agents pathogènes par des biopesticides dont un certain nombre est déjà développé. Cependant, peu d'entre eux a pu franchir les dernières étapes d'homologation et de commercialisation. Comparé au nombre de molécules de synthèse, le nombre de biopesticides homologués reste très faible.

En 2005, les estimations des ventes des produits phytosanitaires sur le marché mondial ont atteint environ 2,5%. Parmi les biopesticides, les produits microbiens sont minoritaires et les produits bactériens autres que ceux à base de *Bacillus thuringiensis* ne comptent que pour une faible partie. Exploiter le potentiel des bactéries reste donc une technologie toujours émergente (Antoun et Kloepper, 2000).

Les maladies des cultures causées par les pathogènes du sol, constituent l'un des majeurs obstacles qui entraînent une réduction importante des rendements. Les affections cryptogamiques souvent redoutables et affectent une gamme très large des plantes cultivées. Parmi ces pathogènes, l'espèce *Fusarium oxysporum*, responsable des pourritures radiculaires et

de trachéomycoses, cause des flétrissements aussi bien sur des cultures herbacées que ligneuses (Conrath *et al.*, 2002). Cette espèce est représentée par une multitude de formes spéciales reconnues par leurs pathogénécités spécifiques en interaction avec des hôtes déterminés, c'est le cas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dont l'hôte principal est la tomate.

Parmi les micro-organismes antagonistes, les *Pseudomonas spp fluorescents* font l'objectif de nombreux travaux dans le monde (Baker *et al.*, 1986; Jayaswal *et al.*, 1990; Keel *et al.*, 1989; Singh Ramas *et al.*, 2002). En Algérie, certains travaux ont montré l'efficacité de quelques souches de *Pseudomonas spp fluorescents* dans le biocontrôle de cette trachéomycose (Benchabane *et al.*, 2000; Benchabane, 2005 ; Larbaoui, 2003; Toua, 1996; Toua *et al.*, 1997). La lutte contre les fusarioses vasculaires peut être menée aussi en utilisant des souches de *Trichoderma spp* sélectionnées pour leurs activités antagonistes contre les formes spéciales pathogènes (Mouria, 2007).

Dans ce contexte de contrôle biologique vis-à-vis des agents pathogènes, notre travail vise à expérimenter les potentialités antagonistes de *Pseudomonas fluorescens* C7R12 et de *Pseudomonas putida* PP ainsi que l'isolat cryptogamique *Trichoderma harzianum* et à mettre en évidence leur pouvoir de biocontrôle *in vitro*, lorsqu'ils sont en interaction avec *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent de flétrissement vasculaire de la tomate.

I. LES FUSARIOSES VASCULAIRES

I.1. Généralités sur *Fusarium*

Les pathologies vasculaires attaquant la tomate, à partir du sol et des racines sont connues comme les affections les plus redoutables sur cette culture et peuvent constituer des facteurs limitant dans le processus de production. Principalement on reconnaît deux trachéobactérioses : *Clavibacter michiganensis ssp michiganensis* et *Ralstonia solanacearum* et deux trachéomycozes *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* et *Verticillium dahliae* (Bouhot *et al.*, 1972).

Fusarium oxysporum Schlecht. Snyder et Hansen (Lemanceau *et al.*, 2006) est l'espèce la plus répandue ; c'est un champignon saprophyte du sol capable de survivre longtemps sous forme de chlamydozoospores (Pinton *et al.*, 2001). L'espèce *F. oxysporum* peut infecter un grand nombre de plantes, souvent de façon très spécifique. Cette espèce présente des formes phytopathogènes hautement spécifiques sur des hôtes déterminés, dénommées formes spéciales (f.sp) « forma spécialea » en fonction de la plante hôte parasitée ; ainsi il a été mis en évidence plus de 120 forma spéciales et races chez cette espèce (Van Loon, 2007). En raison de la complexité des caractères phénotypiques et des similitudes génotypiques, il est généralement admis la difficulté de distinction taxonomique entre ces formes spéciales ; pour cela, la pathogénécité demeure le caractère distinctif majeur (Spadaro et Gullino, 2005). La diversité génétique entre les isolats de *Fusarium oxysporum* a été extrêmement analysée et regroupée en de nombreux groupes de compatibilités végétatives (G.C.V) « végétative compatibility groups ». Désormais, les G.C.V peuvent constituer un outil de prédilection et d'analyse des similarités génétiques pour ce taxon fongique (Bais *et al.*, 2004) (Tableau 1).

I.2. Agent causal: *Fusarium oxysporum*

Au sein de ce genre fongique *Fusarium*, plusieurs espèces sont non pathogènes capables d'envahir les tissus des plantes sans provoquer des symptômes, alors que d'autres sont pathogènes et provoquent des pourritures racinaires et des trachéomycozes (Edel *et al.*, 2001 ; Fuchs *et al.*, 1997).

Tableau 1 : Groupes de compatibilité végétative chez les différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (VCG) (Ozbay et Newman, 2010).

Formes spéciales (fsp)	Hôte	Code f.sp	Nombre de VCG
<i>adzukicola</i>	<i>Vigna angularis</i>	038 -	0380, 0381
<i>albedinis</i>	<i>Phoenix dactylifera</i>	017 -	0170
<i>allii</i>	<i>Allium sativum</i>	039 -	0390
<i>apii</i>	<i>Apium</i>	001 -	0010-0012
<i>asparagi</i>	<i>Asparagus</i>	100 -	1001-1008, 10011-10019
<i>basilici</i>	<i>Ocimum</i>	040 -	0400
<i>batatas</i>	<i>Ipomoea</i>	036 -	-
<i>betae</i>	<i>Beta</i>	027 -	-
<i>canariensis</i>	<i>Phoenix canariensis</i>	024 -	0240
<i>cepaе</i>	<i>Allium cepae</i>	042 -	0420
<i>chrysanthemi</i>	<i>Chrysanthemum</i>	005 -	0050, 0051
<i>ciceris</i>	<i>Cicer</i>	028 -	0280
<i>conglutinans</i>	<i>Brassica</i>	010 -	0100, 101, 104
<i>cubense</i>	<i>Musa</i>	012 -	0120-0126, 0128-1224
<i>cucumerinum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	018 -	0180-0183
<i>cyclaminis</i>	<i>Cyclamen</i>	015 -	0151-0153
<i>dianthi</i>	<i>Dianthus</i>	002 -	0020-0022, 0025, 0027, 0028
<i>elaeidis</i>	<i>Elaeis</i>	014 -	0140, 0141
<i>erythroxyli</i>	<i>Erythroxyllum</i>	029-	-
<i>eragariae</i>	<i>Fragaria</i>	043 -	-
<i>garlic</i>	<i>Allium sativum</i>	101 -	1011-1013
<i>gladioli</i>	<i>Gladiolus</i>	034 -	0340-0345
<i>lactucum</i>	<i>Lactuca</i>	030 -	0300
<i>lagenariae</i>	<i>Lagenaria</i>	041 -	-
<i>lilii</i>	<i>Lilium</i>	019 -	0190
<i>lini</i>	<i>Linum</i>	044 -	0440
<i>lupini</i>	<i>Lupinus</i>	031 -	-
<i>lycopersici</i>	<i>Lycopersicom</i>	003 -	0030-0033
<i>matthioli</i>	<i>Matthiola</i>	021 -	0210
<i>medicaginis</i>	<i>Medicago</i>	004 -	0040, 0041
<i>melongenae</i>	<i>Solanum melongena</i>	032 -	0320
<i>melonis</i>	<i>Cucumis melo</i>	013 -	0130-0136, 0138
<i>nicotianae</i>	<i>Nicotiana</i>	037 -	-
<i>niveum</i>	<i>Citrullus</i>	008 -	0080-0082
<i>opuntiarum</i>	<i>Opuntia</i>	045 -	0450-0456
<i>papaveris</i>	<i>Papaver</i>	025 -	-
<i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus</i>	016-	0161-0168
<i>pisi</i>	<i>Pisum</i>	007-	0070-0073
<i>radicis-cucumerinum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	026-	0260, 0261
<i>nicotianae</i>	<i>Nicotiana</i>	037-	-
<i>niveum</i>	<i>Citrullus</i>	008-	0080-0082
<i>raphani</i>	<i>Raphanus</i>	022-	0220
<i>spinaciae</i>	<i>Spinacia</i>	033-	0330-0332
<i>tracheiphilum</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	006-	0060
<i>tuberosi</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	035-	-
<i>tulipae</i>	<i>Tulipa</i>	023-	0230
<i>vanillae</i>	<i>Vanilla</i>	020-	0201, 0202
<i>vasinfectum</i>	<i>Gossypium</i>	011	0110-0119, 01111, 01112
<i>zingiberi</i>	<i>Zingiber</i>	046-	-

Les agents des flétrissements fusariens, *Fusarium oxysporum*, constituent un groupe de champignons qui comporte un grand nombre d'espèces et de formes spéciales d'origine tellurique (Djerbi, 1988). Ces pathogènes se rencontrent pratiquement dans la quasi-totalité des sols agricoles, surtout sous sa forme asexuée (Armstrong *et al.*, 1981), où il présente 40 à 70 % de la microflore fusarienne totale (Tivoli, 1988). Il inclut une large diversité de souches capables de survivre pour de longues périodes dans la matière organique dans le sol ou en interaction avec plusieurs espèces de plantes herbacées et ligneuses (Garret, 1970) où elles causent de sérieux dégâts et pertes qui peuvent atteindre 100 % de la récolte sur diverses cultures d'importance économique (Abadie *et al.*, 1998).

Le pouvoir pathogène des souches de *Fusarium oxysporum* vis-à-vis de différentes plantes hôtes ainsi que leurs virulences vis-à-vis des cultivars de la même espèce hôte a permis de les identifier et de les répertorier respectivement en formes spéciales et en races physiologiques. Il a été dénombré plus de 120 formes spéciales et races (Ozbay et Newman, 2004). Parmi ces formes spéciales: *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopescici* agent de la fusariose vasculaire de la tomate est l'un des plus redoutables agents parasites de cette culture, il produit trois sortes de spores ; les chlamydospores, les macroconidies et les microconidies (Walker, 1961) (Figure 1).

La fusariose vasculaire est une maladie dévastatrice et signalée dans la totalité des régions du monde. Elle est causée par *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Fol) (Walker, 1961). Ce champignon terricole qui pénètre dans la plante par les racines envahit les tissus ligneux en provoquant le jaunissement, la flétrissure puis la mort de la plante (Blancard, 1997). Cette maladie affecte les cultures de tomate de plein champ, en serres et en pépinières (Bouhot *et al.*, 1972). D'après Weller *et al.*, (1983), serait connue depuis 1895 dans les Iles de la Manche. Elle est répandue sur toutes les aires de culture de la tomate dans le monde (Bouhot *et al.*, 1972). Elle a été signalée en Afrique du Nord par Pecault *et al.*, (1966). En Algérie, certains travaux ont été effectués à travers les zones de culture de la tomate ont révélé l'existence de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* en particulier dans les régions du littoral Algérois (Saloum, 1986 ; Setti, 1986 ; Tebibel, 1979). Le danger de cette trachéomycose reste relatif, dans chaque région, par rapport aux méthodes préventives et aux conduites culturales adoptées.

La détermination des trois races de ce champignon se distingue par leur virulence pour les variétés de la tomate, qui contiennent un gène unique de résistance. La race 1 a été décrite initialement en 1886 (Booth, 1971), la race 2 a été signalée également en 1945 dans l'Ohio (Alexandre, 1945) et la race 3 a été observée en Australie en 1978 (Grattidge et O'Brien, 1982) et aussi signalée dans plusieurs pays d'Amérique : Californie (Davis *et al.*, 1988), et en Floride (Volin et Jones, 1982). Les trois races de ce champignon sont classées dans quatre groupes de compatibilité végétative, les deux races sont actuellement regroupées dans trois groupes de compatibilité végétative, le VCG_S 0030 à 0032, la troisième race appartient au VCG_S 0030 et 0033 (Cai *et al.*, 2003). La classification établie par Agrios (1998) est comme suit :

- Règne : Mycota
- Division : Eumycota
- Sub-division : Deuteromycota
- Classe : Hyphomycota
- Ordre : *Hyphale*
- Famille : *Tuberculariaceae*
- Genre : *Fusarium*
- Espèce : *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*.

I.3. Biologie de *Fusarium oxysporum*

Dans un milieu de culture solide, comme le milieu PDA (Potato dextrose agar), les différentes formes spéciales de *F. oxysporum* peuvent varier en apparence. Généralement, au début de la croissance, le mycélium aérien est blanc et peut ensuite changer vers une grande variété de couleurs (du violet jusqu'au pourpre foncé) selon la souche de *F. oxysporum* (ou forme spéciale). Si les sporodochiums (amas de conidiophores provenant d'un stroma ou masse d'hyphes) sont abondants, la culture apparaîtra en couleur crème ou orange (Nelson *et al.*, 1983).

Fusarium oxysporum produit trois types de spores asexuées: microconidies, macroconidies et chlamydospores. Les microconidies sont uni ou bicellulaires et sont produites abondamment et fréquemment par le champignon sous tout type de conditions.

C'est aussi le type de spores qui est observé plus fréquemment à l'intérieur des vaisseaux des plantes infectées. Les microconidies de *F. oxysporum* ont souvent la forme d'une virgule ou sont ellipsoïdales (Figure 1-A) (Fravel *et al.*, 2003 ; Schippers *et al.*, 1981). Les macroconidies sont composées de

trois jusqu'à cinq cellules, elles sont pointues et courbées jusqu'au bout (Figure 1-B). Ces spores peuvent être observés dans des sporodochiums à la surface des plantes attaquées par le pathogène. Les chlamydospores sont des spores rondes d'une ou deux cellules, entourées d'une paroi épaisse plus ou moins pigmentée. Elles sont observées au milieu des hyphes ou en position terminale, souvent en forme de paires, quelques fois en triplets et rarement en forme rassemblée (Fravel *et al.*, 2003 ; Schippers *et al.*, 1981) (Figure 1-C).

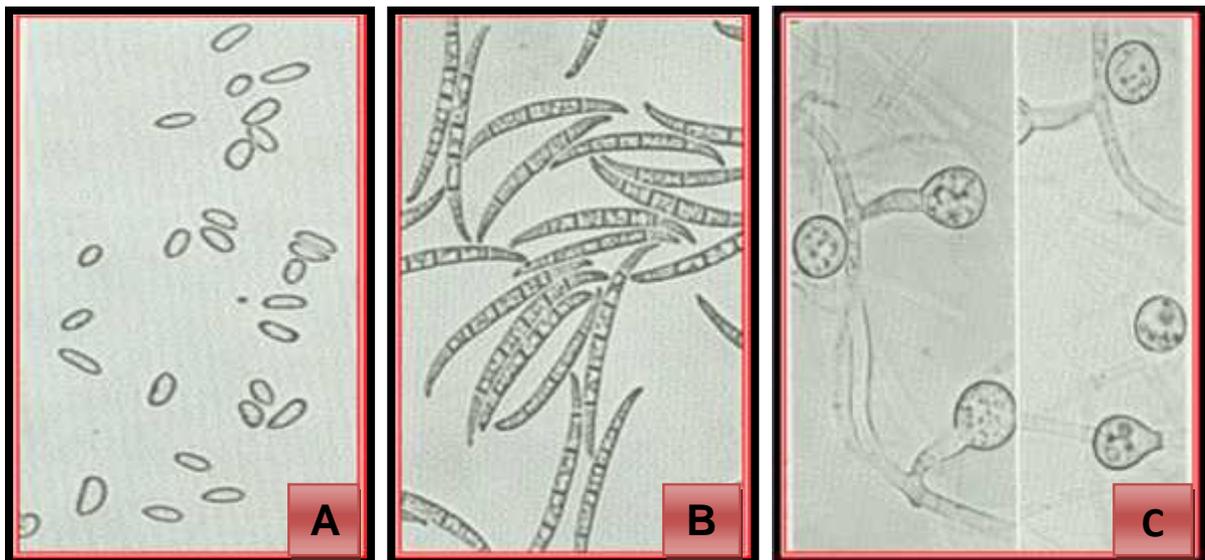


Figure 1 : Fructification de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* : (A) microconidies (5-12 x 2.2-3.5 μm), (B) macroconidies (27-46 x 3-5 μm) , (C) chlamydospores (35-60 x 3-5 μm) .
(Toussoun et Nelson, 1976).

F. oxysporum est un habitant du sol où il croit sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydospores. Ces derniers après leur germination, leurs tubes germinatifs se développent pour atteindre des sites privilégiés sur les racines et initier le processus d'infection. La germination des chlamydospores ainsi que l'évolution saprophytique du mycélium est largement stimulées et favorisées dans la rhizosphère que dans les autres compartiments du sol (Van Loon, 2007).

Le sol rhizosphérique, par le biais des exsudats racinaires des plantes, constitue une étape cruciale dans l'initiation de l'infection systémique où les chlamydospores n'ont besoin que de quelques heures pour germer et pénétrer à travers les tissus non différenciés (Pinton *et al.*, 2001). Généralement le processus d'infection, par voie systémique, peut se réaliser par une pénétration active dans les cellules immatures qui entourent le méristème subapical de la racine. Lorsque ces cellules se divisent et se différencient, le pathogène est éliminé des futures cellules phloémiques et du cortex, mais se maintient dans les vaisseaux et le parenchyme médullaire (Nannipieri *et al.*, 2008). Dans les vaisseaux, le mycélium produit les microconidies qui sont transportées vers le haut par la sève ; quand ce mouvement est empêché par une paroi transversale, les microconidies germent et le tube germinatif pénètre dans la paroi pour que la formation des microconidies reprend de l'autre côté de cette paroi. La mort du plant intervient quand le champignon atteint avec ses toxines le bourgeon terminal. Après la mort du plant, le mycélium continue à se développer dans les tissus morts et forme de nombreuses chlamydospores dans les cellules du parenchyme (Nannipieri *et al.*, 2008).

I.4. Symptomatologie et épidémiologie

Le flétrissement vasculaire est plus sévère dans des conditions chaudes du sol et en serres (Fravel *et al.*, 2003). Les symptômes exprimés sont le résultat d'un stress sévère en eau, ils peuvent être très variables en fonction de la plante et incluent l'éclaircissement de la nervure, l'épinastie des feuilles, la chlorose et le dessèchement. La plupart des plantes flétrissent et meurent, tandis que les plantes qui ont été moins affectées deviennent chétives et peu productives (Fravel *et al.*, 2003). Des symptômes très similaires peuvent être causés par d'autres champignons, comme *Verticillium dahliae* et *V. albo-atrum*. *F. oxysporum* est unique parmi les champignons responsables de flétrissement vasculaire par sa spécificité d'hôte (Amstrong et Armstrong, 1981).

Le champignon peut provoquer des symptômes, caractérisant cette infection vasculaire, sur la plante et à n'importe quel stade végétatif. Les premiers symptômes externes se caractérisent par un jaunissement basal du rachis, d'une foliole et éventuellement de la feuille entière. La décoloration de la tige commençant par un léger jaunissement longitudinal

sur une portion de celle-ci et évolue en une bande jaune plus marquée puis en nécrose beige à marron

claire. Les symptômes sur fruits débiteront par une coloration très claire, brunissant avec le temps et évoluant par la suite sur la totalité du fruit (Beckma, 1989).

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 (Beckman., 1989) (Figure 2).

Chez les jeunes plantes infectées nous observons :

- Un arrêt de croissance (Figure 2- A).
- Base de la tige plus ou moins élargie (Figure 2- D).
- Coloration des tissus vasculaires en brun foncé (Figure 2-B, E).
- Quelques feuilles deviennent jaunâtres et peuvent se courber vers le bas et se détacher (Figure 2-A, D).
- Flétrissement partiel ou total (Figure 2-A, C et D).
- Mortalité des plants (Figure 2-D, F).

Chez les plantes âgées nous observons particulièrement :

- Coloration des tissus vasculaires en brun foncé (Figure 2-E).
- Jaunissement souvent unilatéral des feuilles pouvant se généraliser, suivi d'un flétrissement puis un dessèchement complet de la plante et de sa mort (Figure 2-A, C, D et F).

Ces syndromes sont fréquemment associés à la production dans les tissus de la plante de phytotoxines suite aux attaques de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, à l'exemple de la lycomarasmine et l'acide fusarique (Figures 3, 4) qui sont parmi les substances toxiques produites par ce champignon et qui provoquent une perturbation de l'équilibre en eau chez la tomate et entraînent le flétrissement (Owens, 1969) ; ainsi que des substances enzymatiques pectinolytiques et cellulolytiques qui peuvent hydrolyser la pectine et dégrader les structures membranaires des tissus de la plante hôte (Walker, 1961).



Figure 2 : Principaux symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate.

2-A : Flétrissement et jaunissement des feuilles

2-B : Brunissement longitudinale de la tige

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

2-D : Dessèchement et mort des feuilles

2-E : Brunissement des vaisseaux (Agrios, 2005).

2-F : Mort du plant (Cynthia, 2011).

I.4.1. Les substances parasitaires associées

Deux substances sont synthétisées : les toxines et les enzymes hydrolytiques.

*** Les toxines :**

Les champignons du genre *Fusarium* sont connus pour leur aptitude à synthétiser certaines toxines, parmi elles, on distingue les lycomarasmines et les acides fusariques (Figure 3 et 4) (Gaumann, 1958 ; Tzeng et Devay, 1985).

Ces toxines augmentent la perméabilité cellulaire et provoquent une importante transpiration des plantes atteintes (Corabz, 1990).

L'acide fusarique (Figure 4) peut engendrer une perte considérable d'électrolytes, ayant des conséquences sur la perméabilité cellulaire, laissant apparaître le jaunissement et le flétrissement du feuillage (Owens, 1969).

*** Les enzymes hydrolytiques :**

Les symptômes de brunissement et d'obstruction des vaisseaux conducteurs ont été produits pour la première fois par Gothoskar et Sheffer, 1953 en trempant des plantules dont les racines ont été sectionnées dans des solutions contenant des enzymes pectiques du commerce.

Sachant que la paroi des cellules végétales est formée essentiellement de substances pecto-cellulosiques ; le parasite s'attaque à cette dernière en utilisant ces deux enzymes : la pectine méthyle estérase (PME) qui hydrolyse les groupements méthyle de la pectine et les polygalacturonases (PG) qui hydrolysent les liaisons glucosidiques.

Une activité cellulolytique a été également observée chez le parasite. Hussain et Dimond, (1960) ont constaté la production de cellulase sur des tiges de tomates infectées (Henni, 1998).

Les enzymes pectiques de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, telles que la polygalacturonase et la glucosidase responsables du brunissement des vaisseaux (Davis, 1953).

I.4.2. Les mécanismes de défense :

La plante atteinte développe une série de barrières mécaniques et biochimiques pour lutter contre le parasite (Beckman, 1989).

***Les barrières mécaniques :**

Quand le parasite pénètre par les racines, un brunissement de quelques cellules du parenchyme ligneux voisin de la partie du vaisseau infecté apparaît. Cette réaction est suivie par la formation de thylles, sécrétion gommeuse permettant à la plante d'isoler l'agent pathogène en obstruant le vaisseau envahi avant que le filament mycélien ne produise des conidies.

Si cette réaction tarde à venir, l'infection par les conidies se généralise et se propage à plusieurs vaisseaux entraînant la mort de la plante par gommose, thyllose, et hyperauxinie générale.

Les symptômes externes de la maladie reflètent le degré de l'invasion des vaisseaux vasculaires par les filaments mycélien (El Mahjoub, 1984).

***Les barrières biochimiques :**

Deux substances biochimiques sont élaborées par la plante dès l'attaque du parasite (Henni, 1998).

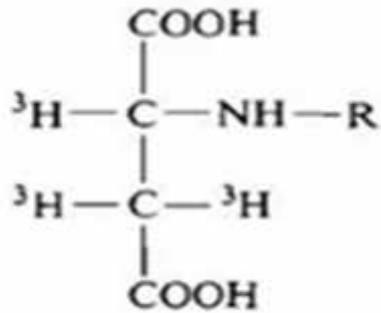
1. Les polyphénoloxydases :

Ce sont des enzymes à base de cuivre, elles sont activées en cas de blessures et interviennent dans l'oxydation des composés phénoliques de la plante et contribuent avec les cellules du parenchyme à la formation des thylles (Messianen, 1981).

2. Les phytoalexines :

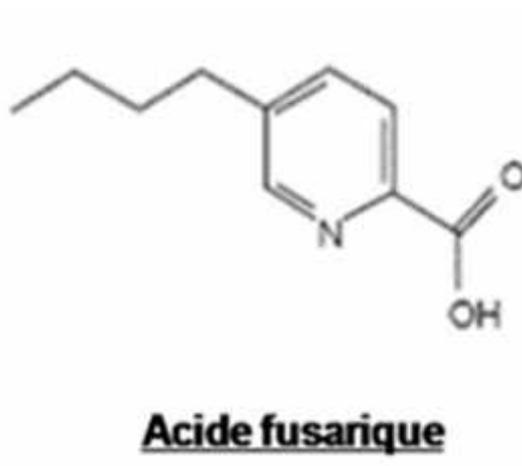
Elles sont considérées comme des substances à effet antibiotique, leur rôle est de freiner la progression du parasite à l'intérieur des vaisseaux.

Ride et Drysdale, 1971 indique que dans le cas d'infection d'une plante de tomate, une relation s'établit dès les premiers jours de l'agression entre la concentration de tomatine (substance inhibitrice) et le blocage de l'agent pathogène (Henni, 1998).



Lycomarasmine

Figure 3 : Structure de lycomarasmine (Abadie *et al.*, 1998)



Acide fusarique

Figure 4 : Structure de l'acide fusarique (Abadie *et al.*, 1998).

I.5. Cycle de vie

Les espèces de *Fusarium oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques. Les isolements effectués indiquent qu'un gramme de sol renferme près de

10^5 propagules (Smith, 1965). Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance (chlamydospores) en état de dormance (Booth, 1971). En

contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines. Après pénétration dans la cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisent ainsi toutes les cellules avoisinantes.

Les hyphes mycéliens progressent à l'intérieur des cellules puis colonisent le cortex, arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante.

A la surface des feuilles, se forment des organes fructifères appelés sporodochies qui produisent des macroconidies qui vont à leur tour contaminer d'autres plantes lorsqu'elles sont transportées par le vent, par l'eau ou bien par l'intermédiaire des insectes (El Mahdjoub, 1984).

La multiplication (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 propagation du champignon (Nelson, 1981 ; Smith et Moss, 1984).

La dissémination de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* est assurée, entre autre, par les semences (Besri, 1977), les eaux de pluie et d'irrigation, le vent ainsi que les outils agricoles (Smith et Moss, 1984).

Le développement et l'agressivité du champignon sont conditionnés par :

- Une température du sol et de l'air variant de 28°C à 30°C (Messiaen *et al.*, 1991).
- Un pH du sol légèrement acide (Hoper *et al.*, 1995).
- Une basse intensité de lumière (Lemanceau, 1989).
- Un pré conditionnement des plantes avec des doses inférieures d'Azote (N) et de Phosphore (P), et une dose plus élevée en Potassium (K) (Lemanceau, 1989).

I.6. Lutte contre les fusarioses

Comme pour toutes les maladies causées par des microorganismes telluriques, les fusarioses ne peuvent pas être éradiquées par des produits chimiques. L'utilisation de variétés des plantes résistantes avec un choix judicieux de la date de semis est la seule mesure pour contrôler les maladies aux champs. Par contre dans sous serres, le contrôle phytosanitaire ou des traitements thermiques du sol entre deux cultures sont possibles.

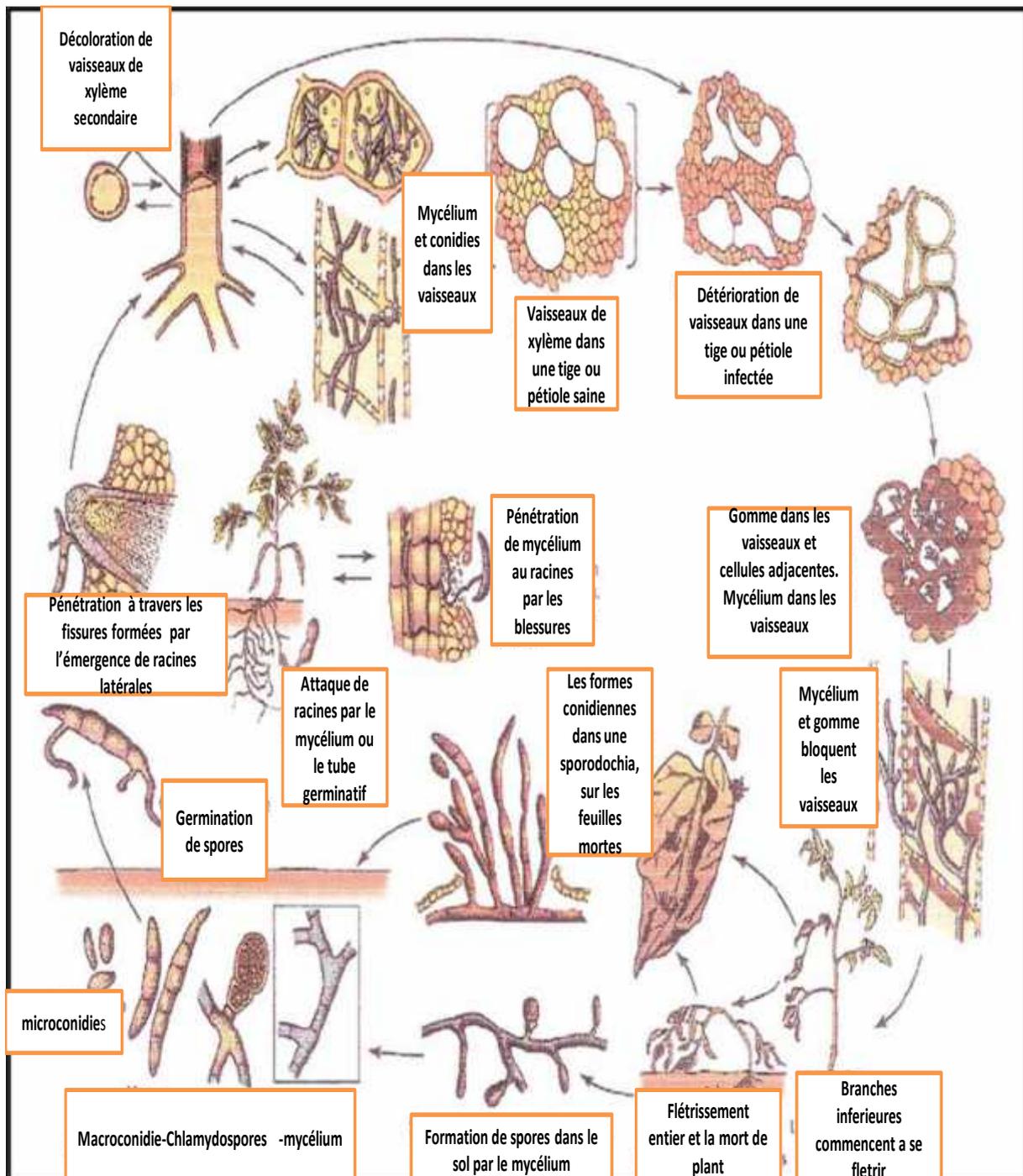


Figure 5: Cycle biologique de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (Agris, 2005).

I.6.1. Moyens préventifs :

En général, les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif : selon Abadie *et al* (1997) :

- Utiliser des cultivars résistants.
- Eviter d'utiliser des plants et des grains infestés.
- Pratique de la jachère.
- Réaliser des rotations de 5 à 7 ans en assurant que le précédent cultural est une légumineuse.
- Manœuvrer la fertilité du sol d'une manière à diminuer la croissance et la virulence du pathogène, et ceci en :
 - a) ajoutant les amendements de chaux pour élever le pH du sol (Scott, 1923).
 - b) évitant l'utilisation excessive des amendements de phosphore et de Magnésium et de maintenir une fertilisation azotée élevée surtout sous forme de nitrates (Barna *et al.*, 1985).
- Solarisation du sol : qui consiste à couvrir le sol avec un film en plastique clair ce qui provoque l'augmentation de la température, et généralement les agents pathogènes sont mésophiles et deviennent inactifs dans les températures entre 40° et 60°C (Anchisi *et al.*, 1985).
- A titre préventif, la lutte physique proposée par Anchisi *et al.*, (1985) qui consiste à traiter les racines avec de l'eau chaude de 48° à 49° C pendant 30 secondes avant la transplantation pour stimuler la croissance des racines. La stérilisation et/ou la solarisation ne sont pas des solutions pratiques à grande échelle et à long terme.

I.6.2. Lutte chimique :

La lutte chimique s'opère principalement par l'utilisation de fongicides systémiques ou incorporés dans le sol pour limiter le développement du pathogène, tels que le Binomyl, le Captafol, bromure de méthyle et thiophanate qui sont des produits efficaces mais présentent des inconvénients : sont très chers, provoquent la pollution de l'environnement, induisent les chloroses chez les jeunes plantes et la résistance chez le pathogène en cas d'utilisation abusive (Maraitre, 1973). En raison de la difficulté d'atteindre les couches profondes du sol dans lesquelles le parasite se conserve sous forme de chlamydospores (Maraitre, 1973), en plus des couts élevés des opérations de désinfection du sol, les traitements chimiques à base de fongicides systémiques, appliqués au cours de culture,

sont souvent inefficaces dans la pratique, car ils développent le phénomène de résistance chez le pathogène (Benhamou, 2001). **Fumigation** avec le Methyl Bromide : c'est un fort fumigant qui a montré une efficacité relative vis-à-vis de la fusariose vasculaire et de plusieurs agents pathogènes (Maw et Kempton, 1973); son avantage a été associé avec de nombreux problèmes incluant l'épuisement de la couche d'ozone; d'ailleurs il a été interdit dans certains pays (IFOAM, 1995).

I.6.3. Lutte génétique :

La lutte génétique consiste à sélectionner des cultivars résistants et à réaliser des multiplications et des hybridations combinées pour l'obtention de génotypes résistants (Ito *et al.*, 2005 ; Louvet, 1979). Des gènes de résistance contre *F. oxysporum* ont été identifiés chez beaucoup d'espèces végétales et ont été introduits par sélection dans des variétés cultivées. Ainsi, chez la tomate, le melon, le haricot, le pois chiche et *Arabidopsis thaliana* des gènes dominants de résistance ont été identifiés (Diener *et al.*, 2005 ; Louvet, 1979).

Même si on ne peut pas généraliser, il est intéressant de noter que les gènes impliqués dans la résistance semblent s'exprimer de façon coordonnée dans le temps et dans l'espace. Malheureusement, ces génotypes sont de qualité fruitière médiocre dans le cas du palmier dattier. L'apparition de souches résistantes du pathogène réduit l'efficacité de ces procédures de lutte et nécessite la recherche de nouveaux gènes de résistance (Bouhot *et al.*, 1972).

En raison des fortes potentialités de conservation du pathogène dans le sol et ses mécanismes d'invasion dans le végétal, la quasi-totalité de ces méthodes de lutte ne permet pas de contrôler de manière efficace ce genre de trachéomycose. En conséquence, les stratégies du contrôle biologique des fusarioses ont acquis un intérêt particulier.

I.6.4. Lutte biologique

Outre les formes de conservation du pathogène et son épidémiologie et pour des raisons écologiques, le recours aux techniques de lutte biologique contre *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, s'impose de plus en plus (Mujeebur et Shahana, 2002). Elles consistent à utiliser des agents antagonistes naturels des pathogènes, limitant ainsi leur prolifération et/ou à développer les défenses des plantes et à augmenter la résistance du sol à la réceptivité des maladies (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Smith, 1971).

Différentes bactéries et champignons rhizosphériques sont considérés comme un moyen efficace dans l'inhibition du développement de cet agent pathogène (Mujeebur et Sahahana, 2002). Certaines études ont mis en évidence l'effet inhibiteur de nombreux agents microbiens (Tableau 2), tels que: *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas spp fluorescents*, *Fusarium oxysporum* non pathogènes, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viridae*.

Au cours des dernières années, l'évolution de la compréhension des modes d'action de l'antagonisme microbien vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* a été en majeure partie dû aux études réalisées dans les travaux sur les sols suppressifs ou résistants aux fusarioses (Alabouvette, 1990 ; Schippers, 1992).

Ce phénomène de « sols suppressifs » a été trouvé et corrélé parfois aux caractéristiques pédologiques mais surtout à sa population microbienne. Des études qui portent sur ce phénomène et les microorganismes impliqués sont nombreuses. Des bactéries et des champignons ont été isolés à partir de sols suppressifs et leur potentiel en lutte biologique est étudié. La synthèse bactérienne d'enzymes lytiques représente un mode d'action de suppression de *Fusarium oxysporum* (Lemanceau et Alabouvette, 1993).

Il est particulièrement intéressant que parmi les champignons des sols suppressifs on trouve notamment des souches saprophytes de *Fusarium oxysporum*. Des souches non pathogènes de *F. oxysporum* et *F. solani* ont été isolées à partir de sol de Châteaurenard en France et leur capacité à protéger des plantes de tomate contre la fusariose vasculaire (Alabouvette *et al.*, 1999; Fravel *et al.*, 2003).

L'effet protecteur d'une souche, *F. oxysporum* 47 (*Fo* 47) a été particulièrement étudié, et il a été reporté qu'il était dû à plusieurs mécanismes. Fuchs *et al.*., (1997) ont montré que *Fo* 47 induisait des réactions de défense chez la tomate, ce qui indique une participation de la résistance induite dans la protection. Mais des mécanismes de compétition pour les nutriments au sol et la rhizosphère jouent aussi un rôle (Fuchs *et al.*,1997). La présence de *Fo* 47 dans le sol était capable de protéger plusieurs espèces végétales comme le lin, le melon et la tomate contre ses respectives *formae speciales* (Aimé *et al.*, 2008).

De façon générale, l'utilisation de souches protectives de *F. oxysporum* pour le contrôle du flétrissement vasculaire a été rapportée pour plusieurs plantes et souches fongiques, comme dans le cas du bananier, du concombre, du melon, du lin, d'épinard et de la pastèque (Fuchs *et al.*, 1997).

Application de la lutte biologique

La lutte biologique est née après un sérieux échec de la lutte chimique, le moyen le plus efficace et rapide depuis la seconde guerre mondiale (Semal, 1989), principalement dû à de nombreux problèmes directement ou indirectement sur le plan agro-écologique (Dunphy et Tibelius, 1992).

La lutte biologique contre les agents pathogènes peut se pratiquer en détruisant le pathogène, l'inactivant ou en réduisant sa virulence durant la phase de conservation et/ou en interférence avec le processus d'infection de la plante (Semal, 1989).

La lutte biologique repose sur l'utilisation des agents microbiens antagonistes. Ces derniers peuvent être isolés de différents biotopes et au sein de la microflore tellurique. De nombreux travaux ont signalé l'efficacité particulière d'agents microbiens d'origine rhizosphérique (Verma *et al.*, 2007). Le biotope rhizosphère est considéré comme milieu riche en activités microbiennes conditionnée par les activités métaboliques et de croissance des racines des plantes (Adams, 1990; Caron, 2002).

L'utilisation de ces microorganismes bénéfiques non pathogènes, en tant que biopesticides, est une technologie émergente et écologiquement compatible considérée

comme alternative prometteuse aux pesticides de synthèse (Tableau 2). Globalement, l'effet protecteur conféré par ces agents de lutte biologique est basé sur la compétition, l'activité antagoniste rhizosphérique vis-à-vis de la croissance des pathogènes via la production d'antibiotiques ou d'enzymes et/ou leur capacité à stimuler la croissance et les systèmes de défense chez l'hôte végétal, phénomène dénommé « Induced Systemic Resistance » (ISR) (Saharan et Nehra, 2011).

La réussite de la lutte biologique repose sur le mode d'application qui va permettre à l'agent de lutte d'être positionné au bon endroit et au bon moment pour qu'il exprime sa capacité antagoniste. Pour une meilleure efficacité, il faut qu'il soit capable de coloniser bien la rhizosphère de la plante hôte (Alabouvette, 2001).

Tableau 2: Tableau montrant les différents microorganismes utilisés en lutte biologique.

Agents de lutte	Mode d'action	Références
<i>Aspergillus niger</i>	Production de phenylethanol, acide phenylacetique, 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 <i>et al.</i> , 2011)
<i>Pseudomonas spp</i>	Production de sidérophores (pyoverdine et pyochiline) et l'antibiotique.	(Dmitri <i>et al.</i> , 2006)
<i>Bacillus subtilis</i>	Production de phenylethanol, acide phenylacetique, et acide phynoxycetic	(Shanmugam et kanoujia, 2011)
<i>Fusarium oxysporum</i> non pathogène (Fo47)	Compétition pour nutriments, colonisation de racines, induction de résistance systémique	(Alabouvette <i>et al.</i> , 2008; Kaur <i>et al.</i> , 2010)

II. LES RHIZOBACTERIES PHYTOBENEFIQUES

II.1. Généralités sur les *Pseudomonas* spp *fluorescents*

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à coloration Gram négative (Gram-), non sporulantes, très généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire (Palleroni, 2009). Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à la sous-classe des protéobactéries et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires fréquemment rencontré dans diverses niches écologiques (Bossis *et al.*, 2000 ; Palleroni et Moore, 2004).

Depuis la découverte du genre *Pseudomonas* (Migula, 1894), plusieurs changements de nomenclatures ont été proposés dès le début de l'année 1968, actuellement, l'édition de 2005 du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology rapporte une soixantaine d'espèces au genre *Pseudomonas* (Palleroni et Genus, 2005). Néanmoins, 188 espèces sont actuellement répertoriées sur le site internet <http://www.bacterio.cict.fr/p/pseudomonas.html>.

Les *Pseudomonas* telluriques qui constituent le pool de rhizobactéries colonisatrices de la rhizosphere, appartiennent aux groupes des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), synonyme de Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Kloepper *et al.*, 1980).

Les bactéries du genre *Pseudomonas* arrivent à s'adapter facilement et s'associent avec plusieurs plantes et induisent deux types de réactions qui peuvent mener à une situation de déséquilibre métabolique causant une maladie chez les plantes hôtes sensibles, comme par exemple chez les nombreux pathovars de *P. syringae* qui mettent en place des interactions pathogènes avec les plantes (Höfte et Vos, 2006). Ou alors à des interactions mutualistes très largement représentées parmi les bactéries à effet PGPR qui ont un effet promoteur sur la croissance des plantes. Ces bactéries sont aussi largement retrouvées parmi les microorganismes phytobénéfiques et les agents potentiels de lutte biologique qui ont pour effet d'améliorer la santé des plantes via l'induction de la résistance systémique (Dubuis et Haas, 2007). D'autres effets bénéfiques sur le plan écologique leurs sont conférés notamment par leur rôle dans la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol et les eaux

pollués (Bossis *et al.*, 2000; Guo et Ecker, 2004 ; Leahy *et al.*, 2003; Mirleau, 2000; Timmis,2002).

Les actions bénéfiques de ces bactéries sont souvent le résultat d'un métabolisme secondaire très actif qui est impliqué chez ces bactéries aux caractéristiques intrinsèques des souches bactériennes et leurs interactions avec les conditions environnementales à l'exemple des sidérophores, les antibiotiques, les substances de croissance et les phénazines (Lemanceau, 1992).

II.2.Stimulation de la croissance végétale

De nombreux travaux effectués sur plusieurs espèces végétales font état d'une stimulation de la croissance après bactérisation avec des souches de *Pseudomonas spp fluorescents* (Kloepper *et al.*, 1988 ; Suslow et Schrouth, 1982; Xu et Gross, 1986). La mise en évidence de cette stimulation a été rapportée dans différentes conditions expérimentales et à divers stades phénologiques: sur le développement de vitroplants, pendant la rhizogénèse, sur la faculté germinative (Cook et Baker, 1983 ; Kloepper *et al.*, 1980; Scher et Baker, 1982), sur la levée et l'élongation des tiges et sur l'accroissement de la phytomasse de plantes herbacées et ligneuses (Waxlin, 1982).

Les mécanismes qui induisent ces gains de croissance sont souvent la conséquence d'une production ou d'un changement dans la concentration de certains métabolites secondaires, tels que l'acide indolacétique (AIA) (Mordukhova *et al.*, 1991), l'acide gibbérellique (Mahmoud *et al.*, 1984), l'éthylène (Glick, 1995), l'acide succinique (Grayston *et al.*, 1991)et certaines vitamines (Rodelas *et al.*, 1993).

II.3.Induction de la résistance systémique

De nombreuses expérimentations ont montré que plusieurs souches de *Pseudomonas spp fluorescents* ont la capacité d'induire une résistance systémique (IRS) chez les végétaux vis-à-vis des agents pathogènes. Elles assurent une bioprotection de la plante contre un large spectre d'organismes phytopathogènes (Van Loon *et al.*, 1998).

En réponse à différents types de pré-inoculation, ce mécanisme de défense des plantes semble être assez général et laisse entrevoir d'intéressantes possibilités agronomiques (Ricci, 1989).

La reconnaissance par la plante de certaines bactéries de la rhizosphère peut conduire à une réaction d'immunisation lui permettant de mieux se défendre vis-à-vis d'une attaque ultérieure par un organisme pathogène. Ce phénomène d'induction de résistance systémique (ISR) par les rhizobactéries est considéré comme une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies de cultures.

Les études réalisées par Katan *et al.*, (1997), ont démontré que certaines rhizobactéries peuvent induire l'expression des capacités défensives chez certaines plantes. Ce mécanisme décrit comme l'induction de la résistance systémique (ISR) a fait l'objet d'autres études (Anchisi *et al.*, 1985 ; Barna *et al.*, 1983; Maraitre *et al.*, 1973), en mettant en évidence le renforcement des systèmes de défenses chez plusieurs plantes, tels que le radis, le tabac, l'haricot et le concombre (Benhamou *et al.*, 2001; Diener et Ausubel., 2005; Gueldener *et al.*, 2006; Simons *et al.*, 1998).

L'ISR est également peu spécifique concernant la nature de l'agent infectieux contre lequel la phytoprotection est assurée. Etant donné la systémicité du phénomène, l'état induit s'exprime dans tous les organes de la plante, des racines aux feuilles et aux fruits (Remans *et al.*, 2007).

II.4. Protection des plantes contre les maladies d'origines telluriques

L'utilisation de bactéries du groupe des *Pseudomonas spp fluorescents* pour lutter contre les maladies d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Hassanjadeh, 1991; Leong., 1986; Neilands et Leong, 1986; Parmar et Dadarwal, 1999; Schroth et Hancock, 1982).

Des résultats intéressants en matière de biocontrôle ont été obtenus dans le cas du piétin échaudage des céréales (Morohoshi *et al.*, 2009), les fontes de semis du concombre et du blé (Cook et Becker, 1988; De Freitas et Germida, 1991; Kraus et Loper, 1992), quelques maladies fongique des agrumes (Bloemberg et Lugtenberg, 2001) et les fusarioses vasculaires

provoquées par divers formes spécifiques de *Fusarium oxysporum* (Benchabane *et al.*, 2000; Benachabane, 2005; Lemanceau et Alabouvette, 1993; Sneh *et al.*, 1984).

II.5. La compétence rhizosphérique

Weller *et al.*, (2007) ont défini la colonisation des racines comme le processus par lequel les rhizobactéries introduites sur semence, organes de multiplication végétative, ou sur sol deviennent répartis tout le long des racines en croissance en se multipliant, puis en persistant pendant plusieurs semaines en présence de la microflore indigène.

La colonisation des racines inclut deux schémas majeurs de colonisation caractérisant deux groupes de rhizobactéries ayant chaque une des spécificités préférentielle pour coloniser la rhizosphère, rhizoplan, et/ou l'intérieur des racines.

II.6. Les siderophores

Tout organisme vivant a besoin d'un élément essentiel qui est le fer, car il est inclus dans les réactions d'oxydoréduction qui se déroulent lors des réactions fondamentales comme la photosynthèse, la respiration, la fixation d'azote atmosphérique, la synthèse de désoxyribonucléotides et le transport d'oxygène.

Les siderophores sont des métabolites secondaires synthétisés par plusieurs espèces de *Pseudomonas spp fluorescents* telles que *P. aeruginosa*, *P. fluorescents putida*, *P. ovalis*, *P. nildenbigii*, *P. reptitivora*, *P. gericulata* et *P. calcipitans* (Meyer et Abdellah, 1978).

Le mot siderophore vient du grec « sideros » signifie (porteurs de fer) sont des composés organiques de faible poids moléculaires (500 à 1500 Da) et de forte affinité pour le fer trivalent Fe^{3+} , a une forte stabilité (Meyer et Abdellah, 1978) se traduisent *in vitro* par l'émission de chromophore jaune-vert fluorescent sous rayonnement ultraviolet (Palleroni, 1984, 1992) caractéristique de ce groupe bactérien (Palleroni, 1984). Selon les auteurs, le pigment fluorescent est nommé « fluoresceine » ou « pyoverdine » (Meyer et Abdellah, 1978) ou pseudobactine (Lemanceau *et al.*, 1992 ; Teintze *et al.*, 1981); il est d'une chaîne

peptidique d'acide aminé lié à un chromophore fluorescent responsable de la fluorescence jaune vert caractéristique de ce pigment (Demange *et al.*, 1987).

Les *Pseudomonas* produisent plusieurs types de sidérophores tels que les pyoverdines (Heming, 1986 ; Meyer et Abdellah, 1978), les ferribactines, les pyochelines (Lemanceau, 1992; Mercado-Blanco *et al.*, 2001) et les pseudobactines qui diffèrent d'une souche à l'autre selon leur structure peptidique (Meyer *et al.*, 1992).

La production des sidérophores, corrélativement au pouvoir antagoniste sont sensibles aux variations de la température, du pH du sol, de la disponibilité de l'azote, des teneurs en oxygène, en cuivre et en phosphore et de la concentration en oligo-éléments notamment en fer (Burr *et al.*, 1978; Joyce *et al.*, 1991; Scharma *et al.*, 2003 ; Teintze *et al.*, 1981). Cette dernière lorsqu'elle est faible, elle déclenche la synthèse des sidérophores, puisque les conditions d'aérobie et de Ph neutre, le fer se trouve sous des formes oxydées et polymérisées d'hydroxyde de fer $Fe(OH)_3$ totalement insoluble, ce qui rend son assimilation difficile par les bactéries (Barrash, 1990) (Figure 6).

Les sidérophores permettent aux *Pseudomonas spp fluorescentes* de s'approprier du fer assimilable et le rendre inaccessible au *Fusarium oxysporum spp*, provoquant ainsi l'inhibition de la germination des chlamydo-spores et le développement du mycélium (Lemanceau et Alabouvette, 1993). Il a été rapporté que les activités antagonistes chez plusieurs souches de *Pseudomonas spp fluorescentes* à l'encontre de divers agents phytopathogènes du genre *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium* et *Erwinia* (Leong, 1986 ; Misaghi, Grogan, 1969) dont le potentiel chélateur est nettement meilleur que celui des autres micro-organismes (Leong, 1986).

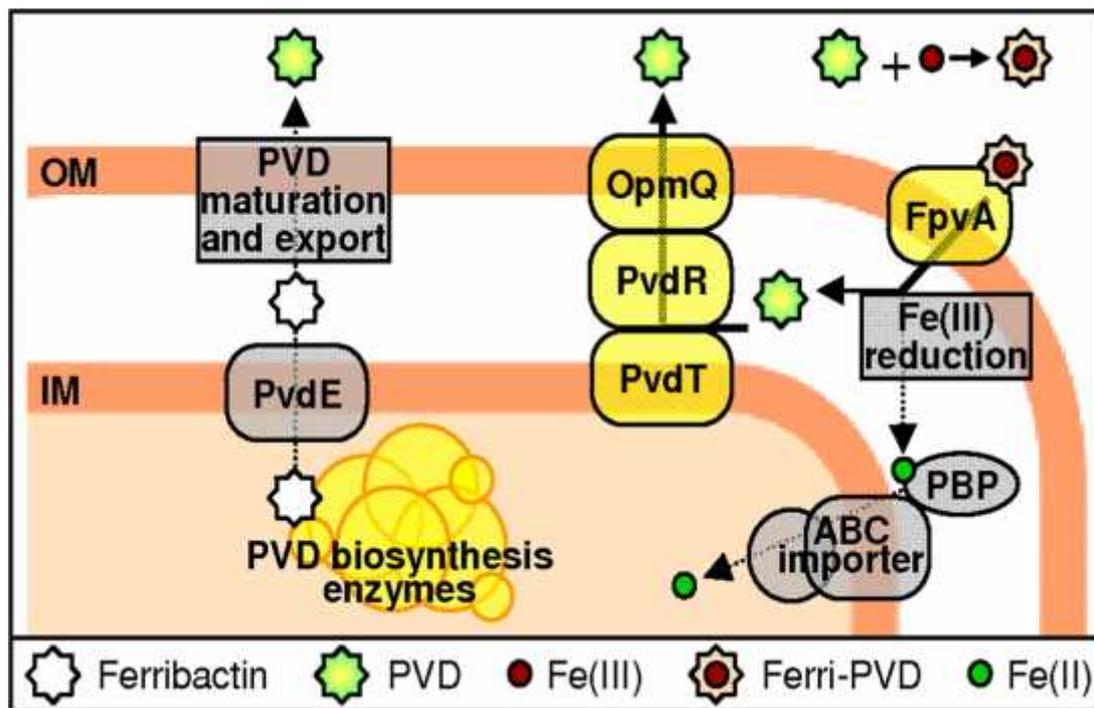


Figure 6: Mécanismes des sidérophores

(<http://www.pnas.org/content/106/48/20440/F5.expansion>)

II.7.L'antibiose

De nombreux scientifiques attribuent aux *Pseudomonas* spp *fluorescents* des actions d'antibiose sur la microflore pathogène ou délétère (Baker *et al.*, 1986; Keel *et al.*, 1992). La production des antibiotiques par ces rhizobactéries a été reconnue comme un facteur majeur dans leur aptitude à diminuer significativement le taux de plusieurs pathogènes racinaires (O'Sullivan et O'Gara, 1992). Chez les *Pseudomonas* spp *fluorescents* se sont surtout les antibiotiques ; tels que 2,4 diacetylphloroglucinol des phénazines, des pyoluteorines et des pyrrolnitrines (Keel *et al.*, 1992; Nielsen *et al.*, 1999), des viscosinamides, des tiensines, amphisine et l'oomycine A et de la tropolone (Nielsen *et al.*, 1999) (Tableau 2.3). Certaines souches produisent des cyanides d'hydrogène (Arshad et Frankenberger, 2002) et des enzymes lytiques telles que les chitinases et les 1-3 glucanases, capables de dégrader la paroi fongique et les composés toxiques tel que l'acide fusarique (Glandorf *et al.*, 1998).

Tableau 3 : Principales molécules antibiotiques produites par certaines souches de *Pseudomonas fluorescens*

Molécules antibiotiques	Références
Oomycine	Guettersen, 1990
Pyacheline	Cox <i>et al.</i> , 1981
PCA (Phenazine 1- carboxylique acide)	Thomaschow et Weller, 1988
Pyolnitune (3-chloro-(2-vitro 3 :chlorophenyl-pyrol)	Digat, 1983
Pyolutéorine (4,5- Dichloro-1-4 pyrol 2 YL- 2,6-DI-OH-Phenyl-cétone)	Howell et Stepanovic, 1980; Digat, 1983
Pseudobactine (Hexapeptide)	Meyer et Abdellah, 1978 Teintze <i>et al.</i> , 1981 Digat, 1983; Baker, 1985
Tropolone (2-OH-2,4-cycloheptatrien 1-1)	Howell et Stepanovic, 1980 Lindberf, 1981
Pyoverdine (A.i.A) Acide indol-3 acétique	Meyer et Abdellah, 1978

Le rôle des antibiotiques dans l'inhibition du développement des microorganismes phytopathogènes a été mis en évidence grâce à l'utilisation de mutants déficients en synthèse d'antibiotiques par rapport aux souches sauvages (Chin-A-Woeng *et al.*, 1998 ; Keel *et al.*, 1992; Thomashow, 1997). Certaines souches ont été également manipulées génétiquement afin de leur permettre de produire plusieurs antibiotiques. L'utilisation de gènes rapporteurs et de sondes, pour mesurer l'expression des gènes impliqués dans la production d'antibiotiques, a permis de détecter l'activité de ces gènes lors de la colonisation des racines et directement dans la rhizosphère (Chin-A-Woeng *et al.*, 1998) . Les antibiotiques produits dans la rhizosphère ont été reconnus comme un facteur majeur dans la suppression de plusieurs maladies telluriques, telles que le piétin échaudage du blé (Weller *et al.*, 2002), la pourriture blanche des racines du tabac (Keel *et al.*, 1992) et la fusariose vasculaire de la tomate (Défago et Haas, 1990).

Plusieurs facteurs abiotiques (l'oxygène, la température, des sources spécifiques de carbone et d'azote, et des micro-éléments), biotiques (la plante hôte, le pathogène, la microflore indigène, et la densité de cellules de la souche productrice) et physiologiques tels que le quorum sensing ont été identifiés pour influencer la production des antibiotiques par les agents bactériens de biocontrôle (Défago et Haas, 1990).

II.8. Production de l'acide Cyanhydrique (HCN)

La production de l'HCN par certaines souches de *Pseudomonas spp fluorescents* peut être aussi un facteur inhibiteur des pathogènes des racines des plantes. Ce dernier peut agir directement sur les cellules de l'agent pathogène en bloquant le cytochrome oxydase dans la chaîne respiratoire. Il a été suggéré que la production d'HCN par la souche CHAO provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de son système racinaire et sa résistance naturelle (Défago et Haas, 1990). Cependant, en plus d'une activité protectrice, ce composé peut également être nocif pour la plante.

La stimulation de la synthèse de l'acide cyanhydrique est associée au catabolisme de la glycine, ce dernier est considéré comme un précurseur de la synthèse bactérienne d'acide cyanhydrique. Cette stimulation de sa synthèse améliore l'efficacité des bactéries à réduire la gravité de la maladie. Au niveau de l'adaptation à la rhizosphère, la production d'HCN peut être avantageuse pour acquérir des nutriments par exemple, l'HCN cause une augmentation de l'exsudation de nutriments par les tissus de la plante (Ellis *et al.*, 2000).

III. CHAMPIGNONS BENEFIQUES OU PGPF

La stimulation des défenses de la plante peut être réalisée par certains champignons qui peuvent présenter aussi une action antagoniste (Weller *et al.*, 2002). Ces champignons bénéfiques ont été appelés PGPF pour "Plant Growth-Promoting Fungi". Ils peuvent être des champignons filamenteux (O'Sulvin et O'gara, 1992). Les PGPF peuvent être naturellement présents chez diverses plantes, aussi bien chez des plantes herbacées (Bais *et al.*, 2004) que des plantes ligneuses (Sharma et Johri, 2003), notamment la vigne (Agrios, 2005).

Trichoderma spp sont parmi les champignons les plus fréquents dans le sol et dans les écosystèmes des racines des plantes. Ces champignons sont opportunistes, avirulents pour les plantes, symbiotiques et fonctionnent comme des parasites et antagonistes de nombreux champignons phytopathogènes, ce qui protège les plantes des maladies (Salmond *et al.*, 1995).

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.

Le genre *Trichoderma* est caractérisé par une vitesse de croissance rapide et une sporulation abondante sur milieu de culture. Il est facilement reconnaissable en culture grâce à la couleur généralement verte des spores. Ce genre est caractérisé par des conidiophores fortement ramifiés selon une structure pyramidale et se terminant par une ou plusieurs phialides. Ces dernières peuvent être cylindriques ou subglobuleuses, regroupées en masse ou en solitaire. Les conidies sont hyalines, ellipsoïdes et lisses chez la plupart des espèces ; les conidies globuleuses sont rares. Certaines espèces peuvent produire des chlamydospores globuleuses, qui sont intercalaires ou terminales. Le système de ramification du conidiophore est hautement variable et dans certains cas peut ressembler superficiellement au genre *Verticillium* et *Gliocladium* (Soylu *et al.*, 2002).

III.1.Taxonomie

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de polémiques. Dans le règne vivant les limites de «l'espèce» reposent sur la possibilité de croisement entre individus. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects cultureux et la morphologie des appareils sporogènes (Roquebert, 1996) ainsi que sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaires (Gams et Bissett, 1998).

Au départ, la taxonomie de ce genre était basée en grande partie sur les caractères morphologiques et les résultats les plus importants ont été publiés par Rifai (Rifai, 1969) et Bisset (Bisset, 1991). La première tentative de subdiviser le genre *Trichoderma* a été réalisée par Rifai (Rifai, 1969) qui a subdivisé le genre *Trichoderma* en 9 espèces agrégats, tout en reconnaissant que les dernières espèces qu'il a décrit ne sont pas vraiment des espèces biologiques. Cet auteur a bien reconnu que chaque espèce agrégat est hétérogène et comprend

plus qu'une espèce biologique, car il n'était pas possible de définir les limites des espèces biologiques individualisées.

Les neufs agrégats décrits par Rifai (Rifai., 1969) sont :

1. *Trichoderma piluliferum* Webster et Rifai
2. *Trichoderma polysporum* (Link : Fr.) Rifai
3. *Trichoderma hamatum* (Bon) Bain
4. *Trichoderma Koningii* Oud
5. *Trichoderma aureoviride* Rifai
6. *Trichoderma harzianum* Rifai
7. *Trichoderma longibrachiatum* Rifai
8. *Trichoderma pseudokoningii* Rifai
9. *Trichoderma viride* Pers. : Fr.

En 1991, Bissett propose la notion de « section » pour faire face au nombre croissant d'espèces nouvelles de *Trichoderma* sp, sans rapport avec les espèces agrégées. Se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides, il regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (*Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum*). Le système taxonomique de Bissett est aussi appuyée, entre autres, par des approches de biologie moléculaire (PCR), pour répondre au positionnement de nouvelles espèces de *Trichoderma* identifiées (dont les formes téléomorphes sont souvent non identifiées) et reste le plus fiable actuellement (Bissett, 1991). La méthodologie de cette taxonomie, repose sur des comparaisons de l'aspect morphologique, le profil métabolique, l'examen phylogénétique et la séquence d'ADN avec des bases de données de références internes au laboratoire de Bissett (Canada).

Les espèces de *Trichoderma* ainsi que leurs rares formes téléomorphes observées sont classées parmi les Ascomycètes (second plus important groupe fongique en nombre d'espèces) du genre *Hypocrea* (Bissett, 1991).

Plus de 200 espèces du genre *Hypocrea* ont été identifiées, mais sont rarement cultivables, et de ce fait peu décrites en termes modernes. Sous certaines conditions méconnues, les *Hypocrea* sp. (téléomorphes) se transforment « définitivement » en

Trichoderma sp. (anamorphes). On pense alors que l'évolution a conduit à la disparition du mode sexué pour l'établissement d'un genre à reproduction exclusivement asexuée (Bisset, 1991).

La position taxonomique des *Trichoderma* sp se présente comme suit, selon Bisset, (2004) :

Embranchement	Amastigomycota et/ou Eumycètes
Sous embranchement	Ascomycotina
Classe	Sordariomycètes
Ordre	Hypocréales
Famille	Hypocraceae
Genre	<i>Hypocrea mitosporique</i> (<i>Trichoderma</i>)

III.2. Application du genre *Trichoderma* dans la lutte biologique

Parmi les champignons antagonistes qui ont démontré un bon potentiel de lutte, *Trichoderma spp* est sans contredit le plus rapporté dans la littérature (Elad *et al.*, 1982; Harman, 2000) ayant démontré des effets contre : *Pythium* (Bolton, 1980; Chet *et al.*, 1984; Clavet *et al.*, 1993); *Phytophthora cinnamomi* (Kelley, 1976), *Rhizoctonia solani* (Elad *et al.*, 1980; Lewis et Papavizas, 1987; Windham *et al.*, 1986); *Sclerotium rolfsii* (Backman et Rodriguez-Kabana, 1975), etc. Ces champignons pathogènes causent d'importants dégâts dans les cultures fruitières, légumières, serrioles et ornementales.

III.3. Mode d'action de *Trichoderma*

Trichoderma 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 en présence 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. Il

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).

III.3.1. Interactions *Trichoderma*-pathogène

II.3.1.1. Mycoparasitisme et production des enzymes lytiques

Le processus complexe du mycoparasitisme consiste à plusieurs événements, incluant la reconnaissance de l'hôte, l'attaque et par conséquent la pénétration et la mort de l'hôte. Durant ce processus *Trichoderma* secrète des CWDEs (Cell wall degrading enzymes) qui hydrolysent la paroi des cellules de l'hôte, relâchant par conséquent des oligomères de la paroi des cellules de l'hôte (Bouhot *et al.*, 1972; Pierson *et al.*, 1998). Il a été montré que *Trichoderma* secrète des enzymes hydrolytiques à un taux constitutif et détecte la présence des autres champignons par la sensation des molécules relâchées de la dégradation enzymatique de l'hôte (Bouhot *et al.*, 1972).

Les enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques secrétées par *Trichoderma* spp. telles que les chitinases et les glucanases sont considérées comme étant les déterminants majeurs de l'activité antagoniste (Booth., 1971; Wood *et al.*, 1997). Des données récentes indiquent clairement qu'en particulier les chitinases jouent un rôle principal (Bouhot *et al.*, 1972). Quelques enzymes chitinolytiques de *T.harzianum* ont été purifiées et caractérisées (Alexander et Zuberer, 1991). Ces dernières sont secrétées de manière extracellulaire pour dégrader les substrats à base de chitine (exemple : le mycélium des champignons). Certaines de ces enzymes ont un rôle nutritionnel et peuvent être impliquées dans la lutte biologique (Wood *et al.*, 1997). Lorito *et al.*, (2006) ont observé qu'une souche de *T.harzianum* efficace dans la lutte biologique agissait en premier lieu par la production d'antibiotiques pour tuer l'hôte, et beaucoup plus tard des enzymes chitinolytiques pour la colonisation saprophytique des tissus de la plante hôte déjà morte. Selon ces données, l'efficacité de la lutte biologique des souches de *Trichoderma* spp serait associée à la production d'antibiotiques non volatils ou avec d'autres mécanismes autre que le mycoparasitisme (Wood *et al.*, 1997). Par contre, 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 (Volin et Jones, 1982). Certains isolats de *Trichoderma* spp commercialisés et utilisés dans la lutte biologique ne produisent pas d'antibiotiques non volatils (Alexander et Zuberer, 1991), et une corrélation directe est trouvée entre l'activité chitinolytique *in vitro* et la capacité de biocontrôle de certains isolats de *T.harzianum* (Booth, 1971). Certaines enzymes chitinolytiques de *Trichoderma* spp et *Gliocladium* spp peuvent être directement utilisées en combinaison avec les fongicides chimiques pour protéger les fruits au cours du stockage contre les maladies de conservation. Des applications basées sur des préparations enzymatiques dans les serres ou en plein champ peuvent être utilisées, puisque les enzymes peuvent améliorer l'efficacité des fongicides systématiques et des bactéries antagonistes (Grattidge et O'Brien, 1982). Ce qui est également prometteur pour la défense des plantes, et le transfert des gènes codant pour les enzymes chitinolytiques de différentes espèces végétales (Couteandier, 1992).

Concernant la dernière approche de lutte, de nombreux végétaux d'intérêt économique ont été génétiquement modifiés avec des chitinases d'origine diverse afin d'accroître leur résistance systématique antifongique et insecticide. Le renforcement des activités antifongiques est montré chez les plantes exprimant des chitinases recombinantes d'origine bactérienne et fongique (Fuchs *et al.*, 1997).

III.3.1.2. Antibiose et métabolites secondaires

L'antibiose se manifeste par un arrêt de la croissance mycélienne des deux 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* qui seraient responsables de leurs propriétés antagonistes. Bélanger et Labbé (1994) ont démontré, dans l'interaction entre *Trichoderma* et *Botrytis*, que l'antibiose et le parasitisme par des enzymes pouvaient être impliqués, simultanément ou séquentiellement.

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.

Métabolites volatils: 6-pentyl-pyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (Vizcaino *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) (Vizcaino *et al.*, 2005).

Les structures chimiques des antibiotiques de *Trichoderma* peuvent suggérer deux différents mécanismes d'action. La production des composés de faible poids moléculaire, non polaires et volatils résultant dans une grande concentration d'antibiotiques dans sol d'environnement, qui a relativement une gamme de longue distance d'influence sur la communauté microbienne. Au contraire, l'effet d'une courte distance peut être dû à des antibiotiques polaires et des peptaïbols actant (activant) en proximité de la production des hyphes (Lorito *et al.*, 2006).

Lorito *et al.*, (2006), démontrent que les peptaïbols inhibent l'activité de -glucane synthétase dans les champignons hôtes, alors ils agissent en synergie avec le -glucanase de *T.harzianum*. L'inhibition de glucane synthétase empêche la reconstruction des parois des cellules du pathogène, ceci facilite l'action disruptive des -glucane.

La synergie existante entre les enzymes et les antibiotiques polaires est strictement en relation avec leurs mécanismes d'action (Ghisalberti et Sivasithamparam, 1998). Bien que le rôle et les effets des peptaïbols soient clairs, le mode d'action des autres métabolites

secondaires et leurs synergies possibles avec d'autres composés n'est pas encore élucidé (Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991)

III.3.2. Interactions *Trichoderma*-Plantes

III.3.2.1. Stimulation de la croissance des plantes

Selon Harman *et al.*, (2004), les champignons bénéfiques tel que *Trichoderma spp* 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. 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).

III.3.2.2. Colonisation des racines des plantes

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).

L'interaction physique entre *Trichoderma* et la plante a été observée par le microscope électronique pour être limitée dans les premières couches des cellules de l'épiderme de la plante et le cortex extérieur des racines (Yedidia *et al.*, 1999). Les hyphes des

BCAs pénètrent dans le cortex racinaire mais la colonisation par *Trichoderma* est stoppée, probablement par la déposition des barrières de callose par l'encerclement des tissus de la plante (Yedidia *et al.*, 1999). Il apparaît que cette interaction développe une relation symbiotique plutôt qu'une relation parasitaire entre le champignon et la plante, par lequel le champignon occupe une niche nutritionnelle et la plante est protégée de la maladie.

III.3.2.3. Induction des mécanismes de défense

L'induction des réponses de défense des plantes par les champignons antagonistes a été très bien étudiée (Harman *et al.*, 2004 ; Yedidia *et al.*, 1999). Des plantes variées, des espèces mono et dicotylédones, ont montré une augmentation de leur résistance aux pathogènes lorsqu'elles sont prétraitées avec *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004) . La colonisation des plantes par *Trichoderma spp* réduit la maladie causée par un ou plusieurs différents pathogènes, au site d'inoculation (induced localized acquired resistance, LAR), aussi bien que lorsque le champignon est inoculé dans différents sites et temps (périodes) que celui du pathogène (induced systemic resistance ou ISR).

L'induction de la résistance des plantes par la colonisation de certaines espèces de *Trichoderma* est similaire à celle élicitée par les rhizobactéries, qui améliorent le système de défense mais elles n'impliquent la production des protéines PR (pathogenesis-related) (Lorito *et al.*, 2006; Woo et Lorito, 2007). Il a été rapporté que *Trichoderma* induit les gènes qui sont associés au stress biotique et abiotique, aussi bien que l'ADN, l'ARN et les protéines de métabolisme.

Durant l'interaction de *Trichoderma* avec la plante, différentes classes de métabolites peuvent agir comme des éliciteurs de l'induction de la résistance (Lotan et Fluhr, 1990). Ces molécules incluent: (i) protéines avec une activité enzymatique comme la xylanase (Woo et Lorito, 2007); (ii) produits des gènes d'avirulence (avirulence like gene) capables d'induire des réactions de défense de la plante (Harman *et al.*, 2004); (iii) des composés de faible poids moléculaire relâchés des parois des cellules des plantes ou des champignons par l'activité enzymatique de *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004; Lorito *et al.*, 2006; Woo et Lorito, 2007). Certains produits de faible poids moléculaires ont été purifiés et caractérisés et ils sont considérés comme des composés qui élicitent une réaction chez la plante lorsqu'ils sont appliqués au niveau des feuilles ou lorsqu'ils sont injectés dans les tissus

des feuilles ou des racines. Plus loin, ils stimulent également la capacité de biocontrôle de *Trichoderma* en activant l'expression des gènes cascades de mycoparasitisme. Une autre protéine (Sm1) élicitrice sécrétée par *T.virens* a été impliquée dans l'activation de mécanisme de défense et l'induction du système de résistance. En plus de leur effet antimicrobien inné, leur action peut aussi stimuler l'activité biologique des populations microbiennes antagonistes résidentes ou les souches de *Trichoderma* introduits, et promeuvent un effet d'ISR à la plante. D'autres métabolites secondaires (peptaiboles) peuvent agir comme éliciteurs des systèmes de défense des plantes contre les pathogènes. En fait, l'application de peptaiboles active une réponse de défense aux plantes de tabac (Lotan et Fluhr, 1990).

CHAPITRE IV

MATERIELS ET METHODES

IV.1. Matériel biologique

Nous avons utilisé dans notre expérimentation deux natures différentes des agents antagonistes, deux bactéries *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* et un champignon *Trichoderma harzianum*. Ces tests ayant comme objectif d'expérimenter les différentes voies d'action de ce deux types de microorganismes. Concernant les isolats pathogènes (Fol, Fo), il s'agit de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent de flétrissement vasculaire de la tomate (Tableau 4).

IV.1.1. Souches bactériennes de *Pseudomonas*

Au cours de notre travail expérimental, nous avons utilisé comme antagonistes deux souches de *Pseudomonas*; la souche *Pseudomonas Putida* qui a démontré un potentiel en lutte biologique élevé contre divers maladies, et la souche C7R12 qui est une souche bactérienne rhizosphérique dont l'effet bénéfique sur la santé des plantes a été associé à son pouvoir élevé de compétition pour le fer déterminé par la synthèse de la pyoverdine sidérophore, vis-à-vis de deux isolats fongiques de *Fusarium oxysporum*.

IV.1.2. Isolats cryptogamiques

Concernant les isolats cryptogamiques utilisés dans nos essais expérimentaux, nous avons:

- Un isolat antagoniste *Trichoderma harzianum* G4, isolé en Belgique ; il se caractérise par sa capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action (Caron, 2002).
- Un isolat pathogène de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, isolé en Belgique (collection de Gembloux), qui se caractérise par un pouvoir pathogène élevé en interaction avec plusieurs cultivars de tomate.

•Un isolat pathogène de *Fusarium oxysporum* (forme spéciale non déterminée) qui provient de la collection fongique de laboratoire de mycologie (département des biotechnologies Université de Blida1).

La pureté des isolats fongiques a été vérifiée par des cultures monosporiques obtenues sur le milieu eau agar et repiqué individuellement sur le milieu PDA « potato dextrose agar » (Jonsthor et Booth, 1982). A partir de cette culture ; des inoculums fongiques ont été préparés avec des cultures âgées de 7 à10 jours cultivés sur le milieu PDA à 25°C.

Tableau 4: Origine des microorganismes testés

Microorganismes	origine		observations
	Végétale	géographique	
C7R12	Rhizosphère du lin	Châteaurenard France	Envoi du Pr.Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon-France
G4	Tomate	Belgique	Collection microbiologique Gembloux (Belgique)
Fol	Tomate	Dijon (France)	Envoi du Pr.Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon-France
Fo	Tomate	Dijon (France)	Envoi du Pr.Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon-France

IV.1.3. Le sol

Le sol utilisé dans notre expérimentation a été prélevé au niveau de la station expérimentale de l'Université de Blida à partir d'une serre non cultivée au moins depuis cinq ans. Après tamisage, à l'aide d'un tamis de 0.5 Cm de diamètre et élimination des éléments grossiers, le sol a été stérilisé dans une étuve pendant 30 min à 120° C à deux reprises afin d'éliminer le maximum de la microflore tellurique indigène.

Le sol désinfecté est réparti dans des bacs en plastique de dimension 125 cm de long et de 15 cm de largeur.

Les caractéristiques physicochimiques de sol ont été étudiées durant l'année 2010 (El Houari, 2010) au niveau du laboratoire de pédologie du département des biotechnologies de l'Université de Blida. (Tableau 5 et 6).

Tableau 5: Résultats d'analyses physiques de sol (El Houari, 2010)

Horizon (Cm)	Granulométrie					MO(%) matière organique	CaCO ₃ (%) calcaire
	A(%) taux d'argile	LF (%) limons fins	LG(%) limons grossiers	SF(%) sable fin	SG(%) sable grossiers		
0-20	10.33	23.24	23.77	11.88	28.98	1.89	0

Tableau 6: Résultats d'analyses chimiques de sol (El Houari, 2010)

Horizon (cm)		0-20
P ₂ O ₅ anhydrique phosphorique Meq/100 g de sol		333
C(%) carbone		0.88
N(%) azote		0.13
C/N		6.67
S somme de base échangeable meq/100 g de sol		7.48
c.e.c capacité d'échange cationique meq/100 g de sol		14.15
V(%) taux de saturation		52
CE conductivité électrique mmhos/ cm à 25°C		0.56
pH	pH eau	8
	pH KCl	7.9

IV.2. Antagonisme *in vitro*

In vitro, ces tests ont été effectués pour la vérification des activités antagonistes des microorganismes antagonistes sélectionnés vis-à-vis de des agents phytopathogènes étudiés.

IV.2.1. Inhibition de la croissance mycélienne

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).

IV.2.1.1-Interaction bactéries antagonistes-champignons pathogènes

Cette interaction a été effectuée avec les deux souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* PP et C7R12, séparément, avec les deux isolats fongiques de *F.oxysporum* Fo et Fol, selon la méthode des spots décrite par Baker et Cook (1988). Cette méthode consiste à mettre en contact des disques de papiers Whatman de 0.5 cm de diamètre imprégnés d'eau distillée stérile avec une crème bactérienne de 24 h, puis à l'aide d'une pince stérile les disques sont transférés sur la surface du milieu gélosés, à la périphérie de la boîte de pétrie. Après, nous déposons au centre de la boîte, le disque mycélien de 0.5 cm de diamètre de l'isolat cryptogamique, cultivé préalablement sur le milieu gélosé (PDA).

Le taux d'inhibition est calculé après 7 à 10 jours d'incubation à 25° C, relativement à la croissance mycélienne maximale enregistrée chez les témoins qui sont représentés par des cultures cryptogamiques pures sans interaction avec les souches bactériennes. Afin de calculer le taux d'inhibition, il faut déterminer le rapport de croissance en comparaison avec la croissance mycélienne des témoins, et qui est calculé comme suit :

$$TC (\%) = (C_i / C_{\max}) \times 100$$

TC (%) : Taux de croissance ou rapport de croissance en pourcentage.

Ci: Croissance du champignon pathogène en présence de l'agent antagoniste.

C max: Croissance du champignon pathogène seul.

La croissance est exprimée par le diamètre des colonies fongiques, mesuré du centre jusqu'à l'extrémité. La valeur finale représente la moyenne de trois répétitions.

IV.2.1.2- Interaction champignon antagoniste-champignons pathogènes

En ce qui concerne cette interaction, le test d'antagonisme *in vitro* a été effectué selon deux techniques :

- La première qui est préliminaire consiste à déposer deux disques mycéliens différents, l'un de l'isolat pathogène Fol ou Fo, séparément, avec l'isolat antagoniste *Trichoderma* en opposition à la périphérie de la boîte de Pétri.
- La deuxième technique consiste à déposer deux disques mycéliens purs de l'isolat de *Trichoderma* à la périphérie, et un disque de l'agent pathogène (Fol ou Fo) au centre de la boîte.

Les témoins sont représentés par des boîtes de Pétri contenant uniquement le champignon pathogène. L'ensemble des boîtes 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 de diamètre de 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.

Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique utilisée est celle indiquée par Rapilly (1968) qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies du pathogène.

IV.2.2. Inhibition de l'élongation du tube germinatif

Le but de cet essai est de vérifier le pouvoir inhibiteur des deux souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescents* et de l'isolat de *Trichoderma* sur l'élongation du tube germinatif chez les deux isolats fongiques de *Fusarium oxysporum*.

IV.2.2.1- Préparation des suspensions conidiennes

Des disques mycéliens de 5 mm sont prélevés à partir des cultures sur milieu PDA, âgés de 7 à 8 jours, pour les deux isolats fongiques pathogènes étudiés l'isolat Fol et l'isolat Fo, et l'isolat antagoniste de *Trichoderma*. Ces disques sont déposés dans des Erlen Meyer d'un volume de 250 ml contenant 100 ml de milieu liquide potato-dextrose (Annexe1), L'incubation est effectuée à la température de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ en légère agitation continue pendant 15 à 20 jours à l'obscurité. Cette période est normalement suffisante pour la production des conidies chez les isolats de l'espèce de *Fusarium oxysporum* (Scher et Backer, 1982).

La vérification de la présence des conidies dans les suspensions est contrôlée par des observations microscopiques, les concentrations ont été estimées par le biais de la cellule de Mallassez jusqu'à obtention d'une concentration de 10^6 conidies / ml.

IV.2.2.2- Test d'inhibition

Les suspensions bactériennes ont été préparées avec des crèmes bactériennes de 24 h, après développement sur le milieu de culture KB. Et homogénéisation dans l'eau distillée stérile à l'aide d'un agitateur. Leur concentration est mesurée par le spectromètre ($\lambda = 600$ nm).

La confrontation des souches antagonistes avec les conidies des souches pathogènes est effectuée dans des tubes à essai contenant 8 ml du milieu liquide à savoir le KB, le PD, ou le milieu mixte (Annexe 1).

Nous avons déposé 3 ml de la suspension bactérienne, d'une concentration approximative de 10^6 CFU / ml 24 h avant l'introduction d'un volume identique de la suspension conidienne d'une concentration approximative de 10^6 conidies / ml.

Les témoins sont préparés dans les mêmes conditions avec l'introduction des conidies sans interaction avec les souches bactériennes. L'incubation a été réalisée selon les intervalles nécessaires à la lecture à savoir T0, T1, T2.

T0 → 0h → 9h.

T1 → 6h → 14h.

T2 → 24h → 9h.

Après étalonnage du microscope (G : 40 x 10 x 0.05), à l'aide de micromètre objet et du micromètre oculaire, nous avons effectué des mensurations de la longueur des tubes germinatifs sur les conidies germées. Dans chaque interaction souche bactérienne x suspension conidienne et pour chaque milieu de culture, nous avons effectué trois répétitions représentées par trois tubes à essai.

Les taux d'inhibition de l'élongation des tubes germinatifs, après leur émission sont calculés relativement aux témoins correspondants à chaque interaction souches bactérienne x les deux isolats de *Fusarium oxysporum*.

Nous avons procédé de la même manière pour le test d'inhibition de l'élongation du tube germinatif par la souche cryptogamique antagoniste de *Trichoderma*.

IV.3. Antagonisme dans le sol

Le test d'antagonisme dans le sol est effectué avec les mêmes souches bactériennes, PP et C7R12, de *Pseudomonas fluorescens* et l'isolat fongique antagoniste de *Trichoderma* vis à vis de deux isolats pathogènes de *Fusarium oxysporum*.

IV.3.1- Bactérisation et inoculation du sol

Nous avons préparé 12 bacs contenant 4000 g de sol stérile chacun, nous les avons divisé en deux avec des planches en carton imperméable. Pour la bactérisation et l'inoculation de ce sol, nous avons préparé les mêmes suspensions bactériennes et fongiques citées précédemment dans l'antagonisme *In vitro*.

Les suspensions antagonistes ont été mises dans le sol 24 h avant l'introduction des suspensions pathogènes de Fo et Fol.

Les témoins sont préparés dans les mêmes conditions mais l'inoculation du sol est faite seulement avec les suspensions pathogènes.

Ce test est effectué en trois répétitions pour chaque interaction antagoniste-pathogène et pour chaque témoin.

IV.3.2- Comptage des spores

Nous avons pris 10 g de sol de chaque interaction et de chaque témoin et nous les avons dilués dans 90 ml d'eau stérile. Après, 1 ml de cette première dilution est mis dans 9ml d'eau stérile et cela pour effectuer une deuxième dilution, c'est-à-dire. une dilution de 10^{-2} , et ainsi de suite jusqu'à obtention d'une dilution de 10^{-4} .

Le comptage est effectué dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA additionné de Streptomycine et Sulfate (0.01 %), nous avons pris 0.1 ml des dilutions de 10^{-4} réalisées précédemment à l'aide d'une micropipette et nous l'avons étalé sur toute la boîte.

Nous avons mis ces boîtes en incubation à une température de 25°C pendant 5 à 6 jours. Ce test est effectué en trois répétitions pour chaque confrontation et pour chaque témoin.

La densité du pathogène est calculée suivant la formule suivante (Dutruc-Rosset, 2003) :

$$\text{Densité du pathogène} = \frac{\text{Nombre de colonies (trouvées sur la boîte)}}{\text{Volume x Dilution}}$$

CHAPITRE V

RESULTATS ET DISCUSSION

V.1. Activités antagonistes directes

V.1.1. Inhibition de la croissance mycélienne

Les résultats des tests *in vitro* concernant les activités antagonistes des souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (C7R12, PP) et l'agent fongique *Trichoderma harzianum* (G4), montrent des activités antagonistes appréciables vis-à-vis de la souche fongique phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp *lycoparsici* (Fol) (G2) ainsi vis-à-vis de la souche *Fusarium oxysporum* (Fo) (G7).

L'estimation des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène Fol, a montré des intensités inhibitrices qui varient non seulement selon les agents antagonistes testés mais aussi selon le milieu de culture où elles sont cultivées (Tableau 7). Dans tous les essais, il a été constaté que la croissance mycélienne du pathogène est nettement inférieure par rapport aux témoins (absence des antagonistes) respectifs sur les trois milieux de culture (Figure 7) (Tableau 7).

L'analyse des taux d'inhibition de la croissance mycélienne a révélé une différence significative avec les agents antagonistes ainsi qu'avec les milieux de culture solides.

Les meilleures performances de la souche bactérienne C7R12 par rapport à PP ont été enregistrées sur le milieu mixte, en provoquant un taux d'inhibition appréciable dépassant 37,64% vis-à-vis Fol sur milieu mixte et 37,64% vis-à-vis Fo sur milieu PDA alors que PP le taux d'inhibition était de 26,81% vis-à-vis Fo sur milieu PDA et le milieu KB et 30% vis-à-vis Fol sur milieu KB. Quant à l'isolat fongique *Trichoderma harzianum*, les taux les plus appréciables ont été observés sur le milieu mixte (45,62%) après quatre jours seulement d'incubation, dont la boîte a été complètement envahie par la souche *Trichoderma harzianum*, alors que les souches fongiques pathogènes Fol et Fo n'occupent qu'un diamètre réduit ne dépassant pas les 25 à 30 mm ce qui correspond à une inhibition de croissance mycélienne supérieure à 40% (Annexe 2, Figure 8-B). Au-delà de cette période et après six jours, *T.*

harzianum envahit les colonies de *Fusarium oxysporum* Fol et Fo et sporule même sur celle-ci, révélant ainsi son pouvoir hautement mycoparasitaire.

Le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré sur le milieu mixte 45,62 %, suivi par un taux de 44,43 % sur le milieu KB et 39,4 % sur le milieu PDA vis-à-vis de Fol. A l'encontre de Fo les taux d'inhibition sont de 45,62 % sur le milieu mixte, et de 44,02 % sur KB et 40,66 % sur PDA (Annexe 3, Figure 7, Tableau 7,). Alors, nous remarquons que le Fol et le Fo sont plus sensibles sur le milieu mixte que sur le milieu PDA, ce qui correspond à un taux de réduction de croissance plus important que celui sur PDA. Alors que le milieu KB semble plus favorable au développement des isolats fongiques pathogènes avec une croissance assez rapide que celle de *Trichoderma*, correspondant ainsi à des taux d'inhibition moins importants.

Après la comparaison des actions inhibitrices des agents antagonistes utilisés nous remarquons que cet isolat antagoniste présente une activité antagoniste inhibitrice très forte en inhibant la croissance mycélienne de Fol et Fo dans les trois milieux de culture (KB, PDA et PDA+KB), et en provoquant des taux d'inhibition supérieur à ceux enregistrés par les deux souches bactériennes (Tableau 7, Annexe 3, Figure 7 et 8)).

En comparant les activités antagonistes des deux souches bactériennes, C7R12 a montré plus d'efficacité que PP.

Il a été également constaté, que les taux d'inhibitions les plus élevés ont été enregistrés avec l'isolat *T. harzianum* par rapport à ceux provoqués par les souches bactériennes C7R12 et PP.

Tableau 7: Taux de réduction de la croissance mycélienne en (%) de *Fusarium oxysporum* et *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* par les souches antagonistes (méthode de spots et confrontation directe).

milieu de culture	Pathogènes	<i>T.harzianum</i>	<i>P.putida</i>	C7R12
KB	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i>	44,43	30,00	32,22
	<i>Fusarium oxysporum</i>	44,02	26,81	28,06
PDA	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i>	39,40	1,11	37,09
	<i>Fusarium oxysporum</i>	40,66	26,81	37,64
PDA+KB	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i>	45,62	19,03	37,64
	<i>Fusarium oxysporum</i>	45,62	0,00	11,13

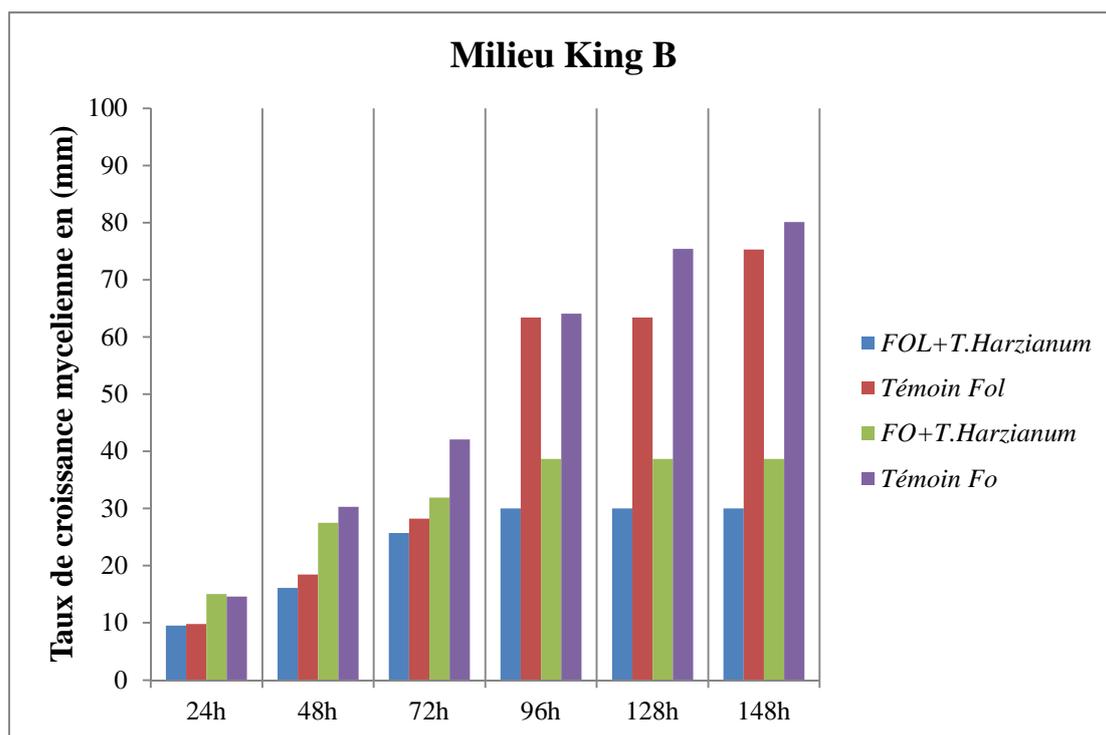


Figure 7.A : Effets inhibiteurs de *Trichoderma harzianum* de la croissance mycélienne en (mm) des souches de *Fusarium oxysporum* dans le milieu KB.

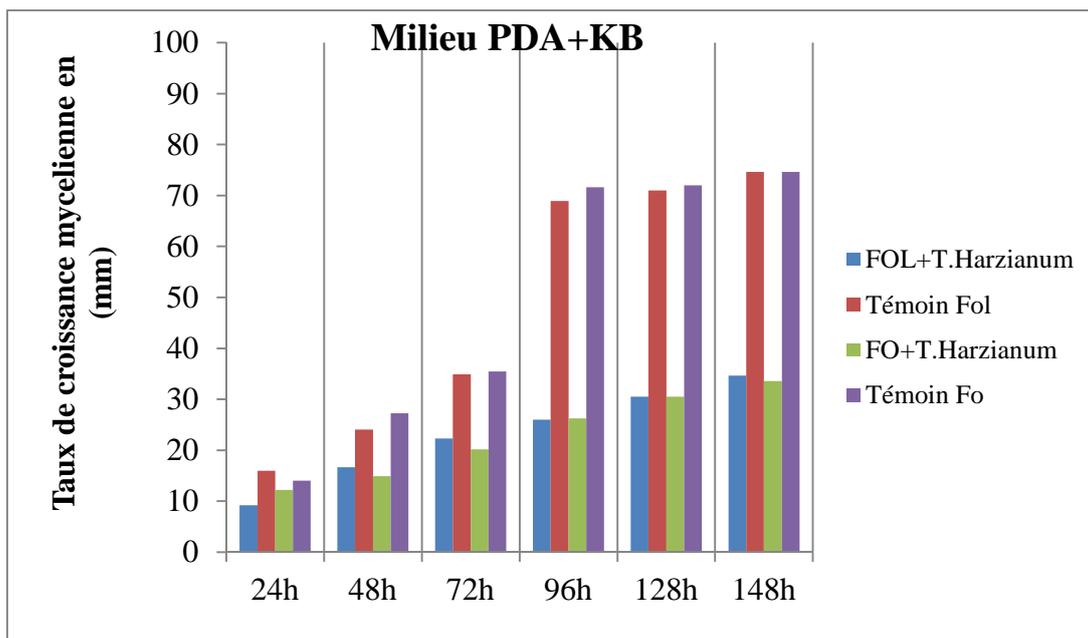


Figure 7.B : Effets inhibiteurs de *Trichoderma harzianum* de la croissance mycélienne en (mm) des souches de *Fusarium oxysporum* dans le milieu PDA+KB.

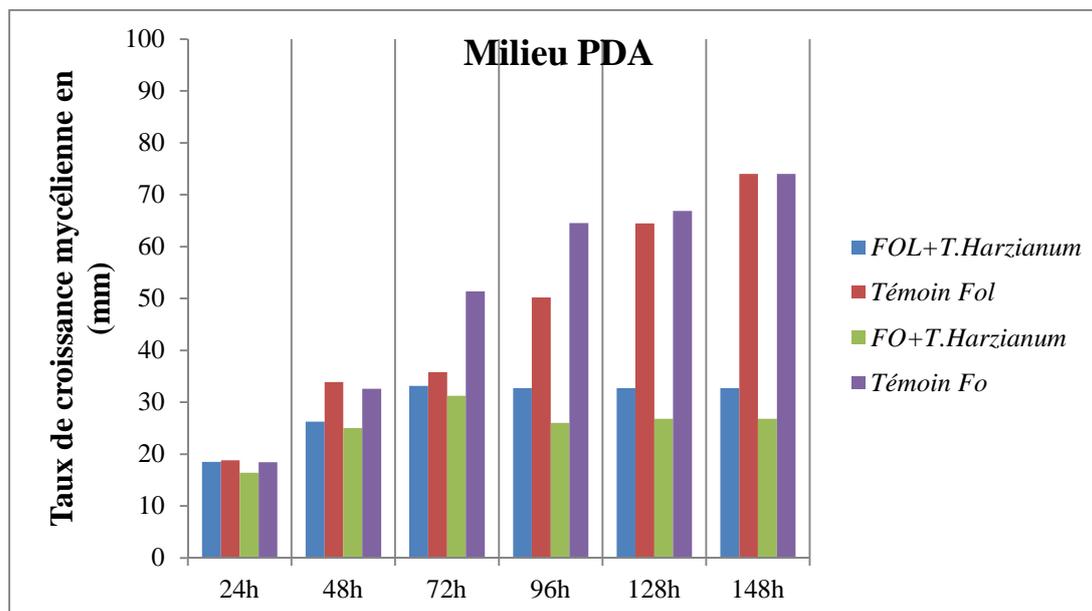


Figure 7.C : Effets inhibiteurs de *Trichoderma harzianum* de la croissance mycélienne en (mm) des souches de *Fusarium oxysporum* dans le milieu PDA.

Figure 7 : Effets inhibiteurs de *Trichoderma harzianum* de la croissance mycélienne en (mm) des souches de *Fusarium oxysporum* dans les trois milieux utilisés.



Fol sur PDA+KB

Fol sur PDA

Fol sur KB



Fo sur PDA+KB

Fo sur PDA

Fo sur KB

A : Isolats fongiques témoins



Fol+C7R12 sur KB

Fol+PP sur KB

Fol+T.h sur PDA+KB



Fo+PP (PDA+KB)

Fo+C7R12 (KB)

Fo+T.h (PDA)

B : Interaction antagoniste pathogène

Figure 8 : Exemples des activités antagonistes sur les milieux de culture solides.

V.1.2. Inhibition de l'élongation du tube germinatif

Le comportement noté sur les milieux de culture liquides, des interactions C7R12+Fol, G4+Fol, PP+Fol et C7R12+Fo, G4+Fo et PP+Fo, a montré une hétérogénéité de l'élongation de tube germinatif des agents pathogènes Fol et Fo. Des taux d'inhibition variables ont été enregistrés, selon l'agent antagoniste appliqué et le milieu de culture. Les taux d'élongation les plus élevés ont été enregistrés chez les témoins sur le Milieu PDA pour les deux isolats fongiques phytopathogènes, avec une longueur de 1,55mm pour l'isolat Fo et 1,07 mm pour l'isolat Fol après 24H d'incubation (Annexe 2, Tableau 2).

Dans le cas de l'isolat Fo, la longueur du tube germinatif en interactions antagoniste / pathogène, est nettement inférieur à la longueur des tubes germinatifs chez les témoins, quelque soit le milieu de culture. La longueur la plus élevée a été notée en interaction avec la souche PP donnant une longueur de 0,84 mm sur le milieu PDA et 0,83 mm sur milieu KB, après 24 h d'incubation. La souche *T.harzianum* a induit les valeurs les plus faibles, sur les trois milieux de culture utilisés variant de 0,59 mm à 0,67 mm. La souche C7R12 a donné des longueurs qui varient entre 0,66 mm et 0,72 mm (Annexe 2, Tableau 2, Annexe 3, (Figure1, 3, 5)) (Figure 9-B).

Dans le cas de l'isolat Fol, les longueurs des tubes germinatifs enregistrées chez les témoins, sont nettement supérieures, à celles obtenues en présence des antagonistes. La longueur de tube germinatif la plus élevée est de 0,64 mm, enregistrée avec la souche T.h sur le milieu PDA après 24h d'incubation. Il faut noter que l'élongation du tube germinatif chez les souches bactériennes C7R12 et PP est moins importante, elle varie de 0,38 mm à 0,59 mm selon les milieux de culture, (Annexe 2, Tableau 3, Annexe 3, (Figures2, 4, 6)) (Figure 9-B). Nous avons remarqué que l'élongation du tube germinatif est variable suivant les isolats cryptogamiques, la souche antagoniste considérée et les milieux de culture utilisés (Figure 9, Annexe 2).

Après 24h d'inhibition, en comparant l'effet d'inhibition de l'élongation de tube germinatif, il ressort que toutes les souches antagonistes présentent une apparence hétérogène dans leur activité. Nous avons remarqué que la souche T.h a montré les taux d'inhibition les plus importants sur les milieux PDA et KB, vis-à-vis de l'isolat Fo, avec respectivement des taux d'inhibition de 61,94 % et de 59,34 % (Figure 11, Tableau 8).

Les taux d'inhibition varient de 5,34 % à 56 % pour les souches bactériennes antagonistes C7R12 et PP, sur les trois milieux de culture. (Figure 11, Tableau8).

A l'encontre de l'isolat FoI, la souche antagoniste qui a plus d'antagonisme est la souche C7R12 avec des valeurs variant de 56,33 % à 78,87 % respectivement sur les milieux KB et PDA. La souche bactérienne PP a aussi montré un taux d'inhibition élevé sur le milieu KB qui est de 71,27 % après 24h d'incubation. (Figure 9-B et 10, Tableau 9).

La souche *T.harzianum* a montré des taux variables suivant le milieu de culture utilisé variant de 19,36 % à 40,19 % (Figure 9-B, Tableau 9).



FoI sur PDA à 0h



FoI sur PDA+KB à 0h



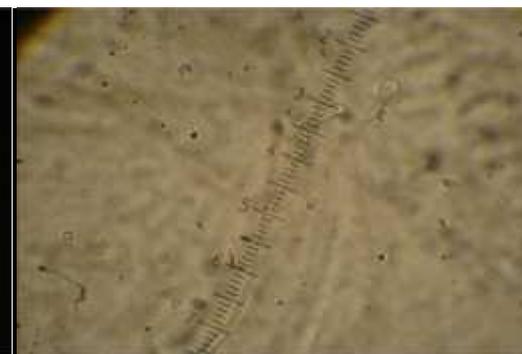
FoI sur KB après 6h



FoI sur PDA+KB après 6h



FoI sur PDA+KB après 24h

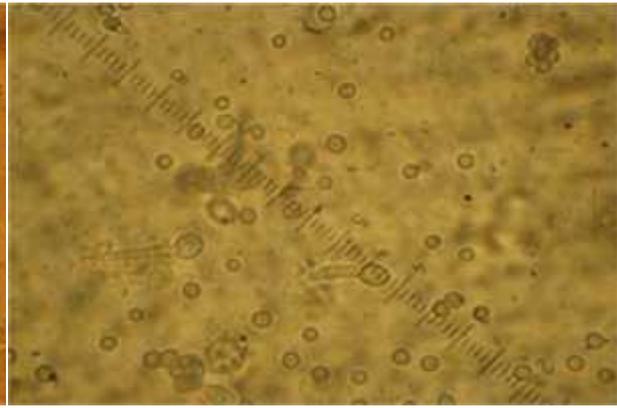


FoI sur KB après 24h

A : Isolats fongiques témoins



Fol+PP sur PDA+KB à 0h



Fo+T.h sur KB à 0h



Fo+T.h sur KB après 6h



Fol+C7R12 sur KB après 24h



Fol+PP sur PDA+KB après 24h



Fol+T.h sur PDA après 24h

B : Interaction antagoniste pathogène

Figure 9 : Exemples des activités antagonistes sur les milieux de culture liquide vues au microscope optique Gx400.

Tableau 8 : Taux d'inhibition du tube germinatif de l'isolat Fo par rapport au témoin

	PDA			KB			Mixte		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2
PP	52,12	41,24	45,81	0	59,73	44,67	18,43	3,93	24
C7R12	56,34	38,15	53,55	0	61,12	56	0	0	5,34
T.H	33,81	48,46	61,94	0	62,5	59,34	2,64	5,89	10,67

T0 :00h00 T1 :06h00 T2 :24h00

Tableau 9 : Taux d'inhibition du tube germinatif de l'isolat Fol par rapport au témoin

	PDA			KB			Mixte		
	T0	T1	T2	T0	T1	T2	T0	T1	T2
PP	0	48,19	48,6	4	30,51	71,27	10,53	0	17,75
C7R12	2,64	51,81	78,87	0	35,6	56,33	2,64	8,89	4,84
T.H	2,64	12,6	40,19	8	66,11	35,63	3,69	13,34	19,36

T0 :00H00 T1 :06H00 T2 :24H00

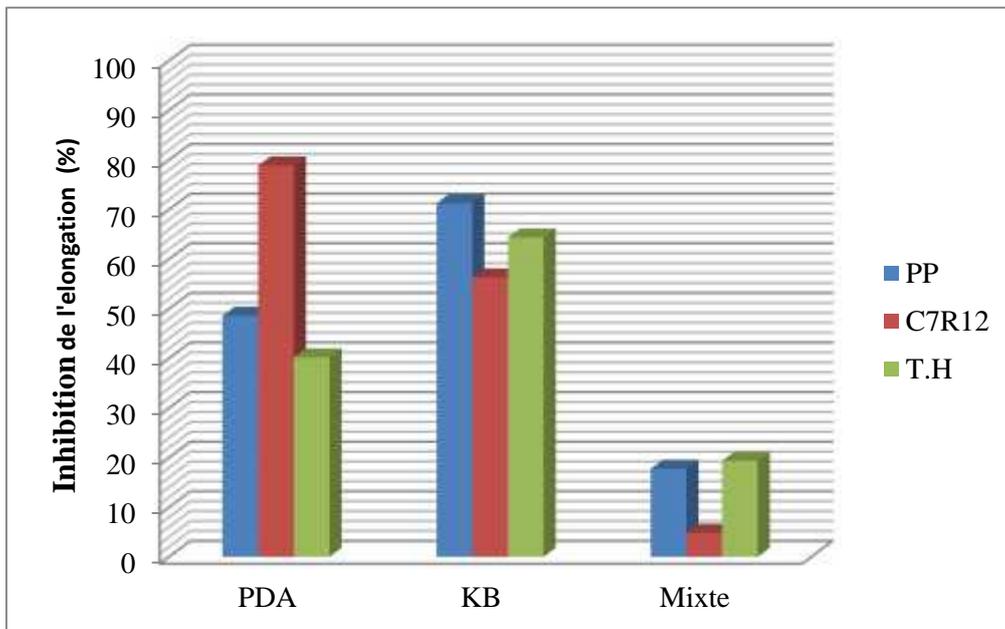


Figure 10 : Taux d'inhibition de l'élongation du tube germinatif de l'isolat Fol.

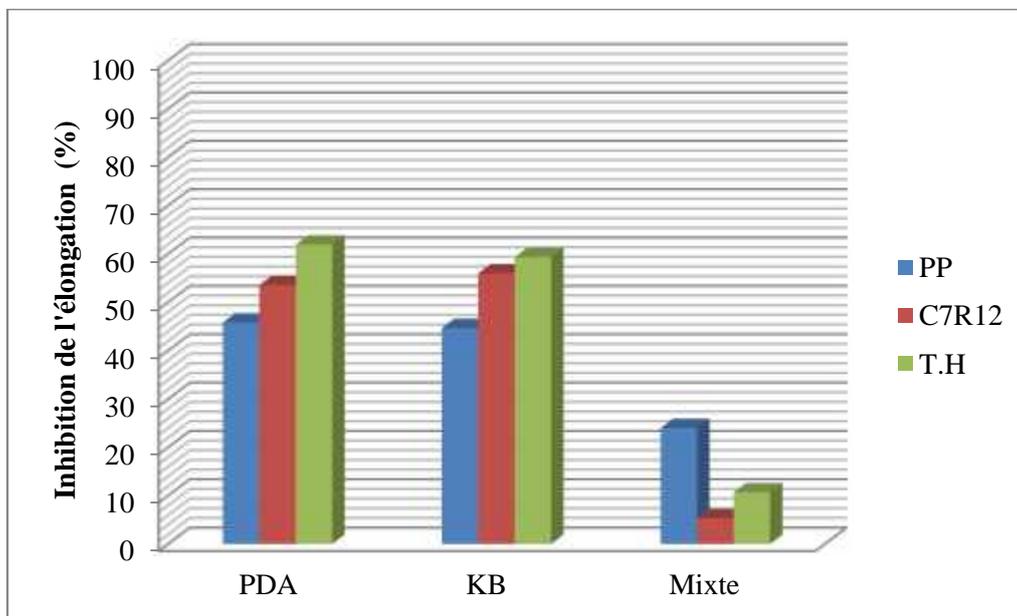


Figure 11 : Taux d'inhibition de l'élongation du tube germinatif de l'isolat Fo.

V.2. Antagonisme dans le sol

Les essais relatifs aux interactions antagoniste/pathogène dans le sol ont été exprimé des activités évaluées par rapport à la densité des agents biologiques appliqués. En effet les densités des deux pathogènes (Fo, Fol), sans la présence des antagonistes est de 10^6 conidie /g de sol, mais qui ont été réduit à 10^5 avec la présence des antagonistes (Tableau 10, Figure 12).

Tableau 10 : Densité de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* et de *Fusarium oxysporum* par gramme de sol après une semaine.

Traitements	Moyenne \pm ecartype
<i>Fusarium oxysporum</i> (Témoin)	2,40E+06 ^a \pm 1,97E+06 ^b
<i>Fusarium oxysporum</i> + <i>Trichoderma harzianum</i>	1,00E+05 \pm 1,00E+05
<i>Fusarium oxysporum</i> + <i>Pseudomonas fluorescents</i> (C7R12)	4,33E+05 \pm 1,53E+05
<i>Fusarium oxysporum</i> + <i>Pseudomonas putida</i> (PP)	5,33E+05 \pm 5,77E+04
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> (Témoin)	1,60E+06 \pm 2,08E+06
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> + <i>Trichoderma harzianum</i> (T.h)	2,67E+05 \pm 1,53E+05
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> + <i>Pseudomonas fluorescents</i> (C7R12)	3,33E+05 \pm 1,53E+05
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>lycopersici</i> + <i>Pseudomonas putida</i> (PP)	3,33E+05 \pm 5,77E+04

a: moyenne issue de trois répétitions, **b**: ecartype

Dans le but de confirmation des populations obtenues qu'elles appartiennent au *Fusarium*, les prélèvements ont été observés au microscope. Les formes remarquées portent les caractéristiques de *Fusarium oxysporum* qui a l'aspect mycelien et les fructifications conidiennes.

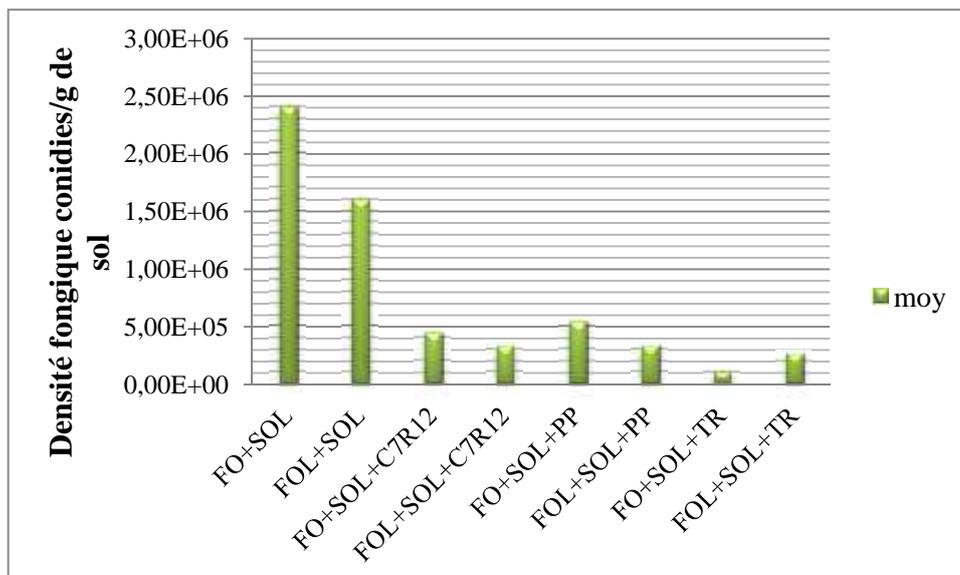


Figure 12 : Densités de Fo et Fol après une semaine

Fo: *Fusarium oxysporum*,

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



Figure 13: Nombre de colonies issues du sol.

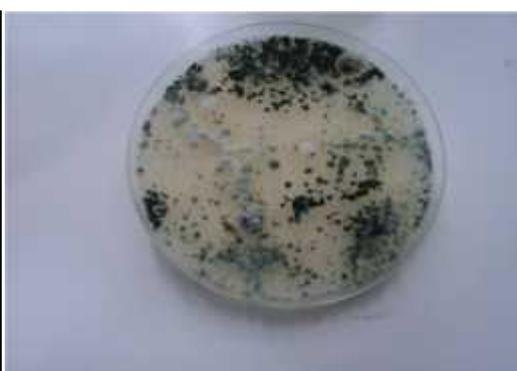


Figure 14: Inhibition de *Fusarium* par *Trichoderma*.

Selon les résultats (Tableau 10), nous constatons que la densité fusarienne varie selon l'agent antagoniste. Elle est moins importante dans les prélèvements Fo et Fol issus d'un sol traité avec *Trichoderma*. Les résultats obtenus montrent que la population fusarienne issue des sols bactérisés avec les souches C7R12 et PP est presque similaire (Tableau 10).

Pour le dénombrement des colonies fusariennes des sols traités par *Trichoderma*, il est important de noter qu'il y avait certaines difficultés afin d'effectuer un dénombrement précis (Figure 14).



Fo (Témoin)

Fo+C7R12

Fo+PP

Fo+T.h



Fol (Témoin)

Fol+C7R12

Fol+PP

Fol+T.h

Figure 15 : Antagonisme dans le sol.

Legende des microorganismes: Fo: *Fusarium oxysporum*,

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

C7R12: *Pseudomonas fluorescents*

PP : *Pseudomonas putida*

V.3. INTERPRETATION DES RESULTATS

Il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes à l'aide des produits biologiques.

Même si les performances évaluées *in vitro* souvent ne sont pas corrélées aux activités biologiques naturelles, néanmoins ce genre de test reste comme un outil indicateur dans la sélection et le criblage des souches performantes.

Selon nos résultats, nous remarquons qu'il y'a une variabilité de l'activité d'un milieu à l'autre, et d'une souche antagoniste à l'autre. L'antagonisme entre les trois souches antagonistes et les deux isolats pathogènes a révélé que la souche *Trichoderma harzianum* a exercée de fortes potentialités inhibitrices sur les trois milieux que celle des deux souches bactériennes.

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, sur les trois milieux utilisés, vis-à-vis les isolats cryptogamiques Fol et Fo.

Le principal mécanisme mis en cause dans l'effet antagoniste des souches de *Pseudomonas spp fluorescentes in vitro* pourrait être liée à la synthèse des sidérophores qui chélatent les ions de fer trivalent, suite à la production de pigments fluorescents (Pierson *et al.*, 1998). Le fer est un facteur limitant pour le développement des microorganismes et leurs activités biologiques (Loper et Buyer, 1991), il a un rôle important dans la régulation de plusieurs métabolites extracellulaires produits par les *Pseudomonas spp fluorescentes*, notamment les siderophores et les antibiotiques (Digat, 1994), autres métabolites fongistatiques et des composés volatils (HCN) (Lemanceau *et al.*, 2006).

Des constatations similaires ont été révélées par plusieurs travaux avec des essais en milieux non carencés en fer (Digat, 1983 ; Geels et Schippers, 1983). Des études ont porté sur le mode d'action des *Pseudomonas fluorescents* mais aussi sur leur capacité à se développer et se maintenir dans les sols et la rhizosphère. Ainsi, grâce à l'obtention de mutants de *P. fluorescents* C7R12 affectés dans la synthèse de pyoverdine et de nitrate réductase, respectivement par mutagenèse aléatoire et dirigée, le rôle de ces deux composés dans la compétence saprophyte de cet agent de lutte biologique dans le sol et la rhizosphère a été démontré (Mirleau, 2000), de même que le rôle de la pyoverdine dans l'antagonisme microbien et la protection de la tomate contre la fusariose vasculaire.

Howell et Stipanovic (1979) ont caractérisé deux antibiotiques pyolutéorine et pyrrolonetrine synthétisés par la souche PF5 de *Pseudomonas fluorescents*. Ces antibiotiques ont respectivement, inhibé la croissance *in vitro* de *Pythium ultimum* et de *Rhizoctonia solani*.

Thomashow et Weller (1988), ont caractérisé l'acide phénazine 1-carboxylique synthétisé par la souche 2-79 de *Pseudomonas fluorescents* ; cette substance est en partie active contre *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*. Cet antibiotique également produit par d'autres souches de *Pseudomonas* (Kanner *et al.*, 1978 ; Flaishman *et al.*, 1990) est efficace contre plusieurs champignons (Brisban *et al.*, 1989). De même Keel *et al* (1990,1991) ont démontré que le 2-4 diacétyl – phloroglucinol synthétisé par la souche de *Pseudomonas* CHAO est en partie responsable de la protection du blé contre *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* et du tabac contre *Thielaviopsis basicola*. Ce composé est extrêmement efficace *in vitro* contre *G.graminis* (Keel *et al.*, 1991).

Digat (1994), qui a signalé que l'activité antagoniste dépend non seulement des souches et des espèces testées, mais aussi de la compétition selon la nature et la composition des milieux de culture.

Les autres métabolites, qui peuvent intervenir dans l'antagonisme microbien, peuvent être la compétition pour les nutriments (Weller *et al.*, 1988) et pour l'espace (Lemanceau, 1992), ainsi que l'augmentation de la concentration de glucose dans le milieu de culture peut induire une réduction des taux d'inhibition de certains champignons.

L'utilisation de mutants permet d'assurer de façon directe l'implication de tel ou de tel métabolite dans le processus de biocontrôle. Globalement le phénomène d'antibiose peut se manifester soit par une inhibition de la germination des spores des champignons (mycostase), soit par une lyse mycélienne (mycolyse) (Curl et Truelove, 1986). L'antibiose exercée par certains *Pseudomonas spp fluorescentes* a d'abord été mise en évidence *in vitro* et plusieurs études ont montré que le 2.4-déacetylphloroglucinol a des propriétés antifongiques (Keel *et al.*, 1992).

Des études ont porté sur le mode d'action des *Pseudomonas fluorescentes* mais aussi sur leur capacité à se développer et se maintenir dans les sols et la rhizosphère. Les chlamydospores se forment en présence de bactéries antagonistes dans le sol, cette formation a lieu comme réponse à des conditions défavorables, à l'exemple du manque d'éléments nutritifs, notamment le manque de carbone (Meyer et Cook, 1972). Cependant, l'introduction de pyoverdines dans le sol provoque une diminution du taux de germination de chlamydospores de *Fusarium spp* (Elad et Baker, 1995).

Lemanceau, (1989), souligne le double rôle de la compétition pour le fer et pour le carbone dans le control biologique des fusarioses telluriques. Dans un milieu comme le sol où cet élément est présent en très faibles quantités peut nuire à la croissance saprophyte de plusieurs agents pathogènes et ainsi réduire la sévérité des maladies. On note également pour certaines souches une capacité à induire les mécanismes de défense chez la plante (Viollet, 2010).

Certains souches de PGPRs ont la capacité de synthétiser des métabolites qui jouent un rôle important dans l'activation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leur facteur de pathogénicité comme les toxines. Ainsi, la capacité de certains

bactéries à parasiter et à dégrader les spores des pathogènes à travers la production d'enzymes détruisant la barrière cellulaire a été démontré (Whips, 2001).

La souche antagoniste bactérienne C7R12 produit une liste d'autres siderophores en plus des pyoverdines et elle peut incorporer cinq hétérologues pyoverdines (Mirleau *et al.*, 2000). Il a été aussi montré que les siderophores de C7R12 pouvaient être utilisés par la plante pour sa nutrition en fer (Vanswyt *et al.*, 2007). L'utilisation de C7R12 contre la fusariose vasculaire a été déjà décrite pour plusieurs espèces de plantes et cela est déjà décrit par (Alabouvette *et al.*, 1998).

Au cours de notre expérimentation, nous avons remarqué que l'inhibition de la germination conidienne présente une grande variabilité selon les souches antagonistes à l'égard de chaque isolat fongique et le type de milieu de culture utilisé.

Les souches antagonistes utilisées dans notre travail, ont un effet inhibiteur sur la germination des conidies et plus particulièrement la souche de *Trichoderma harzianum*, car nous avons remarqué que les conidies de la souche antagoniste sont plus nombreux que celles des pathogènes sur les trois milieux solides et liquides.

Selon les observations et les résultats obtenus, nous pouvons attribuer que l'inhibition est dû surtout à la synthèse de métabolites toxiques, sans que la compétition pour les nutriments tels que le fer ou le carbone soit éliminé, vue que le milieu KB présente une composition très limitée.

Pour le test d'inhibition de l'élongation du tube germinatif des conidies, des microconidies et des macroconidies de *Fusarium oxysporum* présentent des vitesses de germination et de croissance différentes. D'après nos observations nous avons remarqué que les conidies de l'isolat Fo germent plus rapidement que les conidies de l'isolat Fol dans les trois milieux de culture, à titre d'exemple présentent respectivement des valeurs de 1,55 mm et 1,07 mm à T2 sur le milieu PDA (Annexe 2, Tableau 2 et 3).

La vitesse de croissance est en fonction du nombre de cellules qui composent les spores. Les microconidies unicellulaires germent et croissent lentement; au bout de 6 heures, les tubes germent et atteignent à peine 0,2 mm. Les microconidies bicellulaires germent plus rapidement après 3 heures, leurs tubes dépassent 0,2 mm. La germination des macroconidies est pendant les premières heures, identiques à celle des microconidies bicellulaires, mais, ensuite, l'allongement des hyphes est bien plus rapide (Bounaga, 1975).

Dans les conditions de carence en fer, la germination et/ou l'élongation des tubes germinatifs des chlamydospores de *F. oxysporum* est très faible en présence de certaines souches de *Pseudomonas* et de leurs pseudobactines purifiées ou de l'EDDHA (éthylène, diamine o-hydroxyphényl, acide acétique). L'ion Fe^{3+} est donc un facteur limitant pour le développement de *Fusarium oxysporum* et des *Pseudomonas* spp *fluorescents* ; ces dernières sont les plus compétitives (Couteandier, 1992 ; Diener et Ausubel, 2005 ; Powell *et al.*, 2000).

L'envahissement du mycélium du pathogène par *T. harzianum* 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 *T. harzianum* 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 *T. harzianum* ne commence à exercer son activité antagoniste qu'à partir du 4ème jour d'incubation.

D'après Comporata (1985), cette interprétation favorise l'action des enzymes (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 mycoparastaire *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 (Carosolio *et al.*, 1999; Chérif et Benhamou, 1990; Haran *et al.*, 1996; Inbar et Chet,

1995; Lorito *et al.*, 1998). Une corrélation directe est signalée entre l'activité chitinolytique *in vitro* et la capacité de biocontrôle de certains isolats de *T. harzianum* (Elad *et al.*, 1982). Lorito (1998) ont observé qu'une souche de *Trichoderma harzianum* efficace dans la lutte biologique agissait en premier lieu par la production d'antibiotiques pour tuer l'hôte et beaucoup plus tard produit des enzymes chitinolytiques pour la colonisation saprophytique des tissus de la plante hôte déjà morte. Pour l'antagonisme entre les deux isolats fongiques on a remarqué une présence d'un pigment jaune à 30°C sur le milieu KB. Selon Samuels *et al* (2002), plusieurs isolats de *Trichoderma harzianum* ont tendance à produire un pigment jaune en milieu de culture (28 sur 35 isolats étudiés par les auteurs).

Les *Trichoderma* sont connus de longue date pour leurs activités antagonistes à l'égard de nombreux champignons, *Botrytis cinerea* (Dubordieu, 1983) ; *Armillaria obscura* et *Armillaria mellea* (Lanusse *et al.*, 1983) ; *Rosellina nectarix* et *Phomopsis viticola* (Besselat, 1985) ; *Phytophthora citrophthora* et *Phytophthora parasitica* (Chet, 1984).

Trichoderma harzianum est efficace contre tous les agents pathogènes testés *in vitro*. Il lutte par contre plus difficilement contre *P. ultimum* et *P. nicotiana* var. *parasitica*. *Trichoderma harzianum* croît également très rapidement sur un milieu de culture, ce qui devrait l'avantager lors des confrontations *in situ* et pour la colonisation rapide des niches écologiques (Caron *et al.*, 2003).

Davet *et al* (1983) ont montré que lors de l'inoculation du sol par *Trichoderma*, il est nécessaire d'introduire l'inoculum avec un support qui lui fourni une base nutritive suffisante pour échapper, au moins temporairement, à la compétition des autres microorganismes telluriques. Ainsi, la tourbe, adhérant aux racines des plantules, est utilisée comme support physique afin de permettre à l'inoculum de *Trichoderma* de se multiplier au cours des premiers jours loin de l'influence des populations microbiologiques du sol.

Conclusion

Les pays du bassin méditerranéen en particulier les pays du Maghreb, où la culture de la tomate occupe une place économique importante, sont confrontés à une recrudescence des fusarioses de la tomate causées par l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Ce fléau est causé par les changements climatiques à savoir : une température en hausse durant toute l'année et un taux d'humidité croissant permettant le développement des champignons.

La première partie de notre travail expérimental, relative à la mise en évidence de confrontations directes entre les pathogènes (Fo et Fol) et les souches antagonistes (T.h, C7R12 et PP), sur les différents milieux de culture (PDA, KB et PDA+KB) ont révélé une inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes testés. Quand il y a contact direct entre les deux champignons, *Trichoderma harzianum* envahit les colonies de *Fusarium oxysporum* et y sporule, même au bout de six jours d'incubation présentant des taux d'inhibition en moyenne supérieure à 40 % sur les trois milieux utilisés vis-à-vis les deux pathogènes, alors que les bactéries montrent une inhibition variable, qui atteint 37 % pour C7R12 et 30 % pour PP vis-à-vis des deux isolats fongiques.

Dans la deuxième partie de notre travail en ce qui concerne les expériences sur les milieux liquides entre les deux pathogènes testés et l'agent antagoniste fongique *Trichoderma harzianum* ont montré que ce dernier avait un effet antagoniste notable sur la germination et l'élongation du tube germinatif des pathogènes exprimant des taux d'inhibition qui atteignent 61,94 % vis-à-vis de Fo et 40 % vis-à-vis Fol sur PDA. De leur part, les bactéries antagonistes (C7R12, PP) ont réduit l'élongation du tube germinatif jusqu'à 78,87 % avec C7R12 sur PDA et 71,27 % avec PP sur KB vis-à-vis de Fol, leur action inhibitrice vis-à-vis de Fo a été marquée par un taux supérieur à 53 % sur PDA et KB, notant que les taux enregistrés en milieu mixte sont inférieurs par rapport à ceux qui sont enregistrés au par avant.

Pour la troisième partie, L'introduction des microorganismes antagonistes dans le sol utilisé a empêché l'expression du développement des pathogènes par rapport au témoin et par conséquent ont fortement réduit leurs colonies jusqu'à 10^5 spores / g de sol, alors que chez les témoins les densités dépassent 10^6 spores / g de sol.

Nos essais expérimentaux confirment davantage les actions antagonistes de *Trichoderma harzianum* et des souches de *Pseudomonas fluorescents* vis-à-vis des agents fusariens. Leurs modes d'action diffèrent selon l'origine de l'antagoniste, dans notre expérimentation bactérienne ou fongique (T.h, C7R12 et PP).

Cette diversité dans les mécanismes d'action peut constituer un élément de choix et de décision dans les applications pratiques. Il serait nécessaire d'expérimenter leur pouvoir antagoniste dans des essais de co-inoculation et de vérifier les possibilités de complémentarité et de synergisme entre ces différents antagonistes.

De plus, les nombreuses connaissances acquises sur leur production commerciale, leur physiologie et leur génétique s'ajoutent à ces avantages. La formulation des inoculum de bactéries et des champignons sélectionnés, destinés aux applications pratiques comme biofertilisants, constitue une solution économiquement rentable afin de minimiser l'application des fertilisants chimiques, maximiser la croissance et la nutrition des plantes.

L'application des microorganismes au niveau du sol comme agent de lutte biologique présente toujours la possibilité de l'échec est cela est dû à ses caractéristiques et son rôle dans les interactions entre les microorganismes comme support en plus des caractères édaphiques qui peuvent influencer sur cette application (T°, H%, et le pH). Donc la problématique de conditionnement et de formulation reste posée, surtout avec l'interaction de diverses espèces végétales dans des sols ayant des structures et des textures variables.

Références bibliographiques

- Abadie, C., Edel V. et Alabouvette C. (1998).** Soil suppressiveness to *Fusarium* wilt : Influence of a cover-plant on density and diversity of *Fusarium* populations. Soil Biol. Biochem –Vol.30, No.5, pp 634-649.
- Adams, P.B. (1990).** The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. Annu. Rev.agents de lutte biologique; INRA, UMR Microbiologie Géochimie des sols.
- Agrios, G.N. (1998).** Plant pathology 3rd edition. Academic press. Inc : San Diego. 803p.
- Agrios, G.N. (2005).** Plant Pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- Aimé, S., Cordier, C., Alabouvette, C., Olivain, C. (2008).** Comparative analysis of PR gene expression in tomato inoculated with virulent *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* the biocontrol strain *F. oxysporum* Fo 47. *Physiological Molecular Plant Pathology*, 73: 9–15.
- Alabouvette, C. (1990).** Biological control of *Fusarium* wilt pathogens in suppressive soils, In Biological control of soil-borne plant pathogens (HORNB, D., Ed) CAB international, Wallingford, pp 27-43.
- Alabouvette, C. (2001).** La lutte biologique contre les parasites du sol. Possibilités, spécificités et pour l’instant rareté. *Phytoma* 52 pp.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P. and Steinberg, C. (1993).** Recent advances in the biological control of *Fusarium* Wilt.0 pestic. *Sci. 37* : 365-373.
- Alabouvette, C., Aimé, S., Cordier, C., Olivain, C. (2008).** « Comparative analysis of 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 .
- Alexander, L. J., Tucker, C. M. (1945).** Physiologic specialization in Baker, R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants, *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 7 (2): 97-106.
- Alexander, D.B., Zuberer, D.A. (1991).** “Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria”, *Biol. Fertil. Soils*, 12, 39-45.
- Altomar, C., Norvell, A., Bjokman, T. et 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.

Anchisi, M., Genanari, M., Matta. (1985). Retardation of *Fusarium* Wilt symptom in tomato by pre- and post- inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot water”, physiological plant pathology, 26, 175-183.

Antoun, H., Kloepper, J. (2000). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR).In : Brenner S, Miller JF (eds), Encyclopedia of Genetics, Academic Press, 1477).

Armstrong, G.M., Armstrong, J.K. (1981). « Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases », in: Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R. J(Eds)*Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*,The Pennsylvania State University Park, PA, USA.5.391-399.

Arshad, M., Frankenberger, Jr. W. T. (2002). «Ethylene: Agricultural Sources and Applications». New York, Kluwer Academic Publishers. 342 p.

Backman, P.A., R. Rodriguez-Kabana. (1975). A system for the growth delivery of biological.

Bais, H.P., Park, S. W., Weir, T. L., Callaway, R. M et Vivanco, J.M. (2004). “How plants communicate using the underground information superhighway”, Trends Plant Science, 9 (1), 26-32.

Baker, R., Elad, Y., Sneh, B. (1986). Physical, biological and host factors in iron competition in soils. 77-84. In: T. R. Swin Burne “Iron, Siderophores and competition in soils plant diseases”. NATOADU. Res. Work shop, U. K Plenum. Press. New York and London.

Barna, B. A., Sarhan, R.T., Kiraly, Z. (1983). “The influence of nitrogen nutrition on the sensitivity of tomato plants to culture filtrates of *Fusarium* and to fusaric acid”, Physiological Plant pathology, 23, 257-263.

Barna, B., A.R.T, Sarhan et Kiraly, Z. (1985). The influence of nitrogen nutrition on the sensitivity of tomato plants to culture filtrates of *Fusarium* and to fusaric acid. Physiological Plant Pathology, 23: 257-263.

Barrach, I. (1990). Iron, siderophores and plant- pathogen interaction phytoparasitica 18, 183-188.

- Becker, J.O., Cook, R.J. (1988).** “Role of siderophores on suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by *fluorescent Pseudomonads*”, *Phytopathology*, 78, 778-782.
- Beckman, C.H. (1989).** “Colonization of the system of plants by fungal with pathogens: a basis of modelling the interactions between host and parasite in time and space, in vascular wilt diseases of plants”, (Tjamos, E. C. and Beckman, GH, Edsl. Springer-verlag, Heidelberg, Berlin., 19-32.
- Bélanger, R and Labbé, C . (1994).** Commercial-scale control of rose powdery mildew with a fungal antagonist. *Plant Dis.* 78 : 420-424.
- Benchabane, M. (2005).** Caractérisation des effets de biocontrôle et de stimulation de la croissance végétale chez les souches les *Pseudomonas spp fluorescents*. Thèse doctorat d'état. FSB-USTHB. Alger, 230p.
- Benchabane, M., Bakour R., Toua, D., Boutekrabt, A. (2000).** “Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate ”, *Bulletin OEPPL/EPPO*, 243-246.
- Benhamou, N., Richard, R., Patrice Reyb, B., Oligandrin, Y.T. (2001).** “The elicitor-like protein produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum*, induces systemic resistance”.
- Besri, A. (1977).** La phase seminale du *Fusarium oxysporum* F.sp. *lycopersici*. Travaux dédiés à G. viennot-Bougin, 19-25.
- Besselat, B. (1985).** Résultats obtenus par le service de la protection des végétaux dans le cadre de la lutte contre la pourriture grise de la vigne avec utilisation du *Trichoderma*. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures, pp 51-58. INRA, Paris (FR).
- Bisset, J.A., Can. J. Bot. (1991).** Revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. (b), 69 : 2357-2372
- Bissett, J.A. (2004).** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. (b) *Can. J. Bot.*, 1991, 73 : 2280-2300.
- Blancard, D. (1997).** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, p212.
- Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J. (2001).** “Molecular basis of plant growth promotion; and biocontrol by rhizobacteria”, *Curr Opin plant soil*, 4, 343-350.

Booth, C. (1971). “The Genus *Fusarium*”. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Bouhot, D., Rouxel, F., Louvet, J. (1972). Première observation de la fusariose vasculaire de la tomate en France. Ann. Phytopathol. 412 : 187-191.

Bounaga, N. (1975). “Germination de microconidies et macroconidies de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*”, Bulletin de la Société d’Histoire Naturelle d’Afrique du Nord, 39-44.

Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., Gardan, L. (2000). “The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision”, *Agronomie*. n° 20, 51-63

Burgess, L. W. (1981). General, ecology of the Fusaria. In *Fusarium: diseases biology and taxonomy* (ed. P. E. Nelson, T. A. Tousson and R. J. Cook), 225-235. Pennsylvania State University Press: University Park and London.

Burr, T.J., Schroth, M.N., Suslow, T. (1978). “Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strain of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*”, *Phytopathology*, 68, 1377-1383.

Cai, G. L., Rosewich Gale, R. W., Schneider, H. C., Kistler, R. M., Davis, K. S., Elias, E. M. Miyao. (2003). “Origin of Race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* at a Single Site in California.

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., Laverdière. (2003). Amélioration des qualités nutritionnelles du milieu de culture utilisé pour produire *Trichoderma*, afin d’en maximiser le potentiel antagoniste. Horti-Protection inc.p :8.

Carosolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortes, C., Guttierrez, A., Chet, I., Herrea Estrella, A. (1999). Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech 42, in mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 929-935.

- Cherif, M ., Bnhamou, N. (1990).** Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* spp on *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 80: 1406-1414.
- Chet, I. (1984).** Application of *Trichoderma* as a bio control agent, pp. 110-111
Proc. 6th cong. Un Phytopathol. Mediterr. , Cairo (Egypt).
- 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., Bloemberg, G.V., Van der Bij, A., Van der Drift, K.M.G.M., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R.J., Keel, C., Bakker, P.A.H.M., Tichy, H.V., De Bruijn, F.J., Thomas-Oates, J.E., Lugtenberg, B.J.J. (1998).** “Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*”, *Mol. Plant- Microbe Interact*, 11, 1069-1077.
- Clavet, C., J. Pera., J.M. Barea. (1993).** Growth response of marigold (*Tagetes erecta* L.) to control agents to the soil. *Phytopathology* 65: 819-821
- Comporata. (1985).** « Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp vis à vis de *Rhizoctinia solani*, pp. 613-620. INRA Paris (FR).
- Conrath, U., Pieterse, C.M.J., Mauch-Mani, B. (2002).** “Priming in plant-pathogen interactions”, *Trends Plant Sci.* 7, 210-216.
- Cook, R.J., Baker. K.F. (1983).** "The natural and Practices of biological control of plant pathogens", American phytopathological Society, St Paul, pp. 539.
- Couteandier Y. (1992).** “Competition for carbon in soil and rhizosphere, a mechanism involved in biological control of *Fusarium* wilts”, In Tjamos EC, Papavizas AC, Cook RJ, Eds, *Biological control of plant disease*, 99-104.
- Corbaz, R. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Edition presse polytechnique et universitaire romande, p286.
- Cox, C. D., Rinehart, K. I., Moore, M. L., Cook, J. C. (1981).** Pyochelin: Novel structure of a non chelating growth promoter of *Pseudomonas aëginosa* proc. *Nath. Acad. Sei. U.S.A.* 78 : 4256-4260.

Curl, E.A., Truelove, B. (1986). The rhizosphere. Springer-Verlag, New York, Etats-Unis, 288 p.

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.

Davet, P. (1983). Les *Trichoderma*: exemple de champignons antagonistes d’agents pathogènes. Pages 193-204 dans Journées d’études et d’informations, Paris. ACTA.

Davis, D. (1953). The role of enzymes in the etiology of *Fusarium* wilt of tomato. Phytopathology 43: 470p.

Davis, R. M., Kimble, K. A., Farrar, J. J. (1988). A third race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* identified in California. Plant Dis.72:453.

Défago, G., Hass, D., (1990). “*Pseudomonads* as antagonists of soil borne plant pathogens: Mode of actions and genetic analysis”, Soil Biochemistry, 6, 249 291.

De Freitas. J.R., Germida. J.J, (1991). "*Pseudomonas cepacia* and *Pseudomonad putida* as winter wheat inoculants for biocontrol of *rhizoctonia solani*", Can J Microbiol, N° 37, pp. 78 - 804.

Demange, P., Wendenbaum, S., Bateman, A., Dell, A., Abdallah, M.A. (1987).“Structure and physiochemical properties of pyoverdins and related compounds”, Iron transport in microbes, plants and animals, Weinheim : VCH, 167-187.

Diener, A.C., Ausubel, F.M. (2005). Resistance to *Fusarium oxysporum* a dominant Arabidopsis disease-resistance gene is not race-specific. *Genetics* 171: 305-321.

Digat, B. (1983). Modes d’action et effets des rhizobacteries promotrices de la croissance et du developpement des plantes. 24^e colloque de : la société Feancaise de phytopathologie, Bordeaux. Edit.INRA pubI. collo. INRA, 18/ 2396253.

Digat, B. (1994). “Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes : Le cas des *Pseudomonas* .The plant growth promoting rhizobacteria”, An example with *Pseudomonas*, C.R. Acad. Agric., Fr, 80, (2), 125-140.

Djerbi, M. (1988). Les maladies du palmier dattier. Projet régional de lutte contre le Bayoud. Alger .127p.

- Dmitri, V., Mavrodi, Wulf Blankenfeldt., Linda S. Thomashow. (2006).** “Phenazine Compounds in *Fluorescent Pseudomonas* Spp. Biosynthesis and Regulation”, *Phytopathology* Vol. 44: 417-445 p.
- Dubuis, C., Keel, C., Haas, D., Lemanceau, P., Bakker, P.A.H.M., Raaijmakers, J.M., Bloemberg, G., Höfte, M. et Cooke, B.M. (Eds). (2007).** Dialogues of root-colonizing biocontrol pseudomonads. Dans "New perspectives and approaches in plant growth-promoting rhizobacteria research", Springer, Pays-Bas, p 311-328
- Dubourdiou, D. (1983).** Dégradation du glucane de *Botrytis cinerea* par les 13 glucanase de *Trichoderma sp.*, pp 35-49. XXIV colloque de la société Française de Phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
- Dumphy, G. B., Tibelius, K.H. (1992).** Les progrès biotechnologiques augmentent l'efficacité de *Bacillus Thuringiensis* et de *Bacillus Sphaericus* en tant qu'insecticide microbien, chap. 15 : 303-321pp. In : la lutte biologique. Ch, Vincent, D. coderre. Edit gaëtan, Morin. 650p
- Dutruc-Rosset G. (2003).** Techniques analytiques et de contrôle (Codex œnologique). Partie microbiologique. Office International de la Vigne et du Vin. 23 pp.
- Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabouvette C. (2001).** Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* populations isolated from different soils in France. *F.E.M.S. Microbiol. Ecol.*36 : 61-71.
- Elad, Y., I. Chet ., J. Katan. (1980).** *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotinia rolfii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70: 119-121.
- Elad, Y., I. Chet, P. Boyle ., Y. Henis. (1982).** Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinum rolfii* - scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology* 73: 85-88.
- Elad, Y., Baker, R. (1995).** Influence of trace amounts of cations and siderophores producing *Pseudomonas* on chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathologie* 75: 1047-1052.
- El Houari, Y. (2010).** « études des variations de phosphore dans le sol dans quelques especes engrais verts a différents stades végétatifs », these ingenieur d'état, université de Blida 69p.

- Ellis, R.J., T.M. Timms-Wilson., M.J. Bailey. (2000).** Identification of conserved traits in fluorescent *Pseudomonas* with antifungal activity. *Environ. Microbiol.* 2 : 274-284.
- El-Mahjoub, M., Le Picard, D., Moreau, M. (1984).** Origin of tyloses in melon (cucumis melo) to a vascular *Fusarium* IAWA Bulletin n.s., vol5(4).307-311.
- Flaishman, M., Eyal, Z., Voisard, C. Haas, S. (1990).** Suppression of *Septoria tritici* by Phenazine. O siderophore. Deficient mutants of *Pseudomonas*. *Curr Microbiol* 20: 121-124
- Fravel, D., Olivain, C., Alabouvette, C. (2003).** *Fusarium oxysporum* its biocontrol. *New Phytologist*, 157: 493–502.
- Fuchs J. G., Moëne. Laccoz, Y., Deffago, G. (1997).** Non pathogenic *Fusarium oxysporum* strain F047 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato. *Plant dis.* 81 : 292-296
- Gams, W., Bissett J. (1998).** Morphology and identification of *Trichoderma sp.*
- Gaumann, E. (1958).** Fusaric acid as a wilt toxin. *Phytopathology.* 47:342-357.
- Garret S. D., (1970).** Pathogenic root infecting fungi. Can bridge University press. London
- Ghisalberti, E.L., K. Sivasthamparam. (1991).** Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma*.
- Ghisalberti, E.L., Sivasithamparam, K. (1998).** Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 1. Taylor and Francis Ltd., London, pp. 139 191
- Glandorf, D.C.M., Verheggen, P., Jansen, T., Thomashow, L.S., Leeftang, P., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M., Van Loon, L.C. (1998).** “Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r to study effects on the indigenous soil microflora”, In: Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijkerhout, the Netherlands, Coordination Commission Risk Assessment Research (CCRO), 5-6, 41-46.
- Glick, B.R. (1995).** "The enhancement of plant growth by freeliving bacteria", *Canadian Journal of Microbiology*, N° 41, pp. 109 - 117.
- Gothoskar, S. S., Scheffer, R. (1953).** Pectic anzymzq in the physiology of *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopatology.* p 43,472.
- Gueldener, U., Mannhaupt, G., Muensterkoetter, M., Haase, D., Oesterheld, M., Stuempflen, V., Mewes, H.W., Adam, G. (2006).** FGDB: a comprehensive fungal genome resource on the plant pathogen *Fusarium graminearum*. *Nucleic Acids Res.*, 34, Database issue.

- Guo, H., et Ecker, J. R. (2004).** "The ethylene signalling pathway: new insights", *Curr. Opin. Plant Biol.* n° 7, 40-49.
- Gutterson, N. (1990).** Microbial fungicides: recent approaches to elucidating mechanisms, *Crist. Rev. Biotechnol* 10, 69-91.
- Grattidge, R., O'Brien, R. G. (1982).** Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. *Plant Dis.* 66:165-166
- Grayston, S.J, Stphens, J.H., Nelson, L.M. (1991).** "Field and grennhouse studies on growth promotion of spring wheat inoculated with co existent rhizobacteria", *plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects*, Keel, C., Koller, B and Défago, G, eds, *Int. Org. Biol. Control Noxions Anim, plants/West, palaerctic Reg Sec Bull*, vol. 1418, pp. 11-16
- Harman, G.E. (2000).** Myths and dogmas of biocontrol – changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 84 : 377-393.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Vitebro, A., Chet, I., Lorito, M. (2004).** *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews/Microbiology* 2: 43-56;
- Harran, S., Shickler, H., Oppenheim, A., Chet, I. (1996).** Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology* 86: 980-985.
- Hassanjadeh, N. (1991).** "Role of rhizobacteria in npromoting crow pea seed growth", *Bulletin SROP*, pp. 14-98.
- Heming, B.C. (1986).** Microbial-iron interaction in the plant rhizosphere. An Overview, *J. plant Nat* 9, 505-521.
- Henni, J.E. (1998).** Morphologie,pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp lycopersici. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran, p 171.
- Höfte, M., De Vos, P. (2006).** Plant pathogenic *Pseudomonas* species. Dans "Plant-associated bacteria", part. 3, Gnanamanickam, S.S. (Eds). Springer, Pays-Bas, p 507-533.
- Hôper, H., Steinberg, C. et Alabouvette, C. (1995).**Involvement of clay type and pH in the mechanisms of soil suppressiveness to Fusaium of flax. *Soil biology and biochemistry* 27 : 255-267.
- Howell, C.R. (2003).** *Plant disease*, 87, 4-10, inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite.

- Howell, C.R., Stepanovic, R.D. (1980).** Control of rhizobacteria sahani seedling with *Pseudomonas Fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium phytopathol. 69 : 480-482.
- 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.
- Ito, S., Nagata, A., Kai, T., Takahara, H., Tanaka, S. (2005).** “Symptomless infection of tomato plants by tomatinase producing *Fusarium oxysporum* formae speciales nonpathogenic on tomato plants”, Physiological and Molecular Plant Pathology, 66, 183-191.
- Jayaswal, R. K., Fernandez, M.A., Schroeder, R.G. (1990).** Isolation and characterization of a *Pseudomonas* strains that restricts growth of various phytopathogenic fungi. Appl Envir Microbiol, 56: 1053-1058.
- Jonsthor, A., Booth, C. (1982).** “Plant pathologist’s pocket book”. 2nd ed Commonwealth”, Mycological Institute, Kew Surrey, England, 439p.
- Joyce, E., Loper, J., Carol E. (1991).** Ishimaru, A., “Factors influencing siderophore mediated biocontrol activity of rhizosphere *Pseudomonas* spp”, The rhizosphere and plant growth”, 253-261.
- Kanner, D., Gerber, N., Bartha, R., (1978).** Plant of phenazine Pigment Production by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. 134, 690-692.
- Kaur, R., Kaur ,J., Singh, S. (2010).** “Non pathogenic *Fusarium* as a biological control agent » Plant Pathol. J., 9: 79-91.
- Katan, T., Shlevin, E., Katan, J. (1997).** Sporulation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology*, 87: 712–719.
- Keel, C., Voisard, C., Berling, C.H., Kahr, G., Defago, G. (1989).** Iron sufficiency a Prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* CHAO in gnotobiotic conditions. *Phytopatholo.* 79 : 584-589
- Keel, C., Wirthner, P., Oberhansli, T. H., Voisard, C., Burger, U., Haas, D., Defago, G. (1990).** *Pseudomonas* antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: role of the antibiotic 2, 4- diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot tobacco- *Symbiosis.* 9: 327-341.

- Keel, C., Maurhofer, M., Oberlhansli, T.H., Voisard, C., Hoas, D., Defago, G. (1991).** Role of 2,4 diacetylphloroglucinol in the suppression of take-all of wheat by a strain of *Pseudomonas fluorescens*. In: Biotic interaction and Soil-borne diseases. Beemster, A. B. R. Boller, G.J. Gerlagh, M., Ruissen, M.A., Schippers, B., Tempel, A. Dev Agric Managed forest ecol 23, Elsevier, Amsterdam, 335-338.
- Keel, C., Schnider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U., Wirthner, P., Haas, D., et Défago, G. (1992).** "Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Importance of the bacterial secondary metabolite 2.4-diacetylphloroglucinol", Mol. Plant. Microbe Interact., 5, 4-13.
- Kelley, W.D. (1976).** Evaluation of *Trichoderma harzianum* - impregnated clay granules as a biocontrol for *Phytophthora cinnamoni* causing damping-off of pine seedlings. Phytopathology 66 : 1023-1027.
- King, E.O., Ward, M. K., Raney, D.E. (1954).** Two simple media demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. 44:301-307.
- Kloepper, J.W, Leong, J, Teintze. M., Schroth, M.N. (1980).** "*Pseudomonas* Siderophores: a mechanism explaining disease suppression soils", Curr. Microbiol, N° 4, , pp. 317 - 320.
- Kloepper, J.W, Hume, D.J., Scher, F.M., Singleton, C., Tipping, B., Laliberte, M., Frauley, K., Kutchaw, T., Simouson, C, Lifshitz, R., Zaleska, I., Lee, L.(1988).** "plant growth promoting rhizobacteria. On. Canola (rapeseed)", plant .Dis, N° 72, , pp. 42 - 46.
- Kraus. J., and Loper. J.E, (1992).** "Lack of evidence for a role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in Biological control of *Pythium* damping-off of cucumber", Phytopathology, N° 82, , pp. 264 - 271.
- Lanusse, M., Lung-escarmant, B., Dubot, B., Taris B. (1983).** Etude in-vitro des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea* , pp 179-192. XXIV colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
- Larbaoui, A., (2003).** Effet des mécanismes d'action de *Pseudomonas spp fluorescents* dans l'amélioration de la protection biologique des plantes par induction de la résistance systémique vis-à-vis des fusarioses vasculaires. Thèse magister. INES agro. Blida. 71p
- Leahy, J.G., Tracy, K.D., Eley, M.H. (2003).** "Degradation of mixtures of aromatic and chloroaliphatic hydrocarbons by aromatic hydrocarbon-degrading bacteria", FEMS Microbiol Ecol, n°43, , 271-276.

- Lemanceau, P. (1989).** Rôle of competition for carbon and iron in mechanisms of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts. N.A.T.O A S I series. Vol 1128.
- Lemanceau, P. (1992).** "Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: Exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents", *Agronomie*, n° 12, , 413 - 437.
- Lemanceau, P., Alabouvette, C. (1993).** Suppression of *Fusarium* Wilts by Fluorescent *Pseudomonas* ; Mecanisms and applications. *Biocontrol science and technology* 3 : 219-234.
- Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. et Berta, G. (2006).** Microbial ecology of the rhizosphere. Dans "Microbiological methods for assessing soil quality", Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (Eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, p. 228-230.
- Leong., J. (1986).** "Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens", *Annu Rev Phytopathol*, N° 24, , pp. 187 - 208.
- Lewis, J.A., G.C. Papavizas. (1987).** Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for controls of *Rhizoctonia solani* damping-off. *Plant Pathol.* 36 : 438-446.
- Loper, J.E., Buyer, J.S. (1991).** "Siderophores in microbial interactions on plant surfaces", *Mol Plant- Microbe Interac* 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., Woo, S.L., Iaccarino, M., Scala, F. (2006).** Microrganismi antagonisti. In: Iaccarino, M. (Ed.), *Microrganismi Benefici per le Piante*. Idelson Gnocchi s.r.l., Napoli, Italia, pp. 146–175.
- Lotan, T., Fluhr, R. (1990).** Xylanase, a novel elicitor of pathogenesisrelated proteins in tobacco, uses a nonethylene pathway for induction. *Plant Physiology* 93, 811–817.
- Louvet, J. (1979).** General aspects of soil disinfestations. In: D. Mulder soil disinfestations. Elsevier. 3-7.
- Mahmoud, S.A.Z., Ramadan, E.M., Thabet, F.M., Khater, T. (1984).** "Production of plant growth promoting substances by rhizosphere microorganisms", *Zbl. Microbiol*, N° 139, pp. 227 - 232.

- Maraitre, H., Meyer, J.A., et al. (1973).** “ La fusariose de la tomate. Symptôme race physiologique, lutte chimique et résistance variétale ”, Ann. Phytopathol., 52, 187- 202.
- Maw, G.A ., Kempton R.J. (1973).** Methyl Bromide as a soil fumigant soil fertility. 36 : 41-47.
- Menzies, J G. (1993).** A strain of *Trichoderma viride* pathogenic to germinating seedlings of cucumber, pepper and tomato. Plant Pathol. 42: 784-791.
- Mercado-Blanco, J., Van der Drift, K.M.G.M., Olsson, P.E., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M. (2001).**“Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonas in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374”, J. Bacteriol, 183 ,1909-1920.
- Messiaen, C.M. (1981).** Les variétés résistantes, méthodes de lutte contre les maladies et les ennemies des plantes, Edition INRA.Paris.p374.
- Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F., Lafon R. (1991).** Les maladies des plantes maraichères 3^{ème} ed. INRA Paris Pp 37, 552p.
- Meyer, J.M., Abdallah, M.A. (1978).**“The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physico-chemical properties”, J Gen Microbiol., 107, 319-328.
- Meyer, J.-M., Azelvandre, P., Georges, C. (1992).** Iron metabolism in *Pseudomonas*: Salicylic acid, a siderophore of *Pseudomonas fluorescens* CHA0. BioFactors, 4: 23–27.
- Michelina, R., Massimo, G., Oscar, A., Bernard., Jurgen, K., Philippe, N. (2011).** « Lutte biologique N°2 : tomate » Food Quality and Safety 6TH FRAMEWORK PROGRAMME, p 5
- Migula, W. (1894).**Über ein neues System der Bakterien. *Arbeiten aus dem bakteriologischen Institut der technischen Hochschule zu Karlsruhe*, 1 235-238.
- Mirleau, P., Delorme, S., Philippot, L., Meyer, J.M., Mazurien, S., Lemanceau, P. (2000).** Fitness in soil in and rhizosphere of *Pseudomonas fluorescens* C7R12 compared with a C7R12 mutant affected in pyoverdine synthesis and uptake FEMS Microbiol Ecol 34: 35-44.
- Misaghi, I., Grogan, R.G. (1969).** “Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads”, Phytopathology 59,, 1436-1450.

- Mordukhova, E.A., Skvortsova, N.P., Kochetkov, V.V., Dubeikovskii, A.N., Boronin, A.M. (1991).** "Synthesis of the phytohormone indole-3-acetic acid by rhizosphere bacteria of the genus *Pseudomonas* ", Mikrobiologiya, N°60, pp. 494 - 500.
- Morohoshi, T., Someya, N., Ikeda, T. (2009).** "Novel N-acyl homoserine lactone-degrading bacteria isolated from the leaf surface of *Solanum tuberosum* and their quorum-quenching properties", Biosci. Biotechnol. Biochem, n° 73, , 2124–2127.
- Mouria., Ouazzani-Touhami., Douira. (2007).** Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. PHYTOPROTECTION 88: 103-110.
- Moussaoui, M. (2010).** Developpement et extraction des metabolites secondaires de *Trichoderma viridae* et leurs effets biologiquement actifs. Thèse de Master, Université de Constantine, 80p.
- 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.
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M.T., Landi, L., Pietramellara, G., Renella, G. Valori, F. (2008).** Effects of root exudates in microbial diversity and activity in rhizosphere soils. Dans "Soil biology: molecular mechanisms of plant and microbe coexistence", vol. 15, Nautiyal, C.S. et Dion, P. (Eds). Springer, Berlin Heidelberg, Allemagne, p. 339-365.
- Neilands, J.B., Leong, S.A. (1986).** "Siderophores in relation to plant growth and disease", Ann. Rev plant. Physiol, N° 37, pp. 187 - 208.
- Nelson, P.E. (1981).**Life cycle and epidemiology of F.o in fungal wilt diseases of plants (Mace ME., Bell A A., et B eckman CH. Eds) Academic Press, New york. Pp 51-80.
- Nelson, P.E. (1983).**Life cycle and epidemiology of F.o in fungal wilt diseases of plants (Mace ME., Bell A A., et B eckman CH. Eds) Academic Press, New york. Pp 40-72.
- Nielsen, T.H., Christophersen, C., Anthoni, U., Serensen, J. (1999).** "A new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54", J Appl Microbiol., 87, 80-90.
- O'Sullivan, D.J., O'Gara, F. (1992).**"Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant root pathogens", Microbiol Rev., 56, 662-676.
- Owens, L.D. (1969).** Toxin in plant diseases, Structure and mode of action, in science n° 165.

- Ozbay, N., Newman S.E. (2004).** *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods, ISSN 1680-8193. Plant pathology journal 3(1) : 9-18.
- Ozbay, N., Newman, S.E. (2010).** «Evaluation of *Trichoderma harzianum* Strains to Control Crown and Root Rot of Greenhouse Fresh Market Tomatoes *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. Microbiol. Ecol. 7 : 29-38
- Palleroni, N. J. (1984).**“Gram-negative aerobic rods and cocci: family I *Pseudomonadaceae*, Krieg, Holt, William and Wilkings”, Eds., Bergey’s manual of bacteriology, William and Wilkins, Baltimore, 141-168.
- Palleroni, N. J. (1992).** Introduction to the family Pseudomonadaceae in : Balows H G., Truper M., Dworkin W., Harder A., Schliefer K (eds), 2nd eds. The prokaryotes, Vol.3. springer-Verlag Newyork. Pp 3071-3085.
- Palleroni, N. J. (2005).** Genus I *Pseudomonas*. Dans "Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology - The proteobacteria", 2ème édition, vol. 2, part. B, Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T. et Garrity, G.M. (Eds). Springer, New-York, Etats-Unis, p. 323-379.
- Palleroni, N.J. (2009).** The genus *Pseudomonas*. Dans "Practical handbook of microbiology", 2ème édition, Goldman, E. et Green, L.H. (Eds). CRC Press, Taylor & Francis Group, Etats-Unis, p. 231- 242.
- Palleroni, N.J., Moore, E.R.B. (2004).** Taxonomy of pseudomonads: experimental approaches. Dans "*Pseudomonas*", vol. 1. Ramos, J. L. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Etats-Unis,. p. 3-44.
- Papavizas, G.C. (1985).** *Trichoderma* and *Gliocladium* : Biology, ecology, and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 23 : 23-54.
- Parmar, N., Dadarwal, K.R. (1999).** "Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid-like compounds by rhizobacteria". Journal of applied microbiology N°86, pp. 36-44.
- Pecault, P., Latterrot, H. (1966).** Perspectives sur la selection de variétés de tomate résistantes aux maladies. Genetica Agraria. 20 : 110-120.
- Pierson, E.A., Wood, D.W., Cannon, J.A., Blachere, F.M., Pierson, L.S. (1998).** Interpopulation signaling via N-acylhomoserine lactones among bacteria in the wheat rhizosphere. Mol. Plant Microbe Interact. 11: 1078 –1084.

- Pinton, R., Varanini, Z. et Nannipieri, P. (2001).** The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants, and microorganisms. Dans "The rhizosphere", Pinton, R., Varanini, Z. et Nannipieri, P. (Eds). Marcel Dekker, Inc., Etats-Unis, p. 1-17.
- Powell, J.f., Vargas, J.M., Nair, M.G., Detweiler, A.R., Chandra, A. (2000).** "Management of dollar spot on creeping bentgrass with metabolites of *Pseudomonas aureofaciens* (TX-1)", Plant Disease 84, 19-24.
- Remans, R., Croonenborghs, A., Torres Gutierrez, R., Michiels, J., Vanderleyden, J. (2007).** "Effects of plant growth promoting rhizobacteria on nodulation of *Polus vulgaris* L. are dependent on plant P nutrition". Eur J Plant Pathol , 119,pp:341–351.
- Ricci, P. (1989).** L'induction des réactions de défenses chez les plantes. C.R. Acad. Agnc. Fr. 6: 65-72.
- Rifai, M.A. (1969).** A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Papers, 116: 1-56
- Rodelas. B, Salmeron. V, Martinz – Toledo. M. V, Loper. G.J. (1993).** "Production of vitamins by *Azospirillum brasilense* in chemically defined media", Plant Soil, vol. 153, , pp. 97 - 101.
- Roquebert, M.F. (1996).** Interactions antagonistes des *Trichoderma sp.* Dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. Compterendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, 13-15.
- Saharan, B.S., et Nahra, V. (2011).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria : A Critical Raviw. Life Sciences and Medicine Research, Volume 2011: LSMR-21.P1
- Salmond, G.P. C., Bycroft, B.W., Stewart, G.S.A.B., Williams, P. (1995).** «The bacterial 'enigma': cracking the code of cellcell communication». *Molec. Microbiol.* N°16, pp. 615-624.
- Saloum, M . (1986).** Contribution à l'étude de la fusariose vasculaire de la tomate sur littoral algérois. TH. Ing. Agro. INA. ELHarach.65P.
- Samuels, G.J., Dodd, S.L., Gams, W., Castlenry, L.A., Petrin, O.(2002).** *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 94: 146-170.

Scher, F.M., Baker, R. (1982). "Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *fusarium* wilt pathogens", *Phytopathology*, N° 72, pp. 1567 - 1573.

Schippers, B. (1992). Prospects for management of natural suppressiveness to control soilborn pathogens, In *Biological control of plant diseases, progress and challenges for the future* (Tjamos, E.C.Papavizas, G.C and Cook R.J.,Eds) Plenum,New York and London, pp.21-34.

Schippers, B., van Eck, W.H. (1981). Formation survival of chlamydospores in *Fusarium*. In *Fusarium diseases, Biology Taxonomy* (Eds. Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Cook, R.J.), The Pennsylvania State University Press, University Park London.250-260.

Schroth, M.N., hancock, J.G. (1982). "Diseases suppressive soil and root colonizing bacteria", *Science*, N° 216, , pp. 1376 - 1381.

Scott, I.T. (1923). The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of *Fusarium lycopersici* and tomato wilt. *Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin* 64.

Semal, I. (1989). *Traité de pathologie végétale*. Presses Agronomique de Gembloux. 621p.sequential role of antibiotics and parasitism. *Biocontrol Science and Technology* 5 : 41-53.

Setti, B. (1986). Contribution à l'étude de la fusariose vasculaire de la tomate sur littoral algérois.Th.Ing. Agro. INA. ELHarach. 35p.

Shanmugam, V ., Kanoujia, N. (2011). "Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture "Biological Control" Volume 57, Issue 2, Pages 85-93.

Sharma, A., Johri, B.N. (2003). "Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* strain GRP3A IN MUNG BEAN *Vigna radiata* L. Wilzeck", *Microbiol Res.*, 158, 77-81.

Simons, G., Groenendijk, J., Wijbri, J., Reijans, M., Groenen, J., Diergaarde, P., Van der Lee, T., Bleeker, M., Onstenk, J., de Both, M., Haring, M., Mes, J., Cornelissen, B., Zabeau, M., Vos, P. (1998). Dissection of the *Fusarium* I2Gene Cluster in Tomato Reveals Six Homologs One Active Gene Copy. *Plant Cell*, 10: 1055-1068.

- Singh Ramas, S., Alabouvette C. (2002).** Lutte biologique contre les fusarioses par application de souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum* et de *Pseudomonas fluorescens*. spp. Soil Biol. Biochem. 23 : 1011-1020 Projet 1805.
- Smith, H.C. (1965).** The morphology of *Verticillium albo-atrum*, *Verticillium dahliae* and *V. Tricopus*. New Zealand J. Agric. Res 8:450-478.
- Smith, S. N., Snyder, W. C. (1971).** "Relationships of density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato", *Phytopathology*, 61, (1971), 1049 – 1051.
- Smith, J.E., Moss M.O. (1984).** The applied mycology of *Fusarium* : Symposium of the British Mycological Society held at Queen Mary college London, September 1989 Cambridge University Press. Cambridge 264p.
- Sneh, B., Dupler, M., Elad, Y., Baker, R. (1984).** "Chlamydospores germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from *Fusarium* suppressive soil", *Phytopathology*, N° 74, pp. 1115 - 1124..
- Soylu, S., Bennett, M.H., Mansfield, J.W. (2002).** "Induction of Phytoalexin Accumulation in Broad Bean (*Vicia faba* L.) Cotyledons Following Treatments with Biotic and Abiotic Elicitors", *Turk J Agric For.*, 26, 343-348.
- Spadaro, D., Gullino, M.L. (2005).** "Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens" *Crop Protection*, 24, 601–613.
- Suslow, T.V., Schrouth, M.N. (1982).** "Rhizobacteria of sugar beet : effects of seed application and root colonization on yield", *Phytopathology* N° 72, , pp. 199 - 206
- Tebibel, N. (1979).** Etude comparative de quatre isolats de *F. oxysporum* f. sp *lycopersici* issus de quatre variétés de tomate. Ing. Agro. INA. EL HARRACH. 111P.
- Teintze, M., Hossain, M.B., Barnes, C.L., Leong, J., Van der, H.D. (1981).** "Structure of ferripseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10", *Biochemistry*, 20, 6446-6457.
- Thomashow, L.S., Weller, D.M. (1988).** "Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*", *J Bacteriol.*, 170, 3499-3508.
- Thomashow, L.S., Bonsall, R.F., Welter, D.M. (1997).** "Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes in situ", *Manual of environmental microbiology*, Hurst, C.J., Washington, D.C, 493-500.

- Timmis, K.N. (2002).** “*Pseudomonas putida*: A cosmopolitan opportunist par excellence”, Environ Microbiol, n°4, 779–781.
- Tivoli, B. (1988).** Guide d’identification des différentes espèces de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre dans son environnement. Agronomie 8 : 211-222.
- Toua, D. (1996).** Essais d’utilisation des *Pseudomonas spp fluorescens* dans le biocontrol de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* et de *Verticillium dahliae* sur tomate et dans la promotion de croissance. Thèse magister, Ed INA-El Harrach Alger. 128p.
- Toua D., Benchabane M. et Bakour. (1997).** Effect of some selected *Pseudomonas* fluorescent strains on the suppression of *Fusarium* wilt of tomatoes. Proceeding 10th congress of the Mediterranean Phytopathological Union June 1st – 5th 1997-Montpellier-Le Corum(SFM-). France: 811-814.
- Toussoun, T.A., Nelson, P.E. (1976).** A Pictorial Guide to the Identification of *Fusarium* Species, Second Edition. Pennsylvania State University Press, University Park.
- Tzeng, D.D., Wekman, R.J., Devay, J.E. (1985).** Relationships among *Verticillium* wilt development, leaf water potential, phenology and lint yield in cotton. Physiological Plant Pathology. 26:73-81.
- Van Loon, L.C. (2007).** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119: 243-254
- Van Loon, L.C., Bakker P.A.H.M. et Pieterse C.M.J. (1998).** Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36 : 453-483.
- Verma., Brar., Tyagi., Surampalli., Valéro. (2007).** Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control .volume 40 numéro1 p 118.
- Vizcaino, J.A., Sanz, L., Cardoza, R.E., Monte, E., Gutierrez, S. (2005).** *Trichoderma & Gliocladium*, Volume1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics
- Volin, R.B., Jones, J. P. (1982).** “A new race of *Fusarium* wilt of tomato in Florida and sources of resistance”. Proc. Fla. State Hort. Soc. 95:268-270
- Walker, J.C. (1961).** Plant pathology. 3rd Ed. 819p.
- Waxlin, F. (1982).** "Contribution à l’étude de l’action des *Pseudomonas* fluorescents : action sur la croissance et le développement de plantes horticoles", Mémoire ENITH, Angers, , pp. 195.

Weller, D. M., Cook, R. J. (1983). Suppression of take all of wheat by seed treatments with fluorescents *Pseudomonas*. *Phytopathol.* 26 : 379-407.

Weller, D.M, Howie, W.J, Cook. (1988). “Relationships between *in vitro* inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and suppression of take ail wheat by *fluorescent pseudomonas*”, *Phytopathology*, P 1094-1100.

Weller, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, M., Thomashow, L.S. (2002). “Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens”, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 40, 309-348.

Weller, D.M., Landa, B.B., Mavrodi, O.V., Schroeder, K.L., De la Fuente, L., Blouin-Bankhead, S.B., Allende-Molar, R., Bonsall, R.F., Mavrodi, D.V. et Thomashow L.S. (2007). “Role of 2,4- diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. in the defense of plant roots”, *Plant Biology*, n°9, , 4-20.

Windham, M.T., Y. Elad, R. Baker. (1986). A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 518-52.

Woo, S.L., Lorito, M. (2007). Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: Vurro, M., Gressel, J. (Eds.), *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. IOS, Springer Press, Amsterdam, the Netherlands, pp. 107–130 (Chapter 6).

Wood, D.W., Gong, F., Daykin, M.M., Williams, P., Pierson L.S. (1997). N-acyl-homoserine lactone-mediated regulation of phenazine gene expression by *Pseudomonas aereofaciens* 30- 84 in the wheat rhizosphere. *J. Bacteriol.* 179: 7663 –7670

Xu, G.W ., Gross. D.C. (1986). "Field evaluations of the interactions among fluorescent *Pseudomonas*, *Erwinia carotovora*, and potato yield", *Phytopathology*, N° 76 , pp. 423 - 430.

Yedidia, I., Benhamou, N., Chet, I. (1999). Induction of defence responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied Environmental Microbiology* 65, 1061–1070.

Yuan-Min Shen. (2009). “*Fusarium* wilt in green house”, Taiching District Agriculture, Taiwan, p 1.

<http://www.pnas.org/content/106/48/20440/F5.expansion>.

<http://www.bacterio.cict.fr/p/pseudomonas.html>.

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Spécialité : Biologie des interactions Plantes-Microorganismes (BIMP)

THEME

**Action d'antibiose des *Pseudomonas spp fluorescentes*
et *Trichoderma harzianum* contre le *Fusarium f.sp*
*oxysporum lycopersici In vitro.***

Soutenu devant le jury :

Présenté par :

Présidente : M^{me} BOUDJEMIA H.

M^{elle}. ABBOU Amel

Promoteur : Pr. BENCHABANE M.

Examinatrices : M^{me}. BENSAID F.

M^{me}. OUSRIR S.

Année Universitaire: 2013/2014

