

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE SAAD DAHLEB – BLIDA

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET
BIOLOGIQUES
DEPARTEMENT D' AGRONOMIE

MEMOIRE DE MAGISTERE

Spécialité : Sciences Agronomiques
Option : Amélioration des productions végétales

THEME

Effet des Mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp. Fluorescents dans L'Amélioration de La Protection Biologique des plantes par Induction de Résistance Systémique vis à vis des Fusarioses Vasculaires.

Présenté par :
M^{me} LARBAOUI AKILA

Soutenu devant le jury :

Président : M. GUETARNI Djamel
Promoteur: M. BENCHABANE Messaoud
Examineurs :

M^{elle} BELKAHLA Hadjira
M. KHELIFI Lakhdar
M. BENZAADA Abdesslam

Maître de conférences (U. Blida)
Chargé de cours (U. Blida)

Maître de conférences (U. Blida)
Maître de conférences (INA - Alger)
Chargé de cours (U. Blida)



DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mon père et ma grand-mère

A ma très chère mère pour sa bonté et sa patience

A mon très cher mari

A mes très chers frères et sœurs

A mes très chers beaux-parents

A mes très chères belles sœurs et beaux-frères

A ma très chère nièce et neveux

Ames très chers amis(es) : Farida, Djamila, Nora, Abdelmadjid et Attalah

A toute ma famille et belle-famille qui ma soutenu et encourager à faire aboutir ce travail.

A tous mes amis(es)

REMERCIEMENTS

Au terme du travail de ce mémoire, je tiens à exprimer mes sincères remerciements et ma profonde gratitude à mon enseignant et promoteur M. BENCHABANE pour m'avoir encadré et aidé durant mon travail et mon cursus universitaire.

J'exprime mes vifs remerciements au Dr Dj. Guetarni , maître de conférences et Doyen de la faculté des Sciences agro-vétérinaires et biologiques, pour le plaisir qu'il m'a accordé en présidant le jury ;

Que Dr. H. Belkahla, Maître de conférences au département d'Agronomie ; Dr. L. khelifi , maître de conférences à l'INRA d'El Harrach et M. A. Bensaada , chargé de cours au département d'Agronomie ; acceptent l'expression de mes vifs remerciements de bien vouloir accepter d'examiner ce travail.

Je remercie toutes l'équipe de laboratoire de microbiologie de l'institut d'agronomie pour leurs aides, encouragements et pour l'ambiance qu'elles ont crée au laboratoire.

Egalement, je remercie Mme D. Benchabane pour tous ces conseils et encouragements.

Je ne pourrais oublier de remercier, mon très cher mari pour l'aide et encouragements qu'il ma apporté durant la réalisation de ce manuscrit.

Egalement, je remercie les techniciennes de l'institut d'agronomie pour leurs aides et sympathie.

Je remercie tous mes amis(es) qui de loin ou de près m'ont soutenu et encouragé à réaliser ce modeste travail.

SOMMAIRE

Introduction	01
Partie 1 : Données bibliographiques	
I- Antagonisme microbien en lutte biologique	04
II- Importance de P.G.P.R.	07
II-1- Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.	07
II-2- Les effets bénéfiques de <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents	08
II-2-1- Effets directs	09
II-2-1-1- Stimulation de la croissance	09
II-2-1-2- Induction de la résistance	12
II-2- 2- Effets indirects	15
II-2-2-1- Modification des équilibres microbiens	15
II-3- Mécanismes d'action	17
II-3-1- Sidérophores	18
II-3-2- Antibiotiques	18
III- Action des PGPR sur la fusarioses vasculaires	20
III-1- Importance des fusarioses vasculaires	20
III-2- Effets des PGPR sur les fusarioses vasculaires	21
IV- Les sols résistants aux fusarioses vasculaires	23
IV-1- Effets des facteurs biotiques sur la résistance des sols	24
IV-2- Effets des facteurs abiotiques sur la résistance des sols	28
Partie 2 : Matériels et méthodes	31
I- Matériel biologique	31
I-1- Isolats bactériens	31
I-2- Isolats cryptogamiques	31
I-3- Matériel végétal	33
I-4- Sol	33
II- Production de métabolites secondaires	34
II-1- Production de pigment fluorescent	34
II-2- Production d'acide cyanhydrique	34
II-3- Production d'antibiotiques	35
II-3-1 Extraction des antibiotiques	35
II-3-2 Tests d'activités par antibiographie	35

4

III- Induction de la résistance systémique	61
III-1- Indice de la maladie	61
III-2- Sévérité de la maladie	62
III-2-1- Effets de la bactérisation sur l'inhibition de la sévérité de la maladie	62
III-2-2- Effets de la bactérisation sur la croissance végétale	64
III-3- Interprétation des résultats	67
IV-Recherche de la résistance du sol à la fusariose vasculaire du lin	71
IV-1- Effet de la concentration fongique	71
IV-2- Effet de la bactérisation	72
IV-3- Effet de l'addition du fer	72
IV-4- Effet de l'addition du glucose	75
IV-5 Interprétation des résultats	77
Conclusion	80
Références bibliographiques	82
Annexes	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La lutte contre les maladies des cultures est l'une des préoccupations majeures des agriculteurs. Dans ce domaine, plusieurs progrès ont été accomplis par le développement spectaculaire des produits phytosanitaires et à un degré moindre l'utilisation des variétés résistantes. Néanmoins, certaines maladies parasitaires, notamment celles d'origine tellurique, restent encore mal maîtrisées et continuent à causer des dégâts et des pertes économiques considérables.

Parmi ces maladies, les trachéomycoses et particulièrement les fusarioses vasculaires provoquent généralement un flétrissement des organes ou entraînent un dépérissement progressif conduisant à la mort des plantes (Messiaen et al., 1990). Les dégâts provoqués par ces maladies sont importants et peuvent engendrer des pertes appréciables. Ces affections peuvent apparaître à tous les stades végétatifs et dans les différents types de culture (pépinière, plein champ, sous abris et même en culture hydroponique). Parmi les fusarioses vasculaires les plus redoutables, celles affectant la tomate, le lin et le palmier dattier. La fusariose du lin causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*, engendre des symptômes caractéristiques notamment le flétrissement apical et la mortalité des plants à des stades juvéniles. La fusariose vasculaire de la tomate, causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, se caractérise particulièrement par des flétrissements unilatéraux et/ou généralisés conduisant à l'obstruction des systèmes vasculaires et la mortalité des plants atteints. La fusariose du palmier dattier, appelée communément le bayoud, causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, est une trachéomycose qui continue à sévir dans les palmerais algériennes provoquant la disparition de milliers de palmiers chaque année.

Les techniques classiques de lutte chimique (fongicides) et l'absence pratique de variétés résistantes, ne donne pas souvent des satisfactions pour le contrôle de ces maladies. L'une des possibilités s'offrant à l'homme pour une meilleure maîtrise de cette microflore nuisible, en réduisant les menaces des produits chimiques sur l'équilibre de l'environnement, est l'exploitation d'autres microorganismes telluriques possédant des potentialités d'antagonisme microbien.

De nombreuses études ont montré l'existence de sols suppressifs défavorable au développement des fusarioses vasculaires alors que les agents pathogènes en cause sont naturellement présents. Il a été démontré que l'établissement naturel de populations de *Pseudomonas* spp. fluorescents est l'un des facteurs, de première importance, impliqué directement dans la suppression des maladies dans ces sols dits suppressifs (Alabouvette, 1986 ; Lemanceau et al., 1988 ; Défago et Haas, 1990).

Durant ces dernières années, un intérêt particulier a été porté sur l'étude des effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents en association avec divers types de cultures végétales. De nombreuses espèces de ce groupe bactérien qui colonisent puissamment la rhizosphère se caractérisent par des activités de bioprotection vis-à-vis de nombreux agents phytopathogènes telluriques et par des actions de biostimulation de la croissance végétale. D'une manière générale, deux types de mécanismes sont responsables de ces effets bénéfiques : l'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère, l'autre concerne la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante (Lemanceau, 1992).

Les effets d'antagonisme microbien sont étudiés à l'encontre de plusieurs pathologies végétales, à l'exemple des affections vasculaires, des pourritures des racines et des collets, des fontes de semis... . De nombreux travaux ont mis en évidence les effets de ces rhizobactéries sur la biostimulation de la croissance végétale avec différents types de cultures conduites en conditions contrôlées ou à l'état naturel.

Les expérimentations réalisées dans des conditions gnotobiotiques et en plein champs rapportent des résultats très diversifiés sur l'intensité et la qualité de ces effets bénéfiques, mais restent prometteurs et encourageants pour leur application futur. Dans l'ensemble, il ressort un manque d'exploitation potentielle dans leur application à grande échelle. Ceci est du principalement au manque de compréhension des différents mécanismes d'action et la complexité des études relatives à l'écologie des populations microbiennes au niveau de la rhizosphère.

Ce problème majeur a incité les chercheurs à mettre en œuvre des études approfondies sur les mécanismes d'action responsables des effets bénéfiques recherchés. Ces mécanismes sont sommairement la compétition pour le fer et le carbone, la production de différents métabolites à effet d'antibiose et /ou à effet de

III- Antagonisme <i>in situ</i>	36
III-1- Dispositif expérimental	36
III-2- Bactérisation et inoculation des plantes	37
III-3- Analyse statistique	38
III-4- Paramètres étudiés	38
III-4-1- Nombre de plants malades	38
III-4-2- Indice de la maladie	38
III-4-3- Sévérité de la maladie	39
IV- Induction de la résistance systémique	39
IV-1- Dispositif expérimental	40
IV-2- Paramètres étudiés	43
IV-2-1- Indice de la maladie	43
IV-2-2- Paramètres de croissance	43
IV-2-2-1- Poids frais et poids secs	43
IV-3- Recherche de l'agent causal	43
V- Etude de la résistance des sols aux fusarioses vasculaires	43
V-1- Bactérisation et infestation du sol	44
V-2- Amendement du sol en fer et en glucose	44
V-3- Semis	44
V-4- Dispositif expérimental	45
Partie 3 : Résultats et discussion	47
I- Production de métabolites secondaires	47
I-1- Production de pigment fluorescent	47
I-2- Production d'acide cyanhydrique	47
I-3- Extraction des antibiotiques	48
II- Antagonisme <i>in situ</i>	51
II-1- Fusariose vasculaire de la tomate	51
II-1-1- Evolution de l'indice de la maladie	51
II-1-2- Evolution de la sévérité de la maladie	52
II-2- Fusariose vasculaire du lin	54
II-2-1- Evolution de l'indice de la maladie	54
II-2-2- Evolution de la sévérité de la maladie	55
II-3- Inhibition des fusarioses vasculaires	57
II-4- Interprétation des résultats	59

biostimulation, à l'exemple des sidérophores, des antibiotiques ainsi que l'induction de la résistance systémique contre les différents agents pathogènes. Les potentialités biologiques des souches bactériennes en assurant ces effets bénéfiques, ne semblent pas intéressantes si les souches n'expriment pas une certaine adaptation aux stress physico-chimiques du sol, notamment au niveau de la rhizosphère.

Une meilleure connaissance des mécanismes et des conditions d'expression des effets bénéfiques permet d'améliorer l'efficacité de la bactérisation et d'assurer la stabilité et la reproductibilité des résultats obtenus. L'objectif de notre travail est l'étude des effets bénéfiques de quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et d'élucider leurs mécanismes susceptibles d'être impliqués dans le processus de la bioprotection des plants vis-à-vis des agents de la fusariose vasculaire.

Notre étude consiste, à partir d'un matériel biologique étudié précédemment (Larbaoui, 1999 ; Benchabane et al, 2000 ; Benzina, 2001) de mettre en évidence les potentialités de certaines souches bactériennes dans la production de métabolites secondaires à effet d'antibiose sur les agents fongiques. Des essais d'évaluation des potentialités de bioprotection chez ces souches bactériennes sont effectués à travers des applications *in situ* en interaction avec la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et avec le lin vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*.

D'autres essais ont été conduits pour permettre la mise en évidence de l'action de ces souches bactériennes dans l'induction de la résistance systémique (IRS) chez des plants de tomate. Pour une compréhension de leurs effets antagonistes au niveau du sol, des essais sur l'évaluation de la résistance des sols aux fusarioses ont été réalisés sous l'effet de l'enrichissement du sol en fer et en glucose.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I- ANTAGONISME MICROBIEN EN LUTTE BIOLOGIQUE

Le principe de l'utilisation des inoculums microbiens comme moyen de contrôle biologique remonte à plusieurs décennies (Campbell, 1983). Le concept de la lutte biologique contre les parasites des plantes a été élucidé avant les années 1960, exclusivement dans un but expérimental sans orientation vers la pratique. C'est en 1963 que Dr J. Risbeth a utilisé l'agent cryptogamique *Peniophora gigantea* (Fr). Massée pour le contrôle de la maladie du pourridie des résineux causée par *Fomes annosum* (Fr.) Karst. (Reddy, 1992).

De nombreuses publications portant sur le contrôle biologique des maladies des plantes soulignent le potentiel des populations bactériennes dans la réduction ou l'inhibition des maladies phytopathogènes. Plusieurs isolats bactériens ont été expérimentés avec succès appartenant à divers genres bactériens tels que : *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Serratia* et *Pseudomonas* (Weller, 1988). L'emploi du potentiel bactérien en lutte biologique a été souvent marquant vis-à-vis des insectes et des maladies cryptogamiques. A la fin des années 1980, on a assisté à la formulation et la commercialisation de quelques préparations microbiennes biocides pour lutter contre les maladies fongiques et bactériennes telluriques sur diverses espèces végétales (Tableau 1).

Les maladies fongiques sont classiquement et en quasi-totalité contrôlée par l'emploi des fongicides. Ces derniers ne sont pas toujours efficaces contre les pathologies d'origine tellurique, telles que les fusarioses vasculaires, les verticillioses, le piétin échaudage ou le chancre bactérien. En plus de leur limite d'action, les incidences néfastes sur la pollution de l'environnement deviennent de plus en plus intolérables (Reddy, 1992). L'intensification des méthodes de lutte chimique a engendré l'apparition et le développement de populations microbiennes parasites de plus en plus virulentes et résistantes à diverses formulations chimiques, citant l'exemple de *Venturia inaequalis* (Cook) wint; *Erysiphe cichoracearum* DC et de *Botrytis cinerea*. Pers. qui sont résistants au benomyl dont son utilisation reste large et très conseillée.

Pour ces raisons d'ordre phytopathologique et pharmaceutique, le contrôle biologique des agents pathogènes par l'utilisation des bactéries antagonistes peut constituer une alternative intéressante pour diminuer l'emploi abusif des produits chimiques (Benizri, 2001).

A partir de la fin des années 1970, plusieurs travaux et publications ont souligné l'existence de fortes potentialités biologiques chez certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans le contrôle biologique des agents fongiques telluriques (Burr et al., 1978, Kloepper et Schroth, 1978 ; Kloepper et al., 1980 ; Stutz et al., 1986 ; Geels et al., 1986). Ce groupe bactérien se caractérise par des facultés d'adaptation dans divers types de sol et surtout au niveau des régions rhizosphériques. A la suite de l'intérêt suscité par ces publications, une grande part des travaux de recherche et d'expérimentation réalisés sur les rhizobactéries est maintenant effectué avec des bactéries appartenant au groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescent qui inclut les espèces *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. La bactérisation des semences, des plantules ou des substrats de cultures induit des effets positifs sur la croissance des plantes et peuvent conférer au système racinaire une protection vis-à-vis des agents pathogènes du sol (Kloepper et al., 1980 ; Suslow, 1982 ; Weller, 1988 ; Reddy et al., 1990 ; Lemanceau, 1992 ; Benizri et al. 2001).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été expérimentés avec succès dans de nombreux essais conduits en condition contrôlées et en plein champs dans des conditions naturelles. Il a été souligné dans la quasi-totalité des travaux que l'antagonisme microbien s'exprime par plusieurs mécanismes comprenant particulièrement la compétition trophique, la production de métabolites secondaires à effet antibiose vis-à-vis des agents phytopathogènes, l'induction de la résistances systémique et la stimulation de la croissance végétales des plantes (Lemanceau, 1992 ; Reddy, 1992 ; Benizri, 2001).

De nombreux essais de bactérisation de sols naturels qui ont été tentés par le passé se sont soldés par des échecs (Digat, 1988). Il ne faut pas nier que l'évidente complexité microbiologique du sol et le manque concernant les critères de sélection des souches bénéfiques jouent également un rôle important (Digat et Gardan, 1987). La sélection de souches performantes de *Pseudomonas* spp. fluorescents ne doit

pas cependant se limiter aux seules activités de production de métabolites secondaires à effet antagoniste et la synthèse de substances de croissance qui seraient de peu d'utilité si ces bactéries ne sont pas aptes à se maintenir et à coloniser le système racinaire de la plante hôte (Lemanceau, 1992). Pour qu'une souche bactérienne stimulatrice soit efficace, il faut qu'elle parvienne à coloniser efficacement la spermosphère ou la rhizosphère (Digat, 1994).

Les bactéries antagonistes peuvent être apportées par l'inoculation des semences selon diverses techniques telles que le trempage, le pelliculage, l'enrobage ou l'encapsulation. Les plantules peuvent être bactérisées par trempage des racines dans une suspension bactérienne lors de la transplantation du végétal. Les sols et les substrats de culture sont bactérisés par des inoculums bactériens conditionnés à l'état liquide ou à l'aide de micro capsules spéciales renfermant les bactéries (Benizri et al., 2001). Plusieurs préparations bactériennes sont commercialisées et utilisées avec succès (Tableau 1).

Tableau 1 : Exemple d'antagonistes microbiens commercialisés pour la lutte biologique contre les maladies des végétaux (Reddy, 1992)

Antagonistes	Pathogènes	Maladies	Cultures
<i>Agrobacterium radiobacter</i> K84	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Tumeurs du collet	horticulture
<i>Peniophora gigantea</i>	<i>Heterobasidium annosum</i>	Pourridie	Conifères
<i>Trichoderma</i> spp	<i>Pythium</i> spp. <i>Phytophthora</i> spp	Fonte des semis	Cultures herbacées
<i>Bacillus subtilis</i> A-13	Plusieurs pathogènes	Maladie des semences	Arachide
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Plusieurs pathogènes des racines et des semences	Maladie des semences	Cultures herbacées

La réussite du développement de la bactérisation nécessite la résolution de certains problèmes clés tels que celui des formulations et des technologies d'application des inoculums (Digat, 1994). Egalement, la compréhension des modes d'action des rhizobactéries et la connaissance approfondie de leurs exigences physiques, métaboliques et biologiques ne peuvent que faciliter la sélection des souches bénéfiques (Digat, 1988).

Les bactéries stimulatrices pourraient offrir progressivement dans un proche avenir une alternative ou au moins un complément aux produits phytosanitaires et aux intrants chimiques, ce qui correspond bien aux contraintes écologiques actuelles et futures (Digat, 1994).

II- IMPORTANCE DES P.G.P.R.

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

Les *Pseudomonas* spp fluorescents sont des rhizobactéries non symbiotiques que l'on rencontre communément dans l'eau, dans les sols et en particuliers au niveau des rhizosphères (Digat et Gardan, 1987). Ces bactéries arrivent à s'installer et s'associer avec plusieurs plantes et induisent des améliorations significatives des rendements (Flavel, 1988 ; Keel, 1991). Elles agissent directement sur les racines en stimulant leurs aptitudes physiologiques ou indirectement en limitant les actions néfastes des agents pathogènes et délétères.

Ce groupe bactérien dont l'effet global et combiné provoque un effet bénéfique pour la plante, est désigné par le vocable anglo-saxon : Plant-growth-promoting Rhizobacteria (PGPR), synonyme de Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Kloepper et Schroth, 1978).

Les *Pseudomonas* spp fluorescents font partie du genre *Pseudomonas* sensu stricto (groupe ARN.I sensu. Palleroni). Le genre *Pseudomonas* appartient à la sous-classe des δ . Proteobacteria et renferme une grande partie des *Pseudomonas* spp fluorescents en plus d'une autre partie de *Pseudomonas* non fluorescents (Palleroni, 1984).

Les *Pseudomonas* spp fluorescents se caractérisent par l'aptitude de synthétiser en situation de carence en fer des sidérophores présentant un groupe chromophore jaune-vert fluorescent sous rayonnement ultraviolet (Palleroni, 1984, 1992). Au sein de ce groupe, les espèces saprophytes à cytochrome oxydase positive telles que *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* se rencontrent à une densité élevée dans des biotopes assez variables (Holloway, 1992 ; Schroth et al., 1992). Les espèces *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* sont prédominantes et peuvent constituer plus de 60% de la microflore bactérienne (Digat, 1994).

Les travaux relatifs à la taxonomie de *P. fluorescens* et de *P. putida* basés sur la caractérisation phénotypique des bactéries par des tests métaboliques, la composition en acides gras et les profils protéiques ont abouti à la subdivision de *P. fluorescens* et de *P. putida*, respectivement, en cinq et en deux biovars distincts (Palleroni, 1984 ; Bossis et al., 2000). La subdivision de ces deux espèces en biovars révèlent les limites de l'identification basée sur les caractères phénotypiques (Bossis, 2000). Pour ces raisons, la majorité des auteurs pour les designer utilisent le groupe *Pseudomonas fluorescens - putida* (Défago et Haas, 1990).

De récents travaux sur la taxonomie de *Pseudomonas fluorescens* et de *P. putida* et des recherches sur leurs écologie microbienne complémentaires soulignent la complexité de leur identification et la nécessité d'une utilisation des méthodes phénotypes plus récentes et autres méthodes génotypiques associées aux diversités écologiques et aux mécanismes d'action de ces bactéries (Bossis et al., 2000).

II-2- Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp fluorescents

Les effets bénéfiques des rhizobactéries (Figure1) sont liés à leur position stratégique dans l'interface sol-racine. En effet, le rhizoplan et la rhizosphère sont le siège d'intenses échanges entre la plante et le milieu environnant (Curl, 1982). Les bactéries ont une action directe sur la plante en améliorant son métabolisme et sa physiologie; également, ces mêmes bactéries agissent sur l'environnement de la plante permettant d'assurer une protection relative du système racinaire contre les agents pathogènes telluriques (Digat et Gardan, 1987 ; Digat, 1994).

II-2-1- Effets directs

II-2-1-1- Stimulation de la croissance

De nombreux travaux font état de la stimulation de la croissance des plantes et de l'amélioration des rendements des cultures après leur bactérisation (Tableau 2). Les effets de la stimulation peuvent intervenir directement dans les différents stades de la croissance du végétal en se traduisant par des gains au niveau de la germination, du fonctionnement et de la croissance du système racinaire et du bilan global en nutrition minérale de la plante (Digat, 1994).

Il a été démontré que la stimulation de la croissance des plantes bactérisées peut être due à la synthèse microbienne de substance de croissance analogues aux phytohormones (Brown, 1974) telles que les auxines et les gibbérellines, les cytokinines et l'éthylène (Frankenberger *et al.*, 1991), l'acide lactique et l'acide succinique (Yoshikawa *et al.*, 1993) et certaines vitamines (Rodelas *et al.*, 1993). Egalement, quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* adhérentes aux racines de légumineuses stimulent le processus de nodulation avec des isolats de *Rhizobium* spp. (Lemanceau, 1992).

Certains travaux ont montré que les sidérophores microbiens spécifiques aux *Pseudomonas fluorescens* peuvent être une source de fer pour les plantes. En effet, le fer ferrique chélaté par les sidérophores peut être assimilé directement par le système racinaire surtout que cet élément est indispensable à une grande partie des activités physiologiques de la plante (Crowley *et al.*, 1987).

Lifshitz *et al.*, (1987) ont associé l'effet bénéfique d'une souche G12-2 de *Pseudomonas putida* sur l'amélioration de l'alimentation de la plante de Colza en phosphore. Les *Pseudomonas* spp fluorescents augmenteraient la croissance en phosphore soluble soit par la minéralisation des phosphates organiques, grâce à des phosphatases, soit par solubilisation des phosphates inorganiques sous l'effet des acides libérés (Krasilnikoy, 1961) ; une partie des phosphates est alors reprise par le système racinaire des plantes (Digat, 1994).

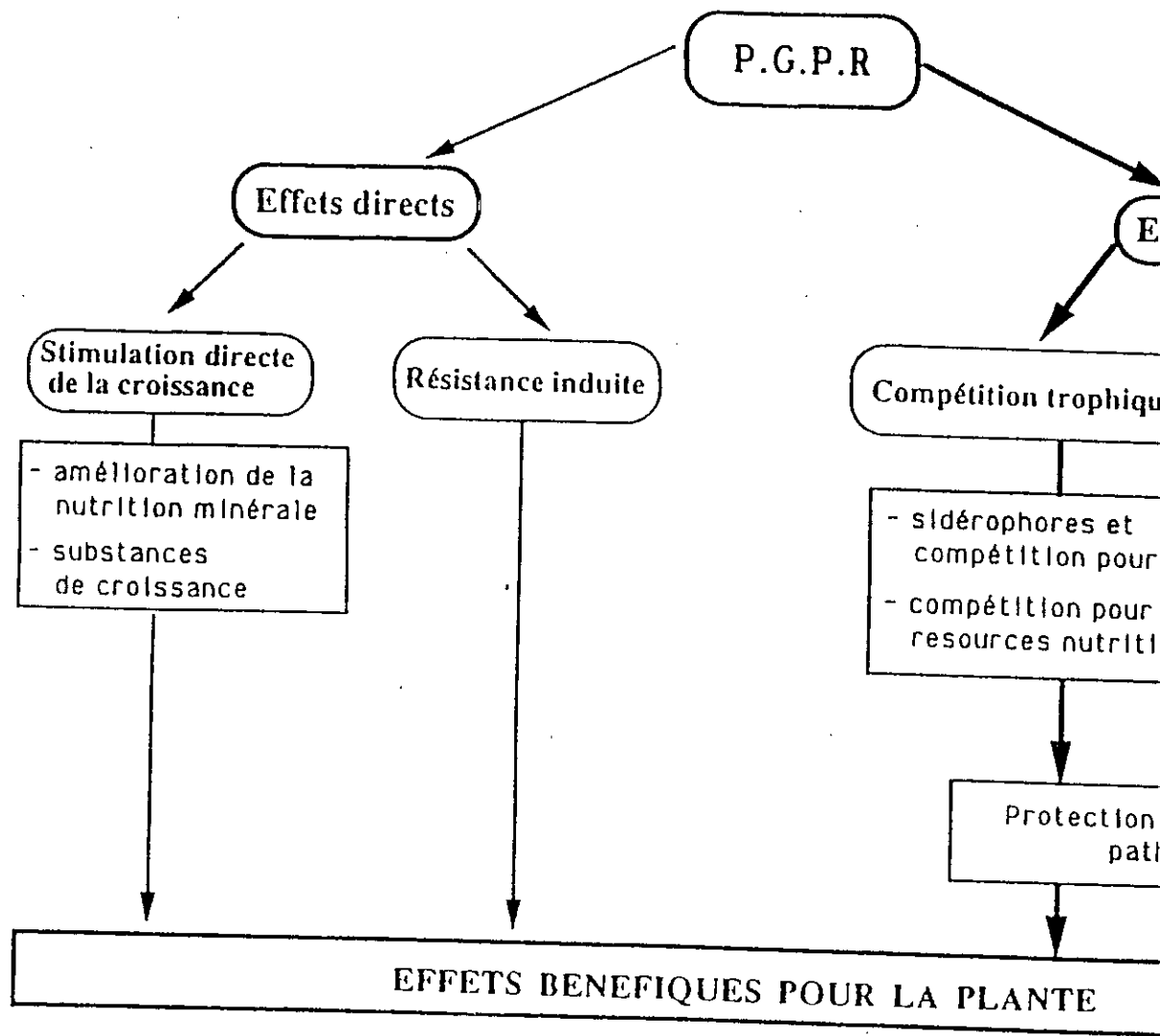


Fig. 1 : Principaux mécanismes d'action des P.G.

Tableau 2 Stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après inoculation de souches de *Pseudomonas* spp fluorescents.

Plante hôte	Conditions expérimentales		Augmentations (% du témoin)		Références
	contrôlées	production	croissance	rendement	
<i>Beta vulgaris</i>	X	X	20 à 69	21 à 77	Suslow et Schroth (1982b)
<i>Brassica campestris</i>	X	X	22 à 65	7 à 19	Lifshitz <i>et al</i> (1987) Kloepper <i>et al</i> (1988)
<i>Citrus</i> sp	X		→ 116		Gardner <i>et al</i> (1984)
<i>Cucumis sativus</i>	X		36 à 58		Van Peer et Schippers (1989)
Espèces florales	X		18 à 41		Yuen et Schroth (1986)
<i>Lactuca sativa</i>	X X		38 à 86 20 à 37		Van Peer et Schippers (1989) Digat <i>et al</i> (1990)
<i>Lycopersicon esculentum</i>	X X		25 à 93 26 à 30		Van Peer et Schippers (1989) Digat <i>et al</i> (1990)
<i>Malus</i> sp plantules porte-greffes	X X	X	23 à 40 2 à 121		Caesar et Burr (1987)
fruits		X		10	Digat <i>et al</i> (1988)
<i>Oryza sativa</i>		X		3 à 160	Saktivel et Gnanamanikam (1987)
<i>Phaseolus vulgaris</i>	X		4 à 28		Lemanceau et Samson (1983)
<i>Raphanus sativus</i>	X	X		→ 567 → 200	Kloepper et Schroth (1978)
	X	X	83 à 320	10-11	Bakker <i>et al</i> (1987) Bakker <i>et al</i> (1986) Burr <i>et al</i> (1978)
	X	X	7 à 367	2 à 24	
<i>Solanum tuberosum</i>	X	X	→ 550		Geels et Schippers (1983) Geels <i>et al</i> (1986) Kloepper <i>et al</i> (1980c)
	X	X	47 à 500	10-15	
		X		1 à 17	
		X		17 à 37	Xu et Gross (1986b)
<i>Triticum</i> sp		X		2 à 26	Weller et Cook (1986)

X indique le type de conditions expérimentales utilisé.

→ indique la valeur maximale de l'augmentation.

Certaines souches bactériennes appartenant au groupe *Pseudomonas* spp. fluorescents semblent améliorer les facultés de germination de graines de colza (Kloepper *et al.*, 1986), des graines de tomate (Digat *et al.*, 1991) et des graines de maïs (Höfte *et al.*, 1991).

II-2-1-2- Induction de la résistance

Il a été reconnu chez ce groupe de rhizobactéries un autre mécanisme s'illustrant par l'induction de la résistance systémique chez les végétaux, phénomène connu sous le terme « induced systemic resistance » (I. R.S.) (Kloepper *et al.*, 1992; Pieterse *et al.*, 1996).

Outre les effets bénéfiques cités précédemment, de nombreux travaux ont mis en évidence l'implication des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans l'induction de la résistance chez les plantes contre différents agents pathogènes fongiques, bactériens et viraux (Van Peer *et al.*, 1991 ; Maurhofer *et al.*, 1994 ; De Meyer, 1997; M'Piga *et al.*, 1997 ; Zehnder *et al.*, 2001).

Ce mécanisme d'induction de la résistance systémique chez les plantes, a été vérifié vis-à-vis de plusieurs pathologies végétales (Tableau 3). Dans le cas particulier des fusarioses de nombreux travaux ont souligné l'efficacité de ces rhizobactéries dans l'amélioration des niveaux de résistance des plantes à l'encontre de différentes formes spéciales de l'espèce *Fusarium oxysporum* et à l'encontre de l'espèce *Fusarium solani* (Kloepper, 1993 ; De Meyer, 1997) Il a été démontré également que ces bactéries peuvent jouer le rôle d'éliciteurs efficaces responsables de l'activation des gènes de défense de la plante (Tuzun et Kloepper, 1995). Ainsi, la plante sensibilisée, sous l'effet de la bactérisation, répond fortement et rapidement à l'attaque microbienne sans perte importante d'énergie (M'Piga *et al.*, 1997).

Dans les travaux réalisés par Lemanceau et Alabouvette (1993), le contrôle biologique du flétrissement fusarien du lin résulte de l'antagonisme microbien exercé durant la phase saprophyte du pathogène et de l'induction de la résistance de la plante hôte durant la phase parasitaire du pathogène.

L'induction de la résistance chez l'œillet à la fusariose vasculaire par la souche WCs417r de *Pseudomonas fluorescens* a été clairement établie par Van Peer et al., (1991). En effet le rôle de l'antagonisme direct entre *Pseudomonas fluorescens* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* dans la protection biologique a pu être exclue expérimentalement grâce à des inoculations séparées dans l'espace par la bactérisation des racines et l'inoculation de la tige par des microconidies du pathogène. Après une semaine de la bactérisation, une réduction significative du nombre de plants malades de l'œillet a été observée par rapport au témoin. La souche WCs417r a été facilement isolée à partir des racines mais jamais à partir des tissus de la tige, ce qui démontre que le contrôle de la maladie n'est pas du à l'antagonisme direct mais à l'induction de la résistance, sachant que le mode d'action du pathogène est quasiment vasculaire.

L'induction de la résistance peut se traduire par des modifications structurales des parois végétales telles que la lignification des parois cellulaires (Anderson et Guerra, 1985) et le dépôt de callose (Kloepper et al., 1993). L'introduction des PGPR dans la plante peut entraîner également des changements physiologiques et biochimiques aboutissant à la synthèse et à l'accumulation d'une panoplie de substances antimicrobienne telles que les phytoalexines (Van Peer et al., 1991), les composés phénoliques (M'Piga et al., 1997), l'augmentation de l'activité des protéines PR, les chitinases, β -1.3-glucanases (Hynes et Lazarovits, 1989), les peroxydases-phénylalanine ammonia-lyase (PAL) et la chalcone synthase (Zdor et Anderson, 1992).

Maurhofer et al., (1994) ont signalé la présence de protéines PR, Viz, PR-1a, 1b-1c, endochitinase et 1.3-glucanase dans le liquide intercellulaire des feuilles du tabac cultivées en présence de la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens*.

Tableau 3 : exemples d'induction de la résistance systémique chez quelques plantes vis-à-vis de différents agents pathogènes par des souches de *Pseudomonas* fluorescents.

Plante hôte	Agent pathogène	Références
concombre	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Colletotrichum orbiculare</i> • <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> • <i>Pythium aphanidermatum</i> • <i>Erwinia tracheiphila</i> • Virus de la mosaïque du concombre (C.M.V). 	<ul style="list-style-type: none"> - Wei et al., 1991 - Wei et al., 1991 - Zhou et al., 1994 - Zehnder et al., 2001 - Liu et al., 1992
Haricot	<ul style="list-style-type: none"> • <i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> • <i>Fusarium solani</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Alström, 1991 - Anderson et Guerra, 1985
Radis	<ul style="list-style-type: none"> • <i>F.o.f.sp. raphani</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Leeman et al., 1995
Riz	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pyricularia oryzae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Vildhyasekaran et al., 1997; Meena et al., 1999
Tabac	<ul style="list-style-type: none"> • Virus de la nécrose sur tabac (T.N.V.) 	<ul style="list-style-type: none"> - Maurhofer et al., 1994
Tomate	<ul style="list-style-type: none"> • <i>F.o.f.sp. radidis lycopersici</i> • <i>F.o.f.sp. lycopersici</i> • Virus de la moucheture de la tomate (To.Mo.V) 	<ul style="list-style-type: none"> - M'Piga et al., 1997 - Duijff et al., 1998 - Zehnder et al., 2001
oeillet	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>dianthi</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Duijff et al., 1993 ; Van Peer et al., 1991.

Selon M'Piga et al., (1997), les barrières mécaniques et les substances toxiques comme les phytoalexines et les composés phénoliques constituent les premiers moyens de défense qui devanent l'accumulation des chitinases et autres enzymes lytiques tels le β -1.3-glucanase qui complète la désintégration des cellules fongiques.

D'autres travaux ont également signalé que certaines souches de PGPR présentent la capacité d'antagonisme et d'inhibition, via l'induction de la résistance systémique de plusieurs agents pathogènes aussi bien fongiques que bactériens inféodés au feuillage (Fodor et al., 1997 ; Liu et al., 1995 et Hoffland et al., 1995).

La bactérisation des feuilles de riz par la souche P.f-1 de *P.fluorescens* quatre jours avant son inoculation par *Pyricularia oryzae* a provoqué une réduction significative de l'intensité de la maladie (Vidhyasekaran *et al.*, 1997 ; Meena *et al.*, 1999).

Hoffland *et al.*,(1996) a montré qu'un prétraitement de plantules de radis (*Raphanus sativus*) avec *P.fluorescens* induit une résistance systémique non seulement vis-à-vis du champignon tellurique *Fusarium oxysporum* f.sp.*raphani*, mais aussi vis-à-vis de bactéries pathogènes de *Pseudomonas syringae* pv. tomato associées au feuillage et vis-à-vis d'autres agents fongiques, à l'exemple d'*Alternaria basicola* et de *F.oxysporum*.

II-2-2- Effets indirects

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines «la rhizosphère ». Les microorganismes trouvent en effet dans ce biotope des substrats énergétiques libérés par les racines qu'ils peuvent rapidement assimiler. Dans cet environnement complexe, les interactions entre les microorganismes et la plante sont variables et interviennent sur plusieurs plans.

Un des mécanismes responsables des effets bénéfiques de certaines souches de *P. spp. fluorescents* repose sur l'activité antagoniste qu'ils exercent à l'encontre de microorganismes pathogènes agents responsables de maladies et d'altération de la physiologie et de la croissance végétale.

II-2-2-1- Modification des équilibres microbiens

L'utilisation de bactéries antagonistes pour lutter contre les maladies d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Schroth et Hancock, 1982; Leong, 1986; Neilands et Leong, 1986; Flavel, 1988 ; Lemanceau, 1992) (Tableau 4).

Tableau 4 Exemples de protection de quelques cultures par certaines souches du groupe *Pseudomonas fluorescens-putida*. Mattar (1993).

Plante hôte	Maladie	Agent pathogène	Références
Betterave <i>Beta vulgaris</i>			
Blé <i>Triticum spp</i>	Pourriture racinaire piétin échaudage	<i>Pythium ultimum</i> var <i>sporangiferum</i> <i>gramini</i> var <i>tritici</i>	Becker et Cook., 1988 Weller et Cook., 1986 Brisbane et Rovira., 1988 Weller et Cook., 1983 Weller et al., 1988 Keel et al., 1992 Kloepper, 1983 Wong et Baker., 1984
Colza <i>Brassica campestris</i>	nécrose et pourriture racinaire	<i>Rhizoctonia solani</i>	Dahiya et Woods, 1987
Coton <i>Gossypium spp.</i>	fonte de semis	<i>Rhizoctonia solani</i> <i>Pythium spp.</i>	Howell et Stipanovic, 1979 Howell et Stipanovic, 1980 Loper, 1988
Cultures légumières	fonte de semis fusarioses Anthracnose	<i>Pythium spp.</i> <i>Fusarium oxysporum</i> spp. <i>Fusarium solani</i> f.sp. <i>Phaseoli</i> <i>Colletotrichum</i> <i>lagenarium</i>	Elad et Chet, 1987 Kraus et Loper, 1992 Paulitz et Loper, 1991 Scher et Baker, 1982 Park et al., 1988 Lemanceau et alabouvette, 1991 Vandenbergh et al., 1983 Anderson et Guerra, 1985 Wei et al, 1991
Lin <i>Linum usitatissimum</i>	fusarioses	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.lini	Scher et Baker, 1980,1982
Maïs <i>Zea mays</i>	fonte de semis	<i>Pythium spp.</i>	Callan et al., 1990
Oeillet <i>Dianthus</i> <i>caryophyllus</i>	fusarioses	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.dianthi	Yuen et al., 1985 Van Peer et al., 1991
Pois chiche <i>Cicer arietinum</i>		<i>Pythium spp.</i>	Kaiser et al., 1989
Pomme de terre <i>Solanum tuberosum</i>	verticilliose pourriture des récoltes jambe noire flétrissement	<i>Verticillium dahlia</i> <i>Erwina carotovorra</i> <i>Pseudomonas</i> <i>solanacearum</i>	Leben et al., 1987 Colyer et Mount, 1984 Xu et Gross, 1986 Kloepper, 1983 Rhodes et Logan, 1986 Kemp et Sequeira, 1983
Tabac <i>Nicotiana tabacum</i>	pourriture racinaires	<i>Thielaviopsis</i> <i>bassicola</i>	Stutz et al., 1986 Reddy et Patrick, 1992
Tulipe	pourriture des racines et tubercules	<i>Pythium spp.</i>	Weststijn, 1990
Tournesol <i>Helianthus annuus</i>	fonte de semis	<i>Sclerotinia</i> <i>sclerotiorum</i>	McLoughlin et al., 1992

Parmi les modes d'action des *Pseudomonas* spp. fluorescents antagonistes, la compétition et l'antibiose ont été particulièrement étudiés. La compétition peut s'instaurer pour l'espace et pour les nutriments. Ainsi, Suslow (1982) suggère que les PGPR seraient capables d'exclure les rhizobactéries délétères (DRB : Deleterious Rhizobacteria) de certaines niches écologiques où la production d'exsudats racinaires est un fait majeur et décisif.

Même si le rôle de la compétition pour l'espace ne peut pas être complètement exclu, l'essentiel des travaux relatifs à la compétition instaurée par les *Pseudomonas* spp. fluorescents porte sur la compétition trophique et en particulier sur la compétition pour le fer, comme en attestent les différentes synthèses bibliographiques relatives à ce sujet (Heming, 1986; Leong, 1986; Loper et Buyer, 1991), cette compétition s'exerce principalement par le biais de sidérophores qui peuvent stimuler directement la croissance des plants par l'augmentation de la disponibilité du fer assimilable aux alentours des racines ou indirectement par le pouvoir compétitif en privant les autres microorganismes phytopathogènes de ces ions indispensables à leur activité biologique. Ainsi privés de fer, les microorganismes pathogènes se trouveraient dans des conditions limitant leur croissance (Leong, 1986; Seong et Shin, 1996).

La plupart des *Pseudomonas* spp. fluorescents exercent des actions d'antibiose également contre les agents pathogènes en synthétisant des composés antibiotiques tels que 2.4-diacétylphloroglucinol, les phénazines, la pyrrolnitrine, ou de cyanure d'hydrogène. Certaines souches produisent des enzymes lytiques telles que les chitinases ou β -1.3-glucanase, aptes à dégrader la chitine et les glucanes de la paroi des champignons (O'Sullivan et O'Gara, 1992).

II-3- Mécanismes d'action

les principaux mécanismes d'action induisant les effets bénéfiques sont relatifs à des effets directs ou des effets indirects sur le végétal. Les effets directs concernent la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante ; alors que les effets indirects concernent la modification des équilibres des populations microbiennes pathogènes au profit des agents utiles (Lemanceau, 1992).

II-3-1- Sidérophores

Les microorganismes sont souvent exposés dans le sol à une carence en fer due à son insolubilité dans les conditions d'aérobic et même à l'intérieur de leurs hôtes végétaux (Crichton, 1991)

Pour assimiler le fer et survivre dans ces conditions, les microorganismes utilisent divers mécanismes dont le plus commun est la production de sidérophores et leurs récepteurs membranaires (Neilands, 1995). Le terme sidérophore (en grec, porteur de fer) désigne des composés du métabolisme secondaire à faible poids moléculaire, soluble dans l'eau et caractérisés par leur affinité au Fe^{3+} (Neilands, 1981 et 1995).

Les sidérophores sont sécrétés dans le milieu extérieur pour chélater et piéger le fer et le ramener à l'intérieur de la cellule bactérienne (Crowley *et al.*, 1991; Guerinot, 1994). La diversité des structures entre les différents types de sidérophores est parfaitement considérable et dépend des spécificités génomiques des microorganismes producteurs (O'Sullivan et O'gara, 1992).

Les sidérophores des deux espèces *P. fluorescens* et *P. putida* se traduisent *in vitro* par l'émission d'un pigment fluorescent appelé "Pyoverdines" (Meyer et Abdallah, 1979) ou "Pseudobactine" (Teintze *et al.*, 1981) qui forment avec le fer ferrique (Fe^{3+}) un complexe ferripyoverdine ou ferripseudobactine.

Chez le groupe *Pseudomonas fluorescens* – *putida*, la compétition pour les ions de fer assimilable sont souvent corrélés avec la suppression des maladies par le biais du phénomène de compétition trophique à l'égard de cet élément vis- a- vis des agents phytopathogènes. Dans une autre étude, la souche Ps 88 de *P. fluorescens* ainsi que son sidérophore purifié ont montré un effet inhibiteur de la croissance *in vitro* de *Pythium ultimum*, de *Pyricularia oryzae*, de *Rhizoctonia solani* et une réduction de 50% de l'incidence de la maladie due au *Fusarium* (Seong et Shin, 1996).

II-3-2- Antibiotiques

Le genre *Pseudomonas* est considéré parmi les groupes microbiens producteurs d'antibiotiques regroupant les microorganismes non filamenteux et non sporogènes (Leisinger et Margraff, 1979). La production de composés antimicrobiens par plusieurs souches de *Pseudomonas* a été reconnue comme un facteur majeur

dans la suppression de plusieurs pathogènes des racines (O'Sullivan et O'gara, 1992). Le rôle des antibiotiques a été mis en évidence grâce à l'utilisation de mutants ne produisant pas ces derniers (Jayaswal et al., 1990). Linberg (1981) a établi un spectre d'activité d'un antibiotique, la tropolone, synthétisé par une souche de *Pseudomonas fluorescens*. Cet antibiotique manifeste des propriétés antagonistes à l'encontre de différents genres fongiques: *Alternaria*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Pyricularia*, *Pythium* et *Rhizoctonia*.

Egalement, deux antibiotiques ont été mis en évidence par Howell et Stipanovic (1979 et 1980), la pyoluteorine et la pyrrolnitrine, synthétisés par la souche Pf.s de *P. fluorescens* se caractérisant par des activités inhibitrices de la croissance *in vitro* de *Pythium ultimum*, de *Rhizoctonia solani* et d'autres espèces fongiques.

Autres composés antimicrobiens synthétisés par les P.G.P.R. tels que l'acide phénazine 1-carboxylique chez la souche 2-79 de *P. fluorescens* est responsable de l'activité antagoniste à l'encontre de *Gaeumannomyces graminis var tritici* (Thomashow et Weller, 1988). Cet antibiotique synthétisé également par d'autres souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents est efficace contre les différents champignons cités précédemment (Brisbane et al., 1989). De même Keel et al., (1992) ont démontré que 2.4- diacetylphloroglucinol synthétisé par la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens* est en partie responsable de la protection du blé contre *Gaeumannomyces graminis var tritici* et du tabac contre *Thielaviopsis basicola*.

La production d'acide cyanhydrique par certaines souches de *P. fluorescens* peut aussi influencer les pathogènes des racines des plantes (O'Sullivan et O'gara, 1992). La protection du tabac et du blé vis-à-vis de quelques pathogènes telluriques a été assurée par la souche CHAO productrice d'HCN (Voisard et al., 1989).

III- Action des PGPR sur les fusarioses vasculaires

1- Importance des fusarioses vasculaires

Les fusarioses vasculaires sont des trachéomycoses provoquée par diverses formes spéciales de l'espèce *Fusarium oxysporum*, induisant des symptômes typiques de flétrissement fusarien sur une gamme d'hôtes de plantes assez large.

Ces maladies provoquent un flétrissement brusque et des jaunissements suivi de nécroses. Sur des plantes ramifiées, certaines branches peuvent être entièrement flétries alors que d'autres restent à moitié saines ou totalement saines. Ces symptômes sont en relation avec l'envahissement du système vasculaire par les champignons provoquant l'obstruction totale des vaisseaux. Des coupes transversales dans les rameaux révèlent fréquemment des brunissements des vaisseaux résultant de l'activité des champignons qui y séjournent (Messiaen et al., 1990).

L'espèce *Fusarium oxysporum*, agent des maladies vasculaires se rencontre dans de nombreux types de sols et représente 40% à 70% de la flore fusarienne tellurique (Synder et Hansen, 1954). Il y a un niveau de spécificité élevé entre la plante hôte susceptible et les souches de *F.oxysporum* pathogènes. Cette spécificité est caractérisée chez les formes spéciales et les races de *Fusarium oxysporum* (Armstrong et Armstrong, 1981).

Le genre *Fusarium* appartenant à la classe des Hyphomycètes, se caractérise par la production de microconidies, de macroconidies et de chlamydospores (Larryl et al., 1993).. Ce genre renferme un grand nombre d'espèces telluriques qui peuvent être pathogènes, parasites ou saprophytes en association avec diverses plantes (Djerbi, 1988).

Le cycle biologique de ce champignon comprend une phase saprophyte et une phase parasitaire (Nelson, 1981; Beckman, 1989). En absence de la plante hôte, *F. oxysporum* est capable de survivre par la formation de chlamydospores qui se conservent très longtemps et souvent très profondément dans le sol (Schippers et Van Eck, 1981). Les chlamydospores en état de dormance reprennent la vie active sous l'effet des exsudations racinaires de l'hôte (Schroth et Hildebrand, 1964). Dans des conditions assez suffisantes en approvisionnement nutritionnel, le mycélium peut

infecter les racines des plantes hôtes sensibles et colonisent le système vasculaire (Beckman, 1989). Ainsi, la phase parasitaire se termine souvent, par la mort des plantes infectées. Le cycle biologique reprend de nouveau par la phase saprophyte qui commence par la dissémination du champignon sous forme de macroconidies ou de microconidies à partir des plants malades (Alabouvette et Lemanceau, 1988). Ce cycle peut être constitué d'une période unique correspondant à une reproduction asexuée continue qui se renouvelle et se perpétue sous forme conidienne (Walker, 1961).

Les trachéomycoses restent encore mal contrôlées et continuent à causer des dégâts et des pertes considérables. La gravité de ce genre de maladie réside surtout dans la nature de l'agent causal, ses mécanismes d'actions et ses potentialités de conservation dans le sol (Coutaudier et Alabouvette, 1981; Lemanceau, Alabouvette, 1991). Dans de telles situations, les techniques classiques de lutte chimique et la recherche de cultivars résistants restent insuffisantes pour la maîtrise de ces maladies.

La lutte chimique contre ces maladies par l'utilisation de fongicides est très difficile non seulement à cause de la répartition des chlamydo-spores, à de grandes profondeurs et sur de vastes étendues, mais aussi à cause du coût élevé des opérations de lutte (Messiaen et al., 1990). L'utilisation intensive des fongicides provoque un déséquilibre microbiologique du sol et une augmentation de la pollution de l'environnement tellurique. La recherche de variétés résistantes est souvent vouée à l'échec par l'apparition de nouveaux pathotypes et races de pathogènes qui arrivent à surmonter cette résistance (Meena et al., 1999).

Ces dernières années, un intérêt a été porté sur l'étude expérimentale et pratique des potentialités bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents en bioprotection des cultures vis-à-vis des fusarioses vasculaires.

2- Effets des PGPR sur les fusarioses vasculaires

L'utilisation des PGPR en agriculture peut être envisagée dans l'objectif de lutte biologique contre les champignons pathogènes du sol. Des progrès récents de purification et d'identification de métabolites synthétisés par les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont démontré que la suppression des fusarioses vasculaires est liée à

production d'antibiotiques et à la compétition trophique, en particulier la compétition pour le fer (M'Piga, 1997).

Selon Seong et Shin (1996), la souche PS88 de *Pseudomonas fluorescens* et son sidérophore purifié provoquent une réduction de 50% de l'incidence de la maladie due à *Fusarium oxysporum*. L'introduction de pyoverdine dans le sol détermine une diminution du taux de germination des chlamydospores des *Fusarium*.

L'antibiose exercée par les PGPR a été mise en évidence *in vitro* et *in situ* en confrontant des souches de *Pseudomonas* productrices de composés antimicrobiens et des agents phytopatogènes. Selon plusieurs travaux, les composés antimicrobiens clefs regroupant les phénazines (Thomashow et Weller, 1988) et 2,4-diacetylphloroglucinol (Keel et al., 1989 ; Shanahan et al., 1992) sont impliqués dans la résistance des sols aux fusarioses vasculaires (Alabouvette et al., 1996).

Un autre mécanisme développé par les bactéries promotrices de la croissance est l'induction de la résistance systémique. Cette dernière a été montrée dans de nombreux cas pour lutter efficacement contre des champignons affectant les racines des plantes tels que *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*, *F.o.f.sp. cucumerinum* sur concombre (Benizri et al., 2001) ; *F.o.f.sp. raphani* sur radis (Leeman et al., 1995) ; *F.o.f.sp. lycopersici* sur tomate (Duijff et al., 1998).

L'ensemble de ces mécanismes qui se traduit par une réduction importante des populations microbiennes pathogènes favorise une meilleure disponibilité en ressources nutritives influençant positivement les capacités d'absorption du système racinaire ainsi que l'état physiologique général de la plante (Lemanceau, 1992).

IV- LES SOLS RESISTANTS AUX FUSARIOSES VASCULAIRES

Mis en évidence dès la fin du siècle dernier Atkinsou,(1892), le phénomène de résistance des sols aux fusarioses vasculaires a été largement étudié (Toussoun, 1975; Alabouvette, 1986; Alabouvette et Lemanceau, 1996). Les sols résistants sont des sols défavorables au développement de certaines maladies nonobstant la présence naturelle des agents pathogènes responsables de ces maladies. Ces sols sont aussi nommés sols suppressifs par opposition aux sols permissifs où les maladies se développent rapidement. Parmi les plus connus de ces types de sols, les sols résistants aux maladies causées par: *Pythium* sp. , *Phytophthora cinnamomi*, *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*, *Gaeumannomyces graminis* Var. *tritici* et *Fusarium oxysporum* (Schneider, 1982 ; Cook et Baker, 1983).

Un sol résistant à la maladie est un sol dans lequel la sévérité de la maladie reste limitée malgré la forte densité de l'inoculum de l'agent causal, la susceptibilité de la plante et les conditions environnementales favorables à son développement, alors que le sol sensible développe une sévérité importante de la maladie en présence d'une faible densité d'inoculum (Alabouvette, 1986). La réceptivité du sol aux agents pathogènes telluriques reflète la capacité d'un sol de permettre à un pathogène de se développer, de persister et d'exprimer sa pathogénéicité sur la plante hôte (Alabouvette *et al.*, 1982).

Plusieurs cas de sols à caractère suppressif vis-à-vis de différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* ont été étudiés et exploités dans des activités agronomiques, notamment les sols de la région de Châteaurenard (France) (Louvet *et al.*, 1976 ; Alabouvette, 1986), et les sols de salinas valley (Californie) (Scher et Baker, 1980 ; Baker *et al.*, 1986).

Dans certains travaux sur la fusariose vasculaire, il a été relevé l'effet des propriétés physico-chimiques du sol sur le développement de cette infection (Amir et Alabouvette, 1993; Höper et Alabouvette, 1996). La microflore naturelle du sol a un effet prépondérant sur les propriétés de résistance des sols au développement des fusarioses (Scher et Baker, 1980; Cook et Baker, 1983).

IV-1- Effets des facteurs biotiques sur la résistance des sols

Dans des essais sur des sols résistants, le pouvoir suppressif a été inhibé suite à des traitements à la chaleur humide. Les mêmes constatations ont été observées après les traitements chimiques par incorporation de méthylbromure, et physiques à l'aide de rayons γ . Ces différents types d'actions létales pour les activités biologiques indiquent clairement l'implication des activités microbiennes dans le caractère suppressif ou conducteur de maladie (Alabouvette *et al.*, 1977; Rouxel *et al.*, 1977; Scher et Baker, 1980). D'ailleurs, l'effet suppressif peut être restauré par l'addition d'une petite quantité de sol suppressif en un sol conducteur déjà traité à la chaleur (Louvet *et al.*, 1976; Scher et Baker, 1980; Schneider, 1984).

Les sols résistants aux fusarioses vasculaires limitent l'incidence et la sévérité des maladies fusariennes sur le bananier, l'œillet, le concombre, le coton, le lin, le cantaloup et la tomate. Malgré la diversité des cultures, cette résistance peut être spécifique aux flétrissements fusariens; elle est exprimée contre toutes les formes spéciales de *Fusarium oxysporum* et non pas à l'encontre d'autres agents pathogènes telluriques comprenant les espèces de *Fusarium* non vasculaires (Smith et Snyder, 1971; Toussoun, 1975; Alabouvette *et al.*, 1980).

Cette action spécifique démontre l'existence d'un mécanisme particulier qui affecte seulement l'activité de *Fusarium oxysporum*. La suppression spécifique (Cook et Baker, 1983) est attribuée à un groupe particulier de microorganismes antagonistes, comme *Fusarium oxysporum* non pathogène (Rouxel *et al.*, 1979; Larkin *et al.*, 1993) ou *Pseudomonas* spp. fluorescents (Scher et Baker, 1982; Lemanceau et Alabouvette, 1988 ; Larkin *et al.*, 1993).

La compétition pour les éléments nutritifs reste le principal mécanisme d'action chez les microorganismes antagonistes impliqués dans le phénomène de résistance des sols (Alabouvette et Lemanceau, 1996). Les espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents qui ont un rôle majeur dans cette résistance (Kloepper *et al.*, 1980) produisent des sidérophores qui réduisent la disponibilité du fer. Les sidérophores bactériens ont une grande affinité et forment des complexes plus stables avec le fer que les fusarinines synthétisées par *Fusarium* spp (Emery, 1965) (Figure 2). Dans telles conditions de carence en fer, les chlamydospores des *Fusarium* ne peuvent plus germer ; ainsi que l'élongation de leurs tubes germinatifs,

provoquant des limitations de leur développement de leur reproduction (Elad et Baker, 1985). Le rôle des antibiotiques a été mis en évidence grâce à l'utilisation de mutants ne produisant pas ces derniers (Jayaswal et al., 1990).

La compétition pour le fer par la production de sidérophores chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents est responsable de la réduction de la croissance *in vitro* de *Fusarium* spp. et dans le sol (Elad et Baker, 1985). Egalement, Loper et Lindow (1993) ont montré que les pyoverdines produits par la souche JL3551 de *Pseudomonas fluorescens* sont responsables de la suppression de 95% de la maladie causée par *Pythium ultimum* sur coton.

Le métabolisme microbien dans la rhizosphère dépend des sources de carbone disponible (Loper et Schroth, 1986). La compétition pour l'énergie conditionne également le niveau de réceptivité des sols aux fusarioses. Un enrichissement des sols avec le glucose provoque une augmentation de la maladie (Lemanceau et al., 1988).

La compétition pour les éléments nutritifs joue un rôle primordial dans les mécanismes de la résistance des sols ; cependant il n'est pas possible d'écarter l'implication d'autres modes d'action comme l'antibiose. Cette dernière se manifeste par la production de métabolites antimicrobiens tels que les antibiotiques, les enzymes lytiques, les bactériocines et les composés volatils (Alabouvette et al., 1996).

La production de 2,4 - diacétylphloroglucinol et de cyanure d'hydrogène par la souche CHAO, isolée à partir d'un sol naturellement résistant est responsable de la suppression de la pourriture racinaire noire du tabac causée par *Thielaviopsis basicola*. Egalement, les phénazines produits par les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sont responsables de la résistance des sols au piétin échaudage. Ces antibiotiques ont été aussi impliqués dans la suppression de *Septoria tritici* et *Tilletia laevis* sur blé. En effet, cet antibiotique n'est pas produit seulement *in vitro* mais il a été détecté dans la rhizosphère du blé (Thomashow et al., 1990).

Beaucoup d'expérimentations ont montré que l'introduction des souches sélectionnées de *Fusarium oxysporum* non pathogènes ou de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans les sols conducteurs ou substrats de culture augmente leurs niveaux de résistance (Kloepper et al., 1980; Van Peer et al., 1990).

Les bactéries appartenant aux *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent divers types de métabolites qui sont plus ou moins toxiques vis-à-vis de champignons et de bactéries phytopathogènes (Défago, 1990).

Fusarium oxysporum non pathogène qui est aussi impliqué dans la résistance des sols n'a pas montré de modes d'action autre que la compétition pour les éléments nutritifs, la compétition pour les sites d'infection et l'induction de résistance de la plante (Alabouvette *et al.*, 1992).

Ainsi, Weller et Cook (1983), puis Pierson et Weller (1990) ont montré que l'inoculation simultanée de deux souches différentes de *Pseudomonas* spp. fluorescents assure une meilleure protection du piétin que dans le cas de l'inoculation avec l'une de ces deux souches bactériennes. De même, la protection contre la fusariose de la tomate est mieux assurée par l'association d'une souche de *Fusarium* non pathogène et d'une souche de *Pseudomonas* fluorescent par rapport aux inoculations de ces deux agents séparément (Lemanceau et Alabouvette, 1991).

Compte tenu de la diversité et de la complexité des interactions entre la microflore du sol et la plante, plus les mécanismes mis en œuvre seront variés plus l'efficacité de l'inoculation microbienne sera assurée. Cet objectif est atteint par l'utilisation de souches microbiennes aptes à synthétiser différents métabolites intéressants et l'association d'autres souches exerçant des mécanismes d'action complémentaires (Lemanceau, 1992).

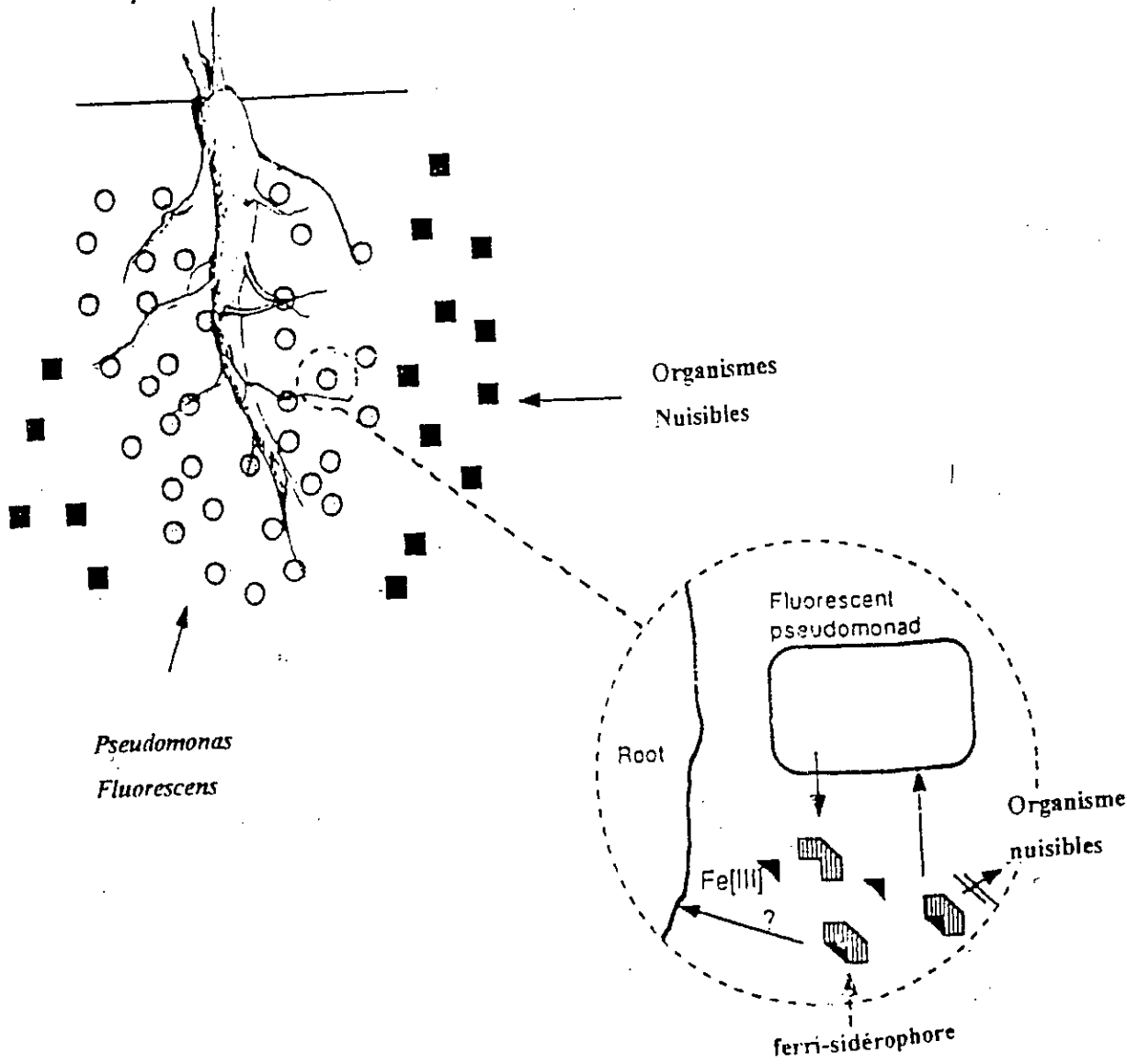


Figure 2 : Compétition vis-à-vis du fer dans la rhizosphère.

IV-2- Effets des facteurs abiotiques sur la résistance des sols

La résistance des sols n'est pas indépendante des propriétés physiques et chimiques du sol qui peuvent avoir un rôle direct ou indirect. Ces propriétés abiotiques peuvent favoriser l'activité de la biomasse microbienne ou influencer la balance entre les agents pathogènes et leurs antagonistes spécifiques (Alabouvette *et al.*, 1996). Parmi les propriétés édaphiques impliquées dans la résistance des sols, la texture, la structure, le pH, la température, la nature des argiles et la concentration en micro-éléments sont les plus citées (Stotzky, 1986).

Il y a souvent absence de corrélation entre l'antagonisme microbien exprimé *in vitro* et *in situ*. Selon Kraus et Loper (1992), la pyolutéorine a été responsable de l'antagonisme *in vitro* de la souche Pf-5 de *Pseudomonas fluorescens* contre *Pythium* et a montré une faible suppression de la fonte de semis sur concombre. Les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents doivent rencontrer un environnement favorable à leur survie et à l'expression de leurs activités spécifiques recherchées (Lemanceau, 1992).

Stuz *et al.*, (1989) ont en effet établi que la souche CHAO se révèle être un agent de lutte biologique efficace uniquement si elle est introduite dans un sol ou un substrat comportant la vermiculite qui est une argile particulière. Ce substrat semble présenter une concentration en fer disponible suffisamment élevée pour permettre la synthèse bactérienne d'acide cyanhydrique (Keel *et al.*, 1989). Bahme et Schroth (1987) ont également montré que la colonisation bactérienne est influencée par la texture du sol. Ainsi, les argiles contribueraient à protéger les bactéries des stress hydriques (Dupler et Baker, 1984). Selon Amir et Alabouvette (1993), l'addition de 25% de montmorillonite, argile qui favorise la croissance bactérienne, était suffisante pour rendre le sol sablonneux d'une palmeraie suppressif à la fusariose du palmier dattier.

Les maladies induites par les espèces *Aphanomyces*, *Phytophthora*, *Verticillium* et *Fusarium* sont plus fréquentes en sols compacts (Miller *et al.*, 1974). Ces derniers sont moins aérés et montrent une grande résistance à la pénétration des racines de la plante ce qui les prédispose plus aux attaques des microorganismes pathogènes (Kuan, 1980).

Les sols résistants aux fusarioses vasculaires sont habituellement alcalins. La disponibilité du fer est affectée par le pH; à des pH élevés, il y a une réduction de la concentration de Fe^{3+} , ce qui favorise la production de sidérophores et augmente la compétition pour cet élément (Lindsay *et al.*, 1991).

La température affecte également la croissance bactérienne et la production de sidérophores *in vitro* ainsi que la colonisation racinaire (Digat et Mattar, 1990). Selon ces mêmes auteurs, la synthèse de sidérophores est obtenue seulement à des températures inférieures à 28°C. La température influence également la synthèse d'antibiotiques; la production de oomycine par la souche HV37a de *Pseudomonas fluorescens* était optimale à la température de 20°C faible à une température de 16 à 24°C (Guetterson *et al.*, 1988).

L'humidité du sol est un facteur très important pour la survie des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la rhizosphère (Howie *et al.*, 1987). Ces mêmes auteurs précisent que la sensibilité aux variations du potentiel hydrique du sol est supérieure chez une souche introduite par rapport aux populations microbiennes autochtones.

La disponibilité des micro-éléments tels que : Fe, Cu, Mg, Zn aux microorganismes et à la plante est impliquée dans la résistance des sols à diverses maladies (Tableau 5).

La matière organique du sol peut contenir des substances actives comme les vitamines, les régulateurs de croissance, les antibiotiques ou les toxines. Ainsi, la composition de la matière organique du sol peut influencer la balance microbienne et sa résistance à l'installation et au développement des agents pathogènes (Alabouvette *et al.*, 1996).

Selon Hornby (1983), il y a une résistance à long terme observée pendant des décennies qui est due probablement à la stabilité des propriétés du sol, cette résistance disparaît rapidement avec le changement des pratiques culturales. Alors que la résistance à court terme résulte d'un changement rapide des conditions d'environnement du au chaulage et à la fertilisation et aux travaux du sol.

Tableau 5 : Relation entre la disponibilité des micro-éléments et la résistance des sols aux maladies (Alabouvette et al., 1996)

Maladie	Agent pathogène	Micro éléments	Références
Fusariose de l'œillet	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>f.sp. dianthi</i>	Fe (faible)	Scher et Baker, 1982
Fusariose du lin	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>f.sp. lini</i>	Fe(faible)	Lemanceau et al., 1988
Fusariose de la tomate	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>f.sp. lycopersici</i>	Mn, Zn, Fe (faible)	Woltz et Jones, 1972
Gale commune de la pomme de terre	<i>Streptomyces scabies</i>	Mn (élevé)	Mc Gregor et Wilson, 1964
Piétin échaudage du blé	<i>Gaeumannomyces</i> <i>graminis var tritici</i>	Zn, Fe, Cu et Mn élevé	Reis et al., 1982
Nécrose racinaire de pois	<i>Aphanomyces</i> <i>enteiches</i>	Cu, Zn,(élevé)	Lewis, 1973
Nécrose racinaire de l'avocatier	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	Mn et Fe (élevé)	Broadbent et Baker, 1974

MATERIELS ET METHODES

I- MATERIELS BIOLOGIQUES

I-1- Isolats bactériens

Sur la base des résultats obtenus dans les travaux précédents (Larbaoui, 1999 ; Benchabane^{al},2000 ; Benzina,2001), nous avons sélectionné cinq souches de *Pseudomonas fluorescens* (tableau 6) qui ont montré des activités antagoniste importantes.

Les souches de référence citées dans de nombreuses publications (Tableau 6), nous ont permis d'établir des études comparatives dans certaines étapes de notre travail expérimental. La souche D2 de *Pseudomonas putida* a fait l'objet de plusieurs expérimentations (Lemanceau,1992) et a montré des aptitudes de biocontrôle fortement appréciable.

La souche CHAO est citée souvent par référence à sa panoplie de métabolites à effet antibiotique, démontrée dans plusieurs études((Défago et *al.*, 1990 Haas et *al.*,1991). Pour corréler l'action de quelque métabolites secondaires, nous avons utilisé des mutants de la souche CHAO qui sont :

- La souche CK4 déficiente en production de pyoverdines.
- La souche CK6 déficiente en production en diacetylphloroglucinol.
- La souche CK7 déficiente en production d'acide cyanhydrique.

La pureté des souches bactériennes a été vérifiée sur le milieu B de King KB (King et *al.*, 1954) (annexe 1). Les cultures pures sont conservées à 4°C.

I-2- Isolats cryptogamiques

Pour la réalisation des essais relatifs aux activités antagonistes, trois isolats cryptogamiques ont été utilisés dans nos essais, il s'agit de l'isolat F.ol de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, agent de la fusariose vasculaire de la tomate ; l'isolat F.oln de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*, agent de la fusariose vasculaire du lin et l'isolat F.oa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier (Tableau 7).

Tableau 6 : Origine des souches de *Pseudomonas*

Souches	Plantes hôtes	Origine géographique
P64	Rhizosphère de l'abricotier	Mitidja (Algérie)
S64	Rhizosphère du palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)
S20	Rhizosphère du palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)
S7	Rhizosphère du palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)
S66	Rhizosphère du palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)
CHAO	Rhizosphère du tabac	Suisse
CK4	Rhizosphère du tabac	Suisse
CK6	Rhizosphère du tabac	Suisse
CK7	Rhizosphère du tabac	Suisse
D2	Rhizosphère de la tomate	France

Tableau 7: Origine des Isolats cryptogamiques

Isolats	Plante hôte	Origine géographique
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lini</i> (F.olin)	Lin	Dijon (France)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (F.ol)	Tomate	Dijon (France)
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>albedinis</i> (F.oa)	Palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)

La vérification de la pureté des souches fongiques a été réalisée après une série de repiquage successif du disque de chaque isolat cryptogamique sur milieu PDA (Jonsthor et Booth, 1983) (Annexe 1). Après une semaine d'incubation à 30°C, des isolats purs ont été obtenus.

I-3- Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé est la tomate, *Lycopersicum esculentum* Mill, (var Marmande) procurée de l'institut d'agronomie de Blida, et le lin, *Linum usitassinium*, (var opaline) procurée du laboratoire de pathologie du sol (INRA - Dijon - France).

Les graines de tomate et du lin sont désinfectées par trempage dans l'eau javellisée à 6° pendant 20 minutes. Après plusieurs rinçages avec de l'eau distillée, les grains sont déposés sur un papier filtre pour le séchage. Une fois séchées, les graines sont déposées dans des pots contenant un mélange de deux parts de sol désinfecté et d'une part de tourbe. L'arrosage se fait quotidiennement avec de l'eau courante.

I-4- Sol

Le sol utilisé dans notre expérimentation est prélevé au niveau de la station expérimentale de l'institut d'agronomie de Blida à partir d'une parcelle non cultivée au moins depuis cinq années. Les caractéristiques physico-chimiques du sol sont présentées dans le tableau 8.

Tableau 8: Caractéristiques physico-chimiques du sol utilisé

Caractéristiques physico-chimiques	Taux (%)
- Matières organiques	3.80
- Phosphore	470 ppm
- Fer	0.70 - 1.30 mg
- PH	7.49
- Humidité hygroscopique	2.05
- Texture	Limono-sableuse

Après tamisage et élimination d'éléments grossiers, le sol a été désinfecté par autoclavage à une température de 120°C pendant une heure. Cette opération de désinfection a été effectuée trois fois afin de réussir à éliminer le maximum de formes végétatives.

II- PRODUCTION DE METABOLITES SECONDAIRES

II- 1 Production de sidérophores

II-1-1 Production de pigment fluorescent

Les souches bactériennes âgées de 24h sont cultivées sur milieu B de King. La lecture des résultats est effectuée par la recherche éventuelle d'une diffusion d'un pigment fluorescent dans le milieu, après incubation à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 à 96 h. Quand l'intensité de ce pigment est forte, il est observable à l'œil nu; dans le cas de faible intensité il faut faire recours aux observations sous lumière ultra – violette.

II- 2 Production d'acide cyanhydrique

Selon la méthode décrite par Voisard *et al.*, (1989), les souches bactériennes âgées de 24 h sontensemencées sur milieu King B additionné de 4,4 g/l de glycine.

Un fragment de papier filtre stérile trempé dans une solution stérile d'acide picrique à 0,5% et de carbonate de sodium à 2% est déposé aseptiquement sur la surface interne du couvercle de chaque boîteensemencée. L'incubation est effectuée pendant 4 jours à 25°C . Nous avons effectué deux répétitions pour chaque souche bactérienne.

La production d'HCN se traduit par une décoloration du papier filtre en orange – brun. L'évaluation de l'intensité de production d'HCN est effectuée relativement aux proportions de décoloration du papier filtre.

II-3 Production d'antibiotiques

L'extraction des antibiotiques a été effectuée à partir des cultures de la souche S20, S66 et S7 de *P. fluorescens*.

Des Erlenmeyers d'un volume de 500 ml, contenant 100 ml de milieu ont été inoculés par 3ml de suspension bactérienne. L'incubation est réalisée à la température de 25°C à l'aide d'un shaker, en agitation continue à 150 tr/minute pendant 72 heures.

II-3-1 Extraction des antibiotiques

Après trois jours d'incubation en milieu liquide de King B, les cultures sont centrifugées à 5000 tours/minute ^{rpm} afin de permettre la séparation entre le surnageant et le culot cellulaire. L'extraction a été effectuée à partir du surnageant avec l'utilisation de l'acétate d'éthyle comme solvant organique. (Ce dernier a été choisi sur la base des résultats intéressants enregistrés ^{dans} des expériences précédentes (Larbaoui, 1999).)

A l'aide d'une ampoule à décanter, l'acétate d'éthyle est additionné à un volume égal au filtrat, la mixture obtenue par une agitation manuelle de l'ampoule est soumise à une décantation pour permettre la séparation entre la phase organique et la phase aqueuse. La phase organique est récupérée et évaporée sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif à 40°C. Le résidu sec est récupéré dans 0.6 ml de méthanol avant d'être soumis à une antibiographie pour connaître ses activités antifongiques.

II-3-2 Tests d'activités par antibiographie

Les tests d'antibiographie sont effectués avec les extraits organiques des souches de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de trois isolats fongiques à savoir *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F.o.* f.sp. *lini* et *F.o.* *albedinis*.

Pour chaque souche bactérienne, à l'aide d'une microseringue, des disques de papier filtre (Wattman N°3) de 6 mm de diamètre sont imprégnés par l'extrait organique à raison de 40 µl/disque. Le dépôt se fait par fraction progressive en utilisant un séchoir électrique à froid.

Les disques séchés et exposés pendant 30 minutes sous UV sont déposés aseptiquement à la surface du milieu PDA en boîte de Pétri contenant 12 g/l d'Agar et préensemencés avec l'isolat fongique. Les boîtes de Pétri sont placées à 4°C pendant 2 heures afin de permettre la diffusion des antibiotiques dans le milieu et l'inhibition momentanée de la croissance mycélienne. Après incubation à 30°C pendant 24 à 48 heures, la lecture des résultats est effectuée par la mesure du diamètre des zones d'inhibition en mm (diamètre du disque compris).

III- ANTAGONISME *IN SITU*

Les essais d'antagonisme *in situ* ont été effectués avec les souches P64, S64, S20, CHAO, CK4, CK6 et CK7 de *P. fluorescens* vis-à-vis de l'isolat cryptogamique: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* agent du flétrissement fusarien de la tomate. Vis-à-vis de l'isolat *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* agent du flétrissement fusarien du lin, les essais ont été réalisés avec les souches P64 et S20 de *Pseudomonas fluorescens*.

Les essais d'antagonisme *in situ* ont été réalisés en interaction avec des plantules de lin et de tomate conduites sous serre en verre. Les plantules sont issues de semis de graines, désinfectées au préalable, à raison d'un plant par pot (figure 3).

III-1- Dispositif expérimental

Le dispositif adopté pour les essais de l'antagonisme *in situ* est un dispositif en blocs aléatoires complets. L'essai est réalisé en trois blocs, dans chaque bloc figurent quatre à neuf traitements selon la culture effectuée. Chaque traitement est représenté par une ligne de cinq pots, dans chaque bloc, soit 15 plants par traitement.



Figure 3 : Disposition des plants

Les traitements en question sont :

- Sur la culture de tomate:

T(-) : Témoin négatif: témoin sain: plants inoculés avec l'eau stérile.

T(+): Témoin positif: témoin malade: plants inoculés avec la suspension fongique de F.ol.

- T₁: Plants inoculés par la suspension F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche CK4
- T₂: Plants inoculés par la suspension fongique de F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche CK6
- T₃: Plants inoculés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche P64
- T₄: Plants inoculés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche CK7.
- T₅: Plants inoculés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche S64
- T₆: Plants inoculés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche CHAO
- T₇: Plants inoculés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche S20

- sur la culture de lin :

T(-): Témoin négatif: témoin sain: plants inoculés avec l'eau stérile.

T(+): Témoin positif: plants malades: plants inoculés avec la suspension fongique de F.oln.

T₁: Plants inoculés par la suspension fongique F.oln et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche P64

T₂: Plants inoculés par la suspension fongique F.oln et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche S20

III-2 Bactérisation et inoculation des plants

Les plants de tomate ou de lin au stade plantule sont bactérisés avec la suspension bactérienne des souches antagonistes et infestés par la suspension conidienne des isolats cryptogamiques.

La bactérisation des plants a été réalisée par des suspensions bactériennes préparées à partir de crèmes bactériennes âgées de 24 heures prélevées sur milieu King B. La concentration des suspensions bactériennes est déterminée en se référant après mesure de la densité optique, à une longueur d'onde de 620 nm, aux courbes étalons réalisées par Toua (1996) et Benzina (2001) (annexe 2). Chaque pot est bactérisé avec 3ml de la suspension bactérienne de 10^6 C.F.U/ml.

Après quatre jours de la bactérisation, l'infestation des plants a été effectuée par des suspensions conidiennes de l'agent fongique à la concentration approximativement de l'ordre de 10^7 conidies/g de sol à raison de 3ml/pot.

III-3- Analyse statistique

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

III-4- Paramètres étudiés

III-4-1- Nombre de plants malades

Les observations de l'expression des symptômes et du développement de la maladie ont débuté après 10 jours de l'inoculation par les suspensions fongiques.

Selon la symptomatologie typique du flétrissement fusarien, nous avons adopté une échelle composée de cinq classes représentant des symptômes caractéristiques de la maladie qui sont :

- 0 : Pas de symptômes.
- 1 : léger flétrissement basal.
- 2 : flétrissement unilatéral.
- 3 : flétrissement généralisé.
- 4 : mortalité du plant.

III-4-2- Indice de la maladie

Le suivi de l'évolution de la maladie est basée sur deux paramètres: le nombre de plants malades exprimant le taux d'infection et la gravité de la maladie exprimée par la sévérité des symptômes apparus. Le plant est considéré malade dès l'apparition des symptômes de la classe 1. L'indice de la maladie s'exprime comme suit:

$$I(\%) = (\text{Total de plants malades} / \text{Total de plants observés}) \times 100.$$

I(%): Indice de maladie (en pourcentage).

III-4-3- Sévérité de la maladie

La sévérité de la maladie en se basant sur l'échelle d'infection citée ci dessus, est exprimée selon la formule décrite par Fuchs et Défago(1991).

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

S(%): sévérité de la maladie en pourcentage

N: nombre total de plants observés

T: valeur du degrés le plus haut, en l'occurrence est de 4.

E: classe de symptôme qui varie de 0 à 4

a: nombre de plants malades à la classe considérée.

IV- INDUCTION DE LA RESISTANCE SYSTEMIQUE

L'essai de l'induction de la résistance systémique chez la tomate vis-à-vis de *F.o lycopersici* a été effectué avec quatre souches P64 , CHAO, C:K4, de *Pseudomonas fluorescens* et la souche D2 de *Pseudomonas putida*.

Nous avons effectué des inoculations séparées dans l'espace par la bactérisation d'une partie du système racinaire par la suspension bactérienne à une concentration de 10^6 C.F.U./ml et l'infestation de l'autre partie par la suspension fongique à une concentration de 10^7 conidies/ml (figure 4). Les suspensions bactériennes et fongiques ont été apportées à raison de 10 ml/pot.



(photo : Paulitz, 1998)

Figure 4 : Séparation du système racinaire en deux parties

MATERIELS ET METHODES

IV-1 Dispositif expérimental

Le protocole expérimental utilisé est inspiré de celui décrit par Liu et *al.*, (1995) et utilisé par Djuiff et *al.*, (1997). Au stade plantule, les plants sont dépotés et secoués pour éliminer les particules du sol adhérentes au système racinaire, et à l'aide d'un scalpel stérile, on réalise une incision au niveau de la coiffe du système racinaire d'un plant jusqu'à la base du collet. Cette opération permet la séparation du système racinaire en deux parties, chaque partie est transplantée dans un pot à part (figure 5 et 6).

Les traitements ont été organisés selon un dispositif en blocs aléatoires complets (figure 7). L'essai est réalisé en trois blocs et chaque bloc comprend 11 traitements. Chaque traitement est représenté par une ligne de cinq plants, soit 15 plants par traitement, Les traitements étudiés sont :

T(-) : Témoin négatif: plants sains, inoculés par l'eau stérile.

T(+): Témoin positif: plants malades, inoculés par la suspension fongique de *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (F.ol).

[T(+)] : Inoculation de la partie (A) par la suspension fongique et la partie (B) par de l'eau stérile.

T₁ : Plants infestés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de la souche CK4.

T₂ : Plants infestés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de P64 .

T₃ : Plants infestés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne de S20.

T₄ : Plants infestés par la suspension fongique F.ol et bactérisés par la suspension bactérienne D2.

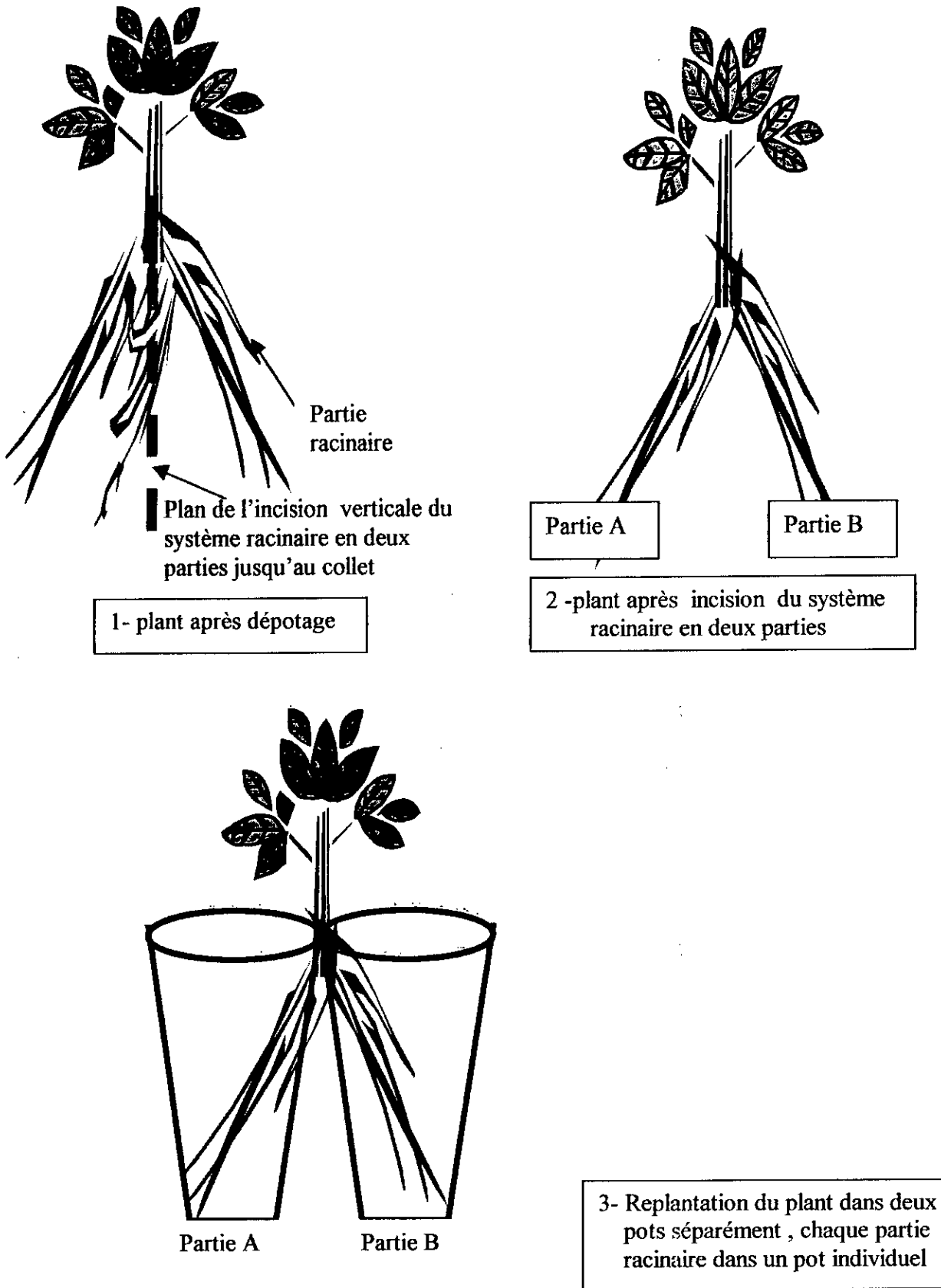


Figure 5 : Technique de séparation du système racinaire pour la bactérisation et l'infestation des plants



Figure 6 : Plant bactériisé et infesté et replanté dans deux pots séparés

Les plants conditionnés en deux parties (A) et (B) (figure5) ont été infestés par le pathogène et/ou bactérisation par l'agent antagoniste selon les traitements suivant :

- T₅ : Infestation de la partie (A) par la suspension fongique F.ol et bactérisation de la partie (B) par la suspension bactérienne de la souche CK4.
- T₆ : Infestation de la partie(A) par la suspension fongique F.ol et bactérisation de la partie (B) par la suspension bactérienne de la souche P64.
- T₇ : Infestation de la partie (A) par la suspension fongique Fol et bactérisation de la partie (B) par la suspension bactérienne S20.
- T₈ : Infestation de la partie (A) par la suspension fongique F.ol et la bactérisation de la partie (B) par la suspension bactérienne de la souche D2.



Figure 7 : Dispositif expérimental de l'essai de l'induction de la résistance systémique

IV-2- Paramètres étudiés

IV-2-1- Indice de la maladie

Les observations de l'expression des symptômes ont été effectuées après un mois de la bactérisation par la suspension bactérienne et infestation par la suspension fongique. L'évolution de la maladie est basée sur le nombre de plants malades exprimant le taux d'indice d'infection. Cet indice est calculé comme suit :

$$I(\%) = \frac{\text{totale de plant}}{\text{total de plant observé}} \times 100$$

I(%) : Indice de la maladie (en pourcentage).

IV-2-2- Paramètres de croissance

IV-2-2-1- Poids frais et poids secs de la plante

Après dépotage, la partie racinaire est éliminée et la partie aérienne du plant est immédiatement déposée sur la balance pour déterminer son poids frais. Le poids sec est déterminé après passage du plant mis dans des sachets en papier à température de 70°C pendant 5 jours.

VI-3-Recherche de l'agent causal

La vérification de la présence de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* a été effectué par isolement à partir des fragments du collet des plants de tomate des traitements étudiés. A l'aide d'un scalpel désinfecté, nous avons découpé les fragments du collet approximativement de deux à trois centimètres. Ces derniers préalablement désinfectés à l'eau javellisée et rincer à l'eau stérile sont aseptiquement déposés sur milieu PDA. L'observation de colonies fongiques est effectuée après une semaine d'incubation à 30°C.

V- ETUDE DE LA RESISTANCE DES SOLS AUX FUSARIOSES VASCULAIRES

Cet essai consiste à étudier la résistance des sols à la fusariose vasculaire du lin provoquée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*. Selon le concept des sols résistants, nonobstant la présence de l'agent pathogène et des conditions favorables à son développement, la maladie reste limitée. Pour évaluer l'expression de la fusariose, nous avons infesté les sols par des inoculums fongiques F.olin.

Dans ces mêmes sols nous avons effectué des modifications microbiologiques par leur bactérisation par les souches P64,CK4 de *Pseudomonas fluorescens* et des modifications nutritionnelles par des additifs en fer et en glucose, afin d'étudier leur impact sur leur niveaux de résistance.

V-1- Bactérisation et Infestation du sol

La résistance des sols aux fusarioses vasculaires est en relation avec la densité de l'inoculum fongique et la présence des souches bactériennes antagonistes. Pour cela, l'infestation du sol a été effectuée par des apports d'inoculum fongiques à des concentrations croissantes de $10^3, 10^5$ conidies/g de sol. Chaque concentration est apportée à raison de 10ml/pot.

La bactérisation a été réalisée par l'inoculation de 10ml/pot de la suspension bactérienne dans le sol à une concentration de 10^6 C.U.F. /ml.

V-2- Amendement du sol en fer et en glucose

La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires varie en fonction de la disponibilité en fer et en glucose assimilable. La disponibilité en fer a été modifiée par des apports en fer sous forme de chélates de fer (Fe EDTA: Acide, Ethylène diamine tetracétique) à des concentrations croissantes 0 μ l/g ; 0,5 μ l/g ; 1 μ l/g. Le glucose en solution a été apporté à des concentrations de 0 μ g/g ; 0,5 μ g/g ; 1 μ g/g. Chaque concentration soit en fer ou en glucose a été apporté à raison de 10ml/pot.

V-3- Semis

Après toutes les opérations d'inoculation des suspensions fongiques, de bactérisation par des suspensions bactériennes et d'amendements du sol en fer et en glucose, nous avons réalisé le semis à raison de 10 graines par pot contenant 300 g de sol stérilisé au préalable.

V-4- Dispositif expérimental

Les différents traitements étudiés ont été répartis selon un dispositif expérimental en blocs aléatoires complets avec deux répétitions pour chaque traitement (figure 8 et 9). L'essai représente la combinaison de quatre facteurs étudiés:

- 1^{er} facteur: Variation de la concentration de l'inoculum fongique: avec trois niveaux :
 - (C1) : absence d'inoculums fongiques.
 - (C2) : inoculation du sol par une concentration de 10^3 conidies/g de sol.
 - (C3) : inoculation du sol par une concentration de 10^5 conidies/g de sol.

- 2^{ème} facteur: La bactérisation: avec trois niveaux :
 - (NB) : sol non bactérisé.
 - (B1) : sol bactérisé avec la souche P₆₄ de *P. fluorescens*
 - (B2) : sol bactérisé avec la souche CK₄ *P. fluorescens*.

- 3^{ème} facteur: Variation de la concentration du fer: représentée par trois traitements :
 - (F1) : sol non amendé.
 - (F2) : sol amendé avec une concentration de 0,5 μ l/g de sol.
 - (F3) : sol amendé avec une concentration de 1 μ l/g de sol.

- 4^{ème} facteur: Variation de la concentration du glucose représentée par trois traitements :
 - (G1) : sol non amendé par le glucose.
 - (G2) : sol amendé avec une concentration de 0,5 μ g/g de sol
 - (G3) : sol amendé avec une concentration de 1 μ g/g de sol.

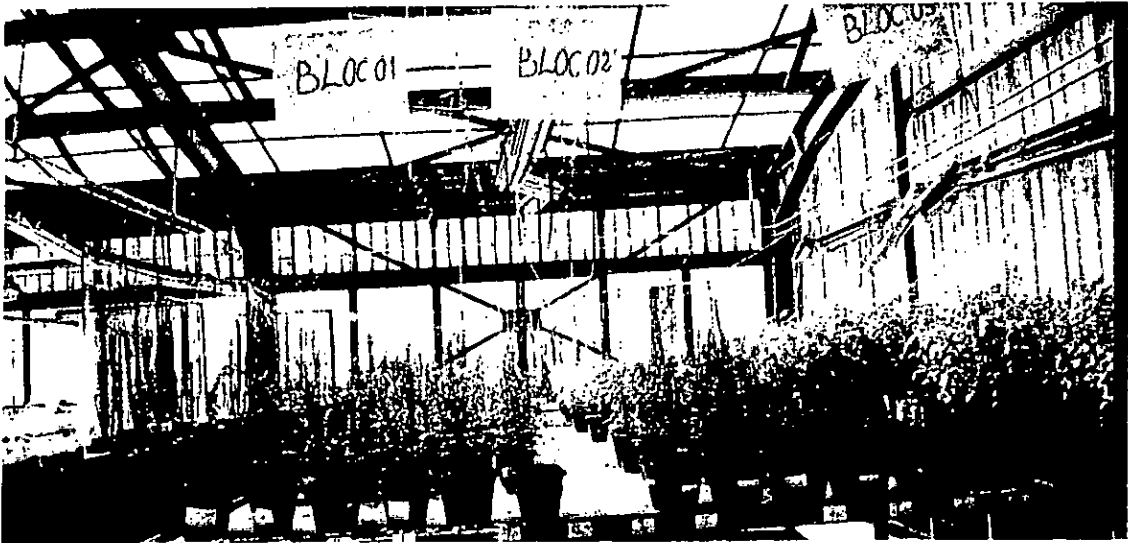


FIGURE 8

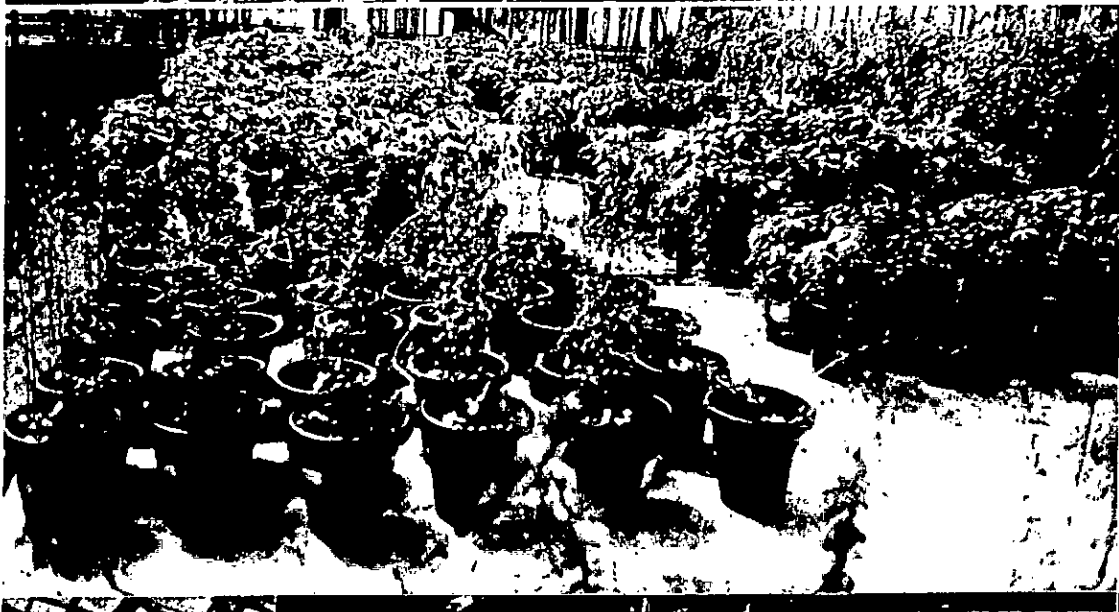


Figure 9

Figures 8 et 9: Dispositif expérimental de l'essai de la résistance des sols

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

I- PRODUCTION DE METABOLITES SECONDAIRES

I-1 Production de pigment fluorescent

Les souches de *Pseudomonas fluorescens* sont fluorescentes à l'exception de la souche CK4. Cette pigmentation traduisant une production de sidérophores est visible à l'œil nu. L'intensité de la fluorescence est variable selon les souches testées.

I-2 Production d'acide cyanhydrique

Les souches bactériennes cultivées en milieu KB additionné de glycine présentent une bonne croissance. Celle ci peut être due à l'enrichissement du milieu par un élément nutritif tel que la glycine ; sachant bien que les acides aminés peuvent être utilisés comme complément trophique pour un meilleur développement et croissance. Au moment, de l'incubation, une odeur particulière est dégagée des boîtes ensemencées et qui vire de plus en plus vers l'acidité.

Après 24 à 48h d'incubation, Les souches CHAO, CK4 et CK6 présentent une production moyenne d'HCN. Le reste des souches P64, S20, S66, S64 et S7 produisent faiblement ce gaz.

Après 72h d'incubation, la plupart des souches présentant une production importante à l'exception de la souche CK7 qui n'a montré aucune trace de production d'acide cyanhydrique(tableau 8).

Nous avons remarqué d'après les résultats obtenus, que la majorité des souches bactériennes testées sont productrice d'HCN en présence de glycine. Voisard et al.,(1989) considèrent la glycine comme un précurseur de la synthèse bactérienne d'HCN. Egalement, il a été mis que le métabolisme des *Pseudomonas* est influencé par les nutriments mis à leur disposition(Leisinger et Margratt, 1979).

Tableau 8 : Production d'acide cyanhydrique par les souches de *Pseudomonas* spp fluorescents

Souches	Période d'incubation		
	24h	48h	72h
P64	+	+	+++
S20	+	+	+++
S66	+	+	+++
S64	+	+	+++
S7	+	+	+++
CHAO	++	++	+++
CK4	++	++	+++
CK6	++	++	+++
CK7	-	-	-
D2	+	+	+++

-: pas de production d'HCN ; + : Faible production d'HCN ;
 ++ : moyenne production d'HCN ; +++ : forte production d'HCN.

I-3- Extraction des antibiotiques

D'après les résultats d'antibiographie (Tableau 9)(figure 10), les souches de *Pseudomonas fluorescens* testés présentent des activités d'antibiose assez importante vis-à-vis des isolats cryptogamiques.

Les zones d'inhibition de diamètre de 20 à 21.5 mm indiquent des actions antagonistes importantes vis-à-vis de l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* par l'ensemble des souches bactériennes.

Vis-à-vis de l'isolat *F.o lini*, la plus faible activité antifongique a été obtenue par la souche S20 en assurant une zone d'inhibition de 12mm. Les souches S7 et S66 ont provoqué les zones d'inhibition les plus élevées respectivement de 21mm et de 19mm.

Vis-à-vis de l'isolat *F.o lycopersici*, la plus importante zone d'inhibition de 20mm a été enregistrée par la souche S7, le reste des souches S66 et S20 ont provoqué respectivement des zones d'inhibition de 16mm et de 14mm vis-à-vis des trois isolats.

Tableau 9 : Résultats d'antibiographie des extraits des souches S20, S66 et S7 de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de trois isolats fongiques.

Isolats fongiques Souches bactériennes	<i>F.o albedinis</i>	<i>F.o lini</i>	<i>F.o lycopersici</i>
S20	21.5	12	14
S66	20	19	16
S7	21	21	20

Note : Les valeurs représentent les diamètres d'inhibition (en mm) y compris le diamètre du disque en papier.

D'après les résultats obtenus (Tableau 8), nous avons constaté la sensibilité des isolats cryptogamiques aux extraits des souches de *P. fluorescens* testées. Nous pouvons dire que ces souches bactériennes sécrètent dans le milieu King B des substances actives antibiotiques capables d'inhiber la croissance mycélienne de ces champignons.

Selon Maurhofer et al., (1992), la souche CHAO de *P. fluorescens* produit de la pyolutéorine sur milieu King B et du 2,4 diacetylphloroglucinol sur milieu à l'extrait de malt.

La plupart des antibiotiques synthétisés par *Pseudomonas* spp fluorescents sont des phénazines (Thomashow et Weller, 1988; Lemanceau, 1992), des dérivés de pyrrol (à exemple, pyrrolnitrine) (Budzikiewiez,1993), des dérivés d'indole (à exemple acétates indole) (Défago et al., 1990). Ces antibiotiques peuvent être aussi des dérivés lipidiques (acide pseudomonique)(Chain et Mellows, 1977),des peptides (Sperabillines), et 2,4,6-triacetylphloroglucinol (Keel et al.,1990; Shanahan et al., 1992; Budzikiewiez,1993) .

Plusieurs études attribuent aux *Pseudomonas* spp. fluorescents des actions d'antibiose sur la microflore pathogène ou délétères (Wong et Baker, 1984 ; Weller, 1988 ; Défago et Haas, 1990).

Des travaux réalisés avec ces souches bactériennes (Benzina, 2000; Mendes, 2000) ont montré une activité antagoniste *in vitro* très importante des souches S20, S66 et S7 de *P. fluorescens* à l'encontre des isolats fongiques *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, *Fusarium oxysporum f.sp. lini* et *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*. Cette activité antagoniste peut être liée aux actions d'antibiose exercées par ces souches bactériennes, ce qui est confirmé par les résultats obtenus au cours de notre essai.

Egalement, Ziegler et Correl (1988) rapportent que la souche NP774 de *P. fluorescens* produit un composé appelé "Fusarimycine" qui inhibe *in vitro* de nombreuses formes spéciales de *Fusarium oxysporum* et réduit l'infection racinaire des plants de céleri par *F.o f.sp. apii*.

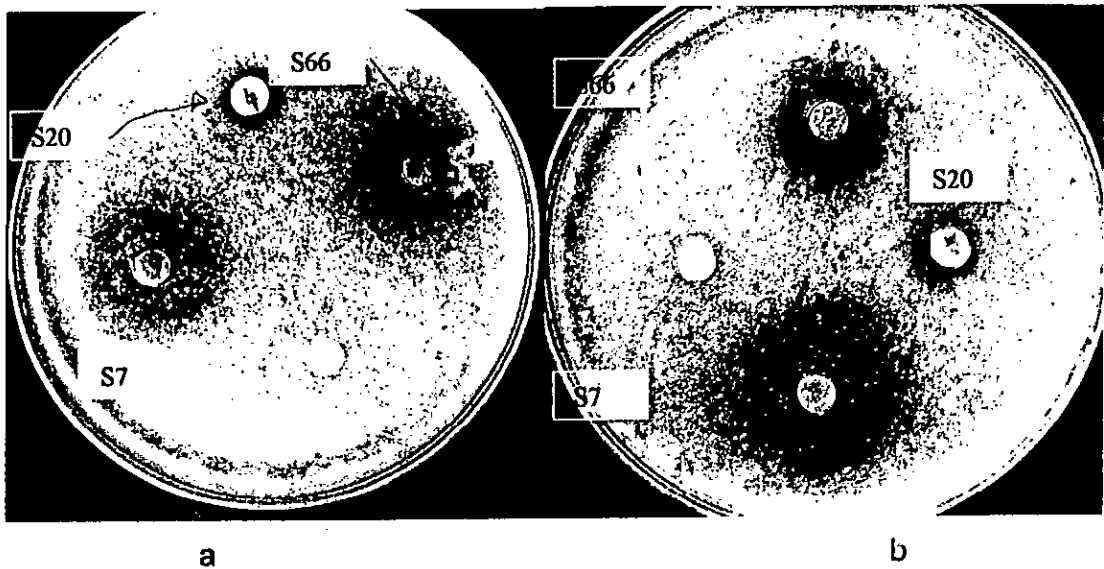


Figure 10 : Antibiographie des extraits des souches S20 , S66 et S7 de *Pseudomonas fluorescens* vis à vis de (a) *Fusarium oxysporum f.sp. lini* et (b) *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*



II- ANTAGONISME *IN SITU*

II-1- Fusariose vasculaire de la tomate

II-1-1 Evolution de l'indice de la maladie

D'après les résultats obtenus (tableau10), nous avons remarqué que la bactérisation des plants de tomate avec les souches bactériennes a permis de réduire considérablement le nombre de plants malades par rapport au témoin positif. Le plus faible indice de 21% de la maladie a été obtenu avec la souche P₆₄. Dans le cas des traitements bactérisés, le taux le plus élevé de 50% a été enregistré par la souche CK₄. Les autres souches bactériennes ont enregistré des indices allant de 30% à 46%. Le maximum d'indice de 71% a été enregistré chez le témoin.

Tableau 10 : Evolution de l'indice de la maladie (%) en fonction du temps

Traitements	Jours après inoculation				
	10j	14j	17j	21j	26j
CK4+F.ol(T1)	28	28	42	42	42
CK6+F.ol(T2)	15	23	23	23	30
P64+F.ol(T3)	0	7	7	7	21
CK7+F.ol(T4)	25	25	25	33	50
S64+F/ol(T5)	20	25	35	35	35
CHAO+F.ol(T6)	8	8	16	16	33
S20+F.ol(T7)	6	20	26	26	46
F.ol T(+)	14	28	28	57	71
Eau T(-)	0	0	0	0	0

Dans le cas des traitements bactérisés, l'évolution de l'indice de la maladie est moins importante que celle du témoin positif (figure 11). Notons que pour le cas des souches P64 et CHAO, l'évolution de la maladie s'est déclenchée d'une manière très lente et même négligeable par rapport au témoin positif dont l'évolution de la maladie a été très rapide avec un indice de 57% au 21^{ème} jour d'inoculation et de 71% au 26^{ème} jour.

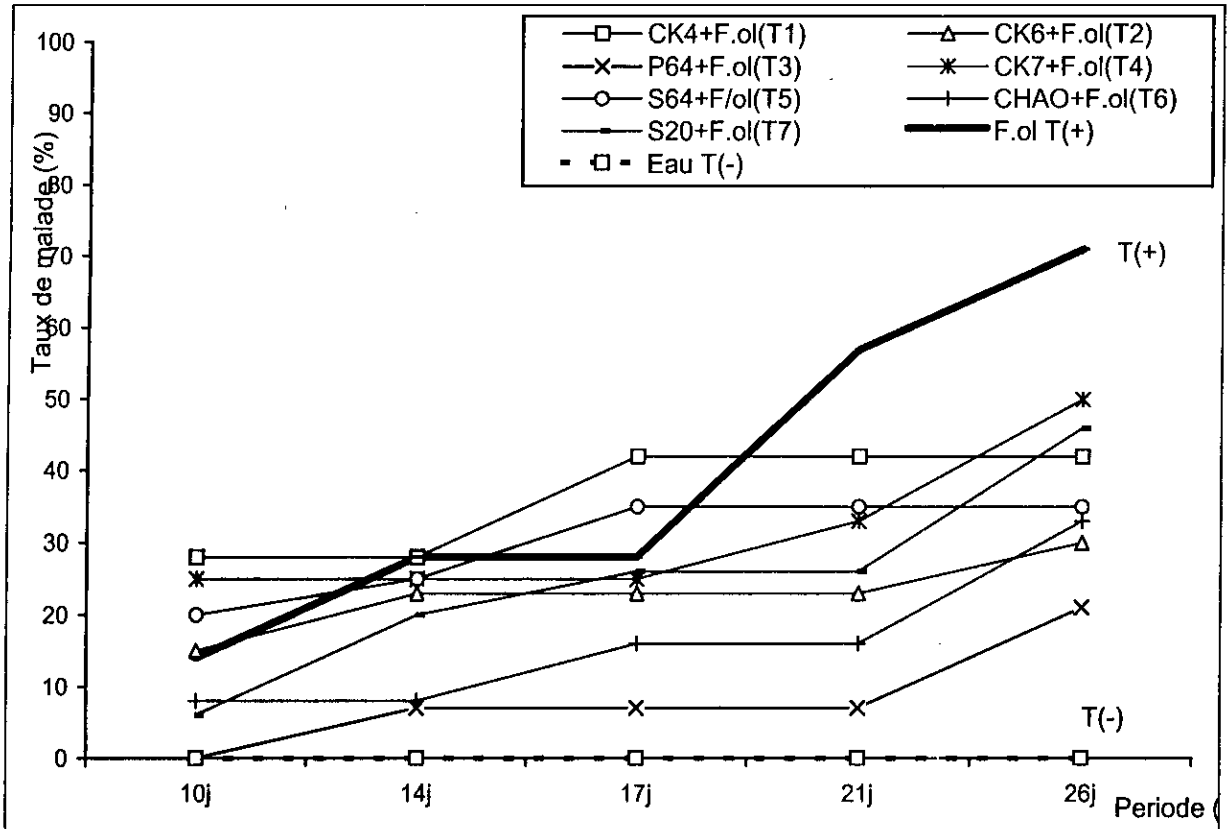


Figure 11 : Evolution de l'indice de la maladie en fonction du temps

II-1-2- Evolution de la sévérité de la maladie

Les résultats obtenus (tableau 11, figure12) ont montré que la bactérisation a permis la réduction de la maladie en comparaison avec le témoin positif. Dans le cas de la bactérisation avec la souche P₆₄, nous avons enregistré le plus faible taux de sévérité qui est de 17%. La souche CK₆ a enregistré un taux de 25% suivi de 26% et 27% respectivement obtenus par les souches CHAO et S₂₀. Le témoin positif a enregistré un taux de l'ordre de 64%.

Tableau 11: Valeurs de la sévérité de la maladie (%) en fonction du temps

Traitements	Jours après inoculation				
	10j	14j	17j	21j	26j
CK4+F.ol(T1)	21	28	39	42	42
CK6+F.ol (T2)	15	32	23	32	25
P64+F.ol (T3)	00	07	07	007	17
CK7+F.ol (T4)	25	25	25	33	41
S64+F.ol (T5)	35	35	35	35	35
CHAO+F.ol (T6)	08	08	14	16	27
S20+F.ol (T7)	06	13	21	23	26
F.ol T(+)	14	21	28	42	64
Eau T(-)	00	00	00	00	00

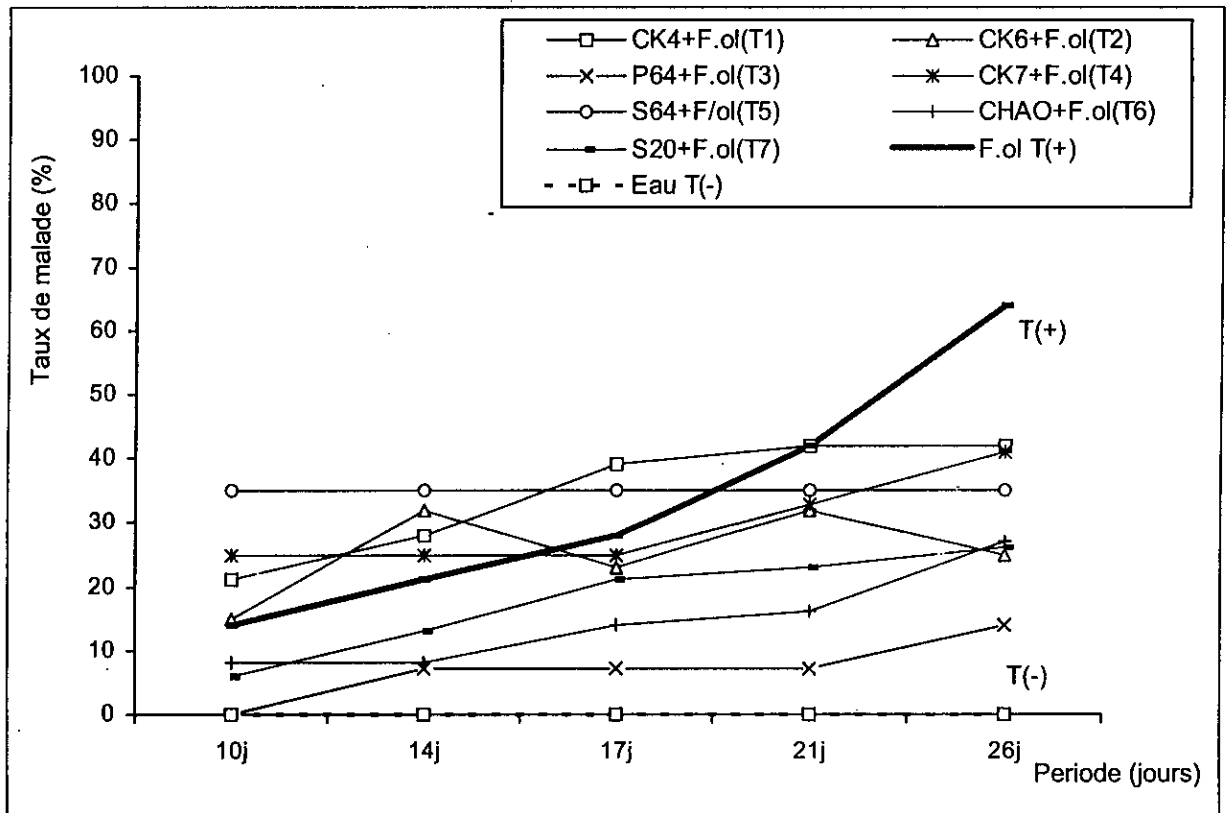


Figure 12 : Evolution de la sévérité de la maladie en fonction du temps

L'évolution de la sévérité de la maladie dans le cas des traitements bactérisés par les souches CHAO, S20 et CK7 est assez faible par rapport au témoin positif. Nous avons remarqué que l'évolution de la maladie s'est déclenchée après 14 jours d'inoculation avec un taux de 7% pour la souche P64 et après 10 jours pour le reste des souches. A la fin des observations, soit 26 jours après l'inoculation, nous avons constaté que les plants du témoin positif présentent des taux nettement élevés par rapport aux traitements bactérisés. Il est à noter que le taux de maladie particulièrement chez le traitement bactérisé avec la souche P64 n'est que de 17%.

II-2- Fusariose vasculaire du lin

II-2-1 Evolution de l'indice de la maladie

La cinétique d'évolution de l'indice de la fusariose de lin se présente d'une manière similaire chez le témoin et traitements bactérisés (Tableau 12) (figure 13). Dans le cas de la bactérisation avec la souche P64 dès le 27^{ème} jour, après l'inoculation, l'indice est déjà de l'ordre de 41.17% qui a évolué rapidement après 33 jours pour atteindre plus de 96%. Il est à souligner que l'évolution de l'indice de la maladie est nettement supérieure par rapport au témoin positif ; surtout que ce dernier après 53 jours de l'inoculation n'a enregistré qu'un taux de maladie de 38.46%.

Tableau 12 : Evolution de l'indice de la maladie(%) en fonction du temps

Traitements	Jours après inoculation										
	27j	30j	33j	37j	40j	43j	46j	49j	53j	65j	69j
P₆₄+F.oIn (T1)	41.17	60.78	96.07	96.07	96.07	96.07	96.07	96.07	96.07	98.03	98.03
S₂₀+F.oIn (T2)	0	2.08	8.33	20.83	20.83	20.83	20.83	20.83	20.83	20.83	20.83
F.oIn T(+)	3.84	23.07	38.46	38.46	38.46	38.46	38.46	38.46	38.46	100	100
Eau T(-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

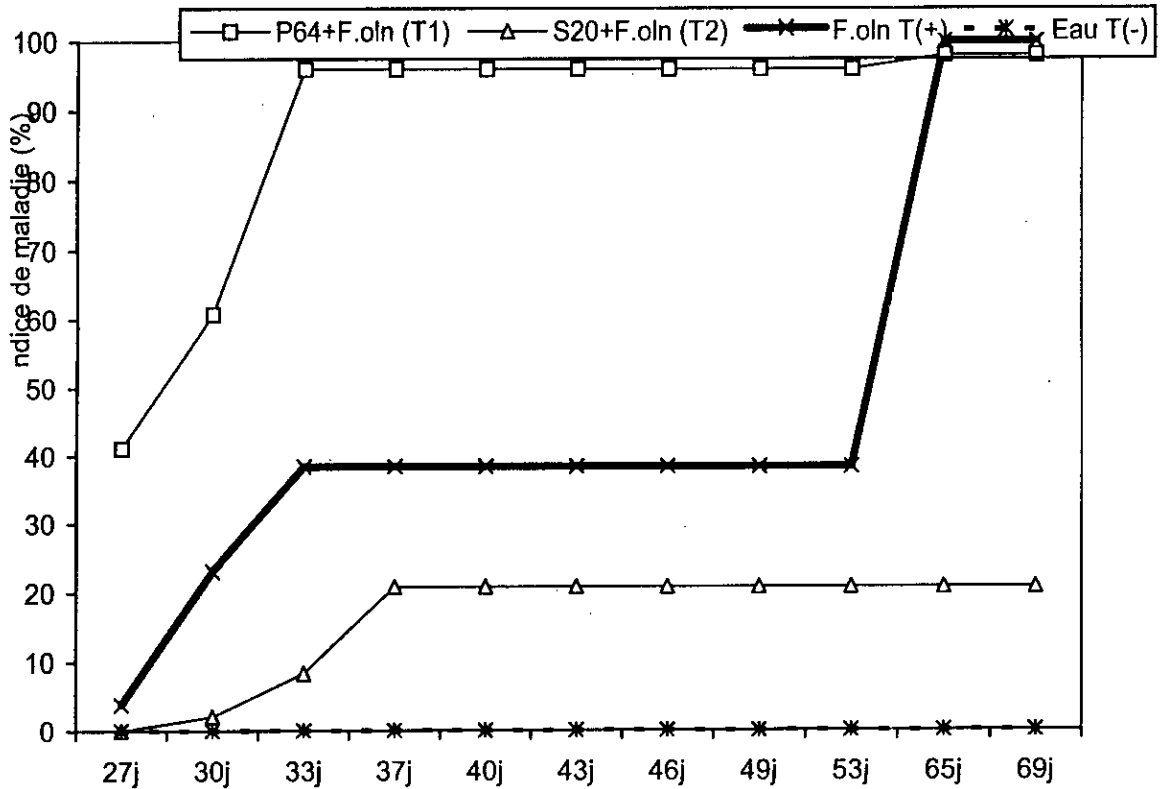


Figure 13 : Evolution de l'indice de la fusariose du lin en fonction du temps

II-2-2- Evolution de la sévérité de la maladie

Les taux de sévérité de la maladie obtenus dans le cas des traitements bactérisés sont nettement inférieurs au témoin positif (Tableau 13). La bactérisation avec la souche S20 a permis de réduire la sévérité de la fusariose à un niveau très bas de 14% et ce jusqu'à la fin de l'expérimentation. La bactérisation avec la souche P64, n'a pas provoqué une inhibition dans la sévérité de la maladie. En effet, au début de l'expérimentation, les plants de ce traitement présentent des taux de la sévérité dépassant même ceux enregistrés chez le témoin malade (T+) aux mêmes périodes d'observation. A la fin de l'expérience, soit 69 jours après l'inoculation, le taux de sévérité moyen de 68.13%, est presque similaire à celui du témoin positif avec un taux de 68.13%.

Tableau 13 : valeurs de la sévérité de la maladie (%) en fonction du temps

Traitements	Jours après inoculation										
	27j	30j	33j	37j	40j	43j	46j	49j	53j	65j	69j
P ₆₄ +F.olin(T1)	10.9 2	15.1 9	24.01	24.01	33.33	34.31	39.70	44.11	50.98	60.29	68.13
S ₂₀ +F.olin(T2)	0	52	2.08	5.20	5.20	5.20	6.26	6.25	6.25	10.41	10.41
F.olin T(+)	0.96	5.76	9.61	9.61	9.61	10.57	13.46	13.46	13.46	81.73	81.73
Eau T(-)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

L'évolution de la sévérité de la maladie est importante après 65jour d'inoculation avec un taux de 81.73% enregistré par le témoin positif, la maladie a donc pratiquement atteint son apogée en provoquant la mort des plants(figure 15). Dans le cas de la souche S₂₀, l'évolution de la sévérité est très lente (figure14).

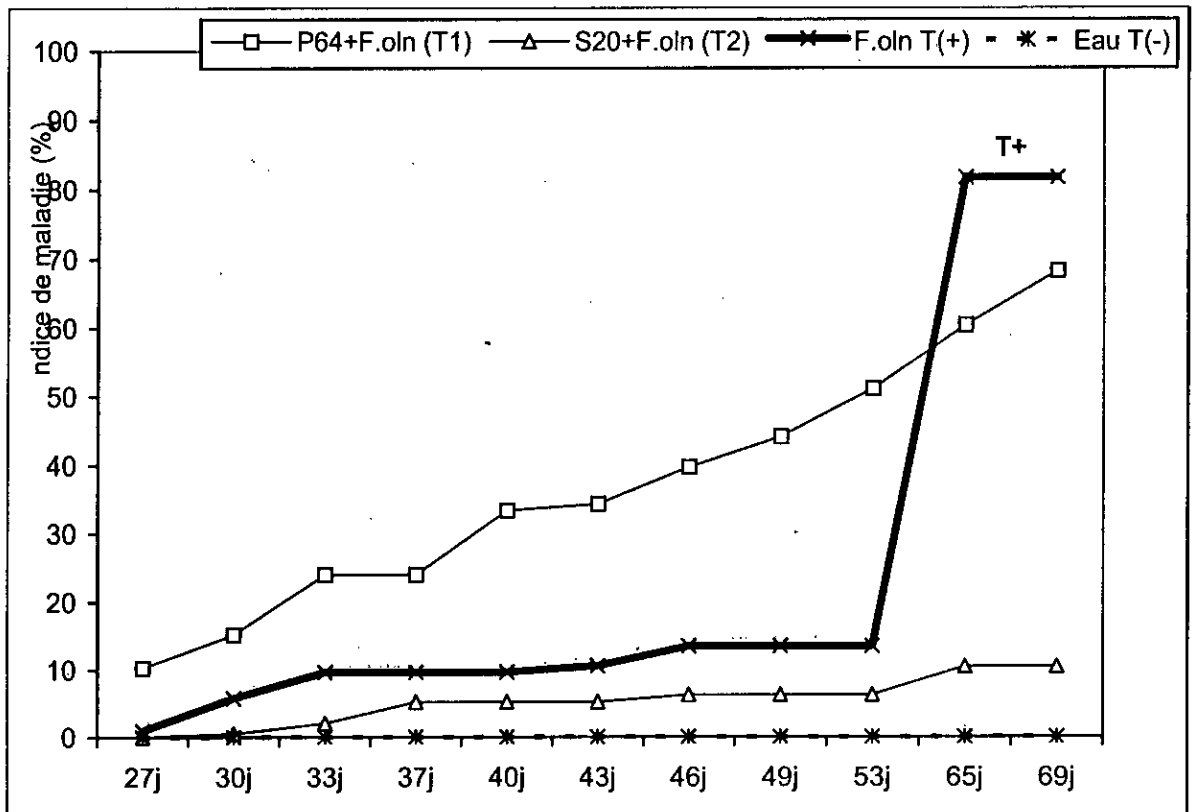


Figure 14 : Evolution de la sévérité de la fusariose du lin en fonction du temps

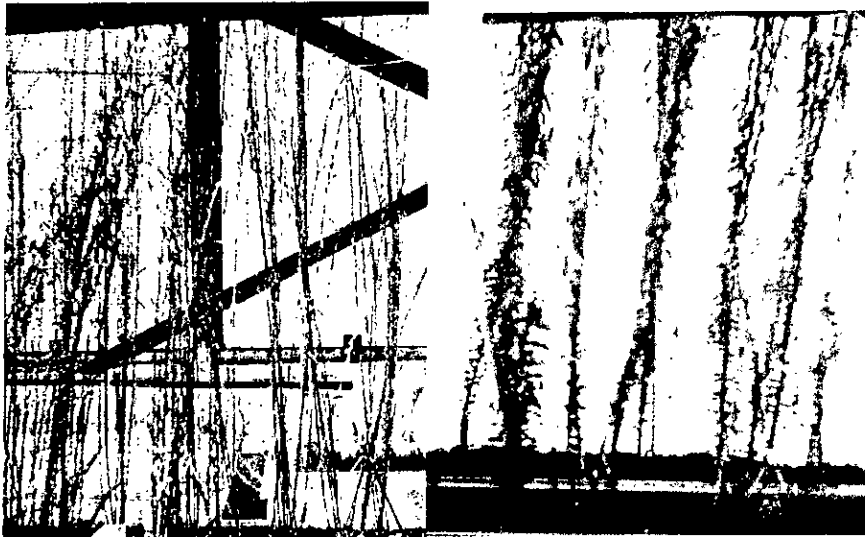


Figure 15 : Symptômes de la fusariose vasculaire sur les plants de lin

II-3- Inhibition des fusarioses vasculaires

La bactérisation des plants avec les souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* induisent des effets bénéfiques très significatifs en inhibant l'expression de la fusariose vasculaire (tableau 14) (Figure16). La souche S₂₀ a induit une inhibition très importante de 87.62% de la fusariose vasculaire du lin. Cette maladie a été faiblement réduite par la souche P₆₄ avec un taux de 16.64%. Cependant, la sévérité de la fusariose vasculaire de la tomate a été fortement réduite avec un niveau de 73.44% par la souche P64. La soucheCK6 a également provoqué une forte inhibition de la même maladie avec un taux de 69.4% suivi de près par les souches CHAO et S20 ayant présentées des effets similaires. Les souches ont inhibé la maladie à des niveaux appréciables allant de 34.38% à 45.32%.

Les souches expérimentées simultanément vis-à-vis des fusarioses vasculaires de la tomate et du lin ont montré des actions variables. En effet, la souche P64 ayant montré une forte inhibition en interaction avec la tomate n'a pas inhiber la fusariose du lin qu'à un niveau de 16.64%. L'interaction de la souche bactérienne P64 avec l'agent fongique *F.olin*, peut contribuer à la création des modifications trophiques à la faveur du pathogène. Ce type de phénomène peut être similaire au synergisme microbien. La souche S20 a montré plus d'efficacité dans l'inhibition de la fusariose du lin en comparaison avec son efficacité obtenue par la tomate.

Tableau 14 : Inhibition de la sévérité de la maladie par rapport au témoin positif

Traitements	Taux d'inhibition de la maladie (%)	
	Par rapport au <i>F.ol</i> T(+)	Par rapport au <i>F.oln</i> T(+)
CK ₄	34.38 (D)	NT
CK ₆	60.94 (B)	NT
P ₆₄	73.44 (A)	16.64 (B)
CK ₇	35.94 (D)	NT
S ₆₄	45.32 (C)	NT
CHAO	57.82 (B)	NT
S ₂₀	59.38 (B)	87.26 (A)

NT: non testé

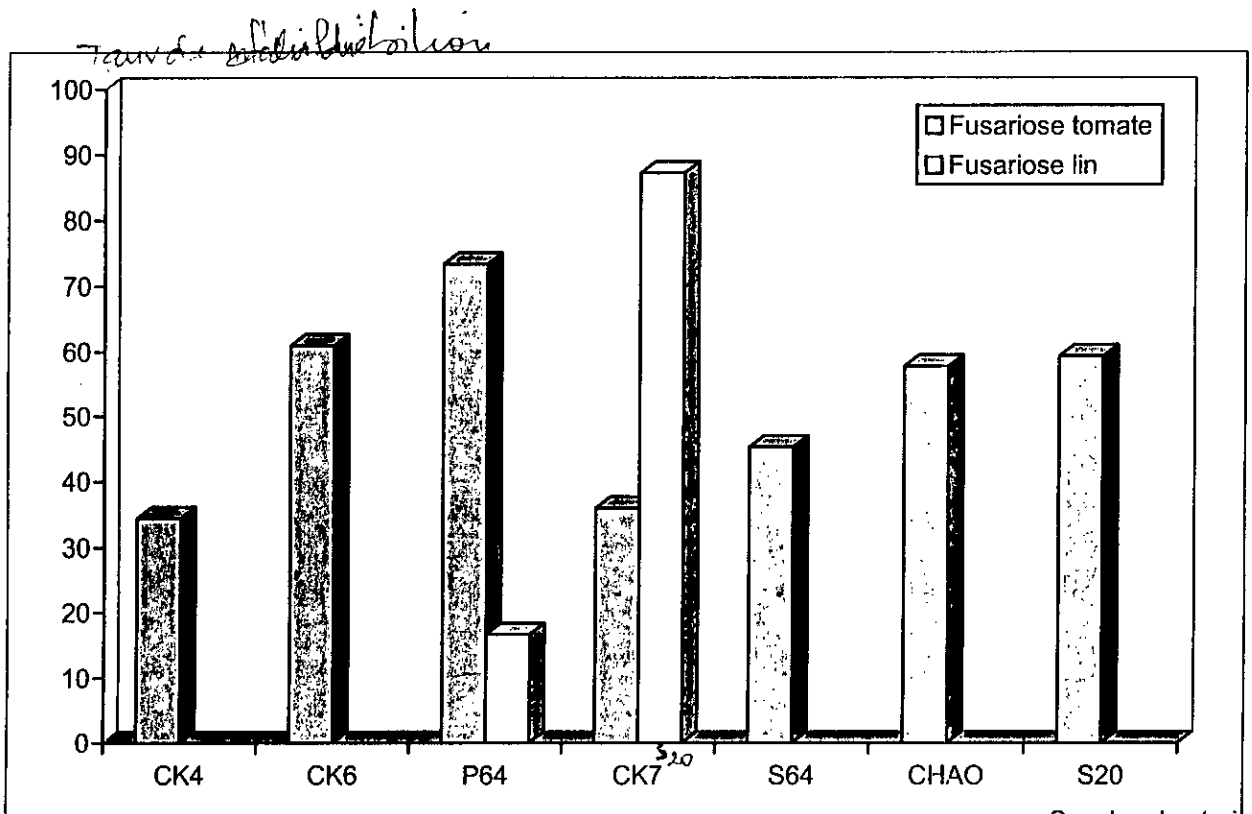


Figure 16 : Taux d'inhibition des fusarioses de la tomate et du lin par la bactérisation

Le classement des traitements, selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5% montre nettement des groupes homogènes A,B,C et D et leur actions significatives similaires ou différentielles dans le cas des deux maladies. Les traitements du groupe (A) présentent le maximum d'efficacité concernant la bioprotection des plants vis-à-vis des fusarioses vasculaires étudiées.

II-4- Interprétation des résultats

D'après les résultats obtenus dans les tests d'antagonismes *in situ*, les souches bactériennes ont montré des activités antagonistes importantes vis-à-vis des champignons étudiés. *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*. Cette activité antagoniste présente des degrés d'efficacité variables selon les souches bactériennes et selon l'isolat cryptogamique.

Nous avons également noté des activités antagonistes différentielles entre les souches bactériennes vis-à-vis d'un même isolat cryptogamique. La souche CK₄ a provoqué le plus faible taux d'inhibition de 34.38% de la sévérité de la maladie par rapport à l'ensemble des souches. Sachant bien que la souche CK₄ est un mutant de la souche CHAO déficiente en synthèse de sidérophores. Ainsi, l'effet antagoniste chez les *Pseudomonas fluorescens* pourrait être lié à la production du pigment fluorescent (sidérophores) capables de chélater les ions du fer trivalent (Fe³⁺), provoquant un appauvrissement du milieu en cet élément, ce qui se traduit par inhibition du développement des autres microorganismes, particulièrement les populations fusariennes (Kloepper et al., 1980 ; Mishagi et al., 1982 ; Digat, 1983).

Des effets inhibiteurs des pseudobactines purifiées des souches WC358 et WC417 de *Pseudomonas putida* ont été observés *in vitro* sur la germination conidienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Duijff et al., 1993) et de *F.oxysporum* schlecht f.sp.*lini* (Reddy, 1992). Il a été signalé que les pyoverdines de *Pseudomonas* sont aussi impliquées dans le biocontrôle de la pourriture molle de la pomme de terre provoquée par *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Kloepper, 1983; Coyler et Mount, 1984).

D'après les travaux de Défago et al., (1990), la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens* synthétise de l'acide salicylique, un produit toxique sur de nombreux pathogènes des plantes (Singhi, 1978 ; Saint-pierre et al., 1984). Des essais *in vitro* ont montré que la réduction de la croissance des hyphes de *F.o.* f. sp. *raphani* est obtenue seulement à des concentrations élevées d'acide salicylique (Leeman et al., 1996).

Selon les résultats de nos essais, nous constatons que les souches ayant montré un fort pouvoir d'antibiose réduisent de façon très remarquable la fusariose vasculaire. Citant l'exemple de la souche S₂₀ qui a enregistré un taux d'inhibition de 87.26% vis-à-vis de l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* et de 59.38% vis-à-vis de l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Nous avons également remarqué que la souche CHAO a montré une activité antagoniste très importante par rapport à son mutant CK₇ non producteur d'HCN. Selon Leisinger et Margraff (1979), les *Pseudomonas* spp fluorescents produisent une gamme assez variée de métabolites qui pourraient jouer un rôle dans l'effet antagoniste de ces bactéries dans le sol. Cependant, nous pouvons suggérer que la réduction de la sévérité de la fusariose vasculaire observée au cours de notre essai peut être liée en plus de la compétition pour le fer à la synthèse d'antibiotiques et de l'acide cyanhydrique.

L'importance de l'antibiose dans les interactions microbiennes, impliquée dans la protection biologique contre les maladies, a été soulignée par plusieurs travaux de recherche (Flavel, 1988 ; Thomashow et Weller, 1990 ; Lemanceau, 1992). Howie et Suslow (1991), ont montré que la souche HV37a de *P. fluorescens* produisant un composé "oomycine A" responsable à une limite de 70% de sa capacité de cette souche à réduire l'infection racinaire due à *Pythium ultimum* et approximativement au niveau de 50% de l'augmentation de l'émergence des plantules du coton.

D'après les travaux de Défago et *al.*, (1990), l'acide cyanhydrique produit par la souche CHAO de *P. fluorescens* est responsable de la réduction de la maladie causée par *Thielaviopsis basicola* sur tabac; *Pythium ultimum* sur concombre et cresson et *Rhizoctonia solani* sur coton.

D'après les résultats obtenus et comparativement aux souches de référence, notamment la souche CHAO, les souches P64 et S20 ont montré une activité antagoniste très intense lors de leur application *in situ* par rapport à l'ensemble des souches bactériennes. Nous pouvons dire que ces souches peuvent être exploitées dans des travaux d'antagonisme microbien.

En comparant les effets de la bactérisation sur l'expression des maladies à travers le taux d'infection et le taux de sévérité, nous constatons que les effets bénéfiques sont plus perceptibles sur la gravité des symptômes. Ainsi, les sévérités enregistrées, même avec les traitements ayant montré des taux d'infection élevés restent faible à limitées par rapport au témoin malade. Donc, nous pouvons souligner le caractère de tolérance chez les plants bactérisés ou' il y a infection mais sans sévérité gravissime. A l'exemple de la bactérisation avec la souche S20, le taux d'infection a atteint 46% alors que la sévérité des plants malades n'est que de 26%.

III- INDUCTION DE LA RESISTANCE SYSTEMIQUE

III-1- Indice de la maladie

Les résultats (tableau 15, figure 17) montrent nettement l'effet inhibiteur induit par la bactérisation. Chez les témoins infestés par le pathogène, l'indice d'infection est maximal(100%). Avec les plants bactérisés et infestés au préalable sur le même système racinaire, nous constatons des indices de maladies nettement inférieurs qui varient de 13% à 33%. Dans le cas des plants ou' le système racinaire est séparé en deux parties ; une partie bactérisée et l'autre infestée mais séparément, les taux de maladie sont plus élevés, allant de 37.5% à 66% en égalisant même le témoin de 100% avec les souches CK₄ et S₂₀.

Tableau 15 : Indice de la maladie (%)

Traitements	Indice de la maladie(%)
[CK4+F.ol] (T1)	13
[P64+F.ol] (T2)	33
[S20+F.ol] (T3)	13
[D2+F.ol] (T4)	20
CK4- F.ol (T5)	100
P64- Fol (T6)	37.5
S20-F.ol(T7)	100
D2-F.ol(T8)	66
T(+) Eau- F.ol	100
[F.ol T(+)]	100
Eau T(-)	0

(T5, T6, T7 et T8) traitement bactérisés et infestés selon la procédure (2) de séparation du système racinaire en deux parties. Les autres traitements sont bactérisés et infestés sur la même partie racinaire (procédure 1).

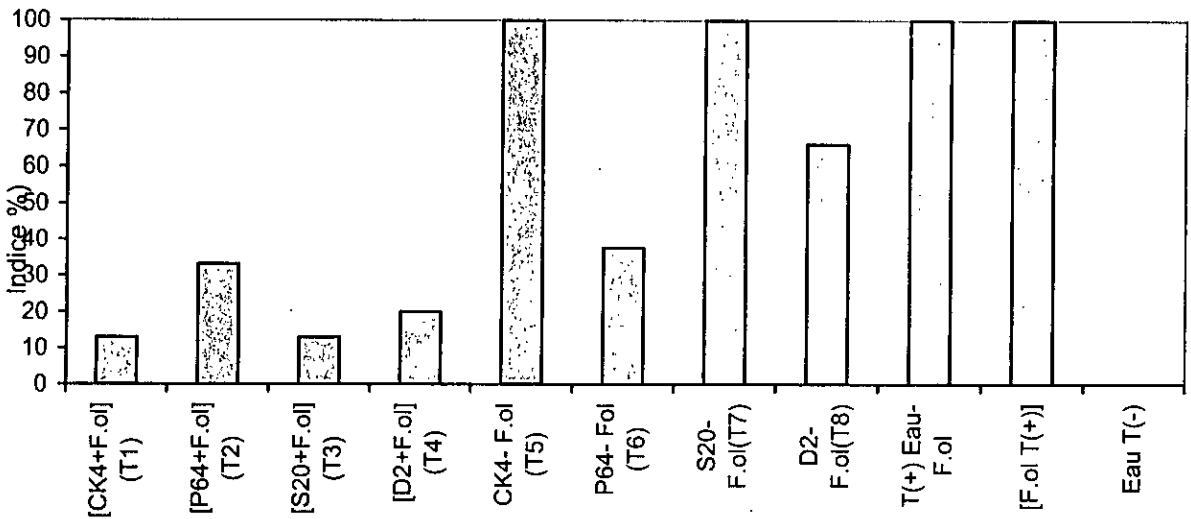


Figure 17 : Indice de la fusariose de la tomate dans les différents traitements

III-2- Sévérité de la maladie

La bactérisation des plants de tomate par les souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* a permis une réduction très significative de la sévérité de la maladie par rapport au témoin positif (tableau 15). Nous avons enregistré des taux de sévérité très négligeable de la maladie par rapport au témoin positif dans le cas d'interaction des souches bactériennes avec l'isolat *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. La bactérisation selon la procédure P2 a permis l'inhibition de l'expression symptomatologique à des niveaux assez élevés. En effet, le maximum de sévérité, avec un taux de 10%, a été obtenu avec la souche D₂. La deuxième procédure de bactérisation, séparant dans l'espace le pathogène et son antagoniste, a permis aussi de réduire la sévérité même en restant à des niveaux inférieurs par rapport à la première procédure de bactérisation, l'inhibition est appréciable par rapport aux témoins. Les taux de sévérité enregistrés sont de 18.75% à 33% alors que le témoin est de 62.5%.

III-2-1- Effet de la bactérisation sur l'inhibition de la sévérité de la maladie

Toutes les souches en interaction directe avec l'isolat fongique *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ont pu réduire la sévérité de la fusariose vasculaire à des niveaux supérieur ou égal à 80%. Egalement, ces mêmes souches ont provoqué une inhibition appréciable de la sévérité de la maladie même lorsqu'elles ne se trouvent pas en contact direct avec l'isolat fongique. L'inhibition la plus élevée a été assurée par la souche P₆₄ avec un taux de 62.5% suivi de 60% obtenue par la souche CK₄(tableau 17) (figure 18 et 19).

Tableau 16 : Sévérité de la maladie (%)

Traitements	Sévérité de la maladie(%)
[CK4+F.ol] (T1)	6.66
[P64+F.ol] (T2)	8.33
[S20+F.ol] (T3)	6.66
[D2+F .ol] (T4)	10
CK4+F.ol (T5)	33.33
P64+F.ol (T6)	25
S20+F.ol (T7)	18.75
D2+F.ol (T8)	33.33
T(+) eau -F.ol	62.5
[F.ol T(+)]	50
Eau T(-)	0

Tableau 17 : Effet de la bactérisation sur l'inhibition de la sévérité de la maladie provoquée par *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Traitements	Taux d'inhibition par rapport au témoin positif
[CK4+F.ol](T1)	86.68(A)*
[P64+F.ol](T2)	86.67(A)
[S20+F.ol](T3)	86.68(A)
[D2+F.ol](T4)	80.00(A)
CK4+F.ol(T5)	60.00(B)
P64-F.ol(T6)	62.50(B)
S20-F.ol(T7)	46.67(C)
D2-F.ol(T8)	46.67(C)

*Les valeurs suivi de la même lettre ne présentent pas des différences significatives au seuil de 5% selon le test de Newman- Keuls.

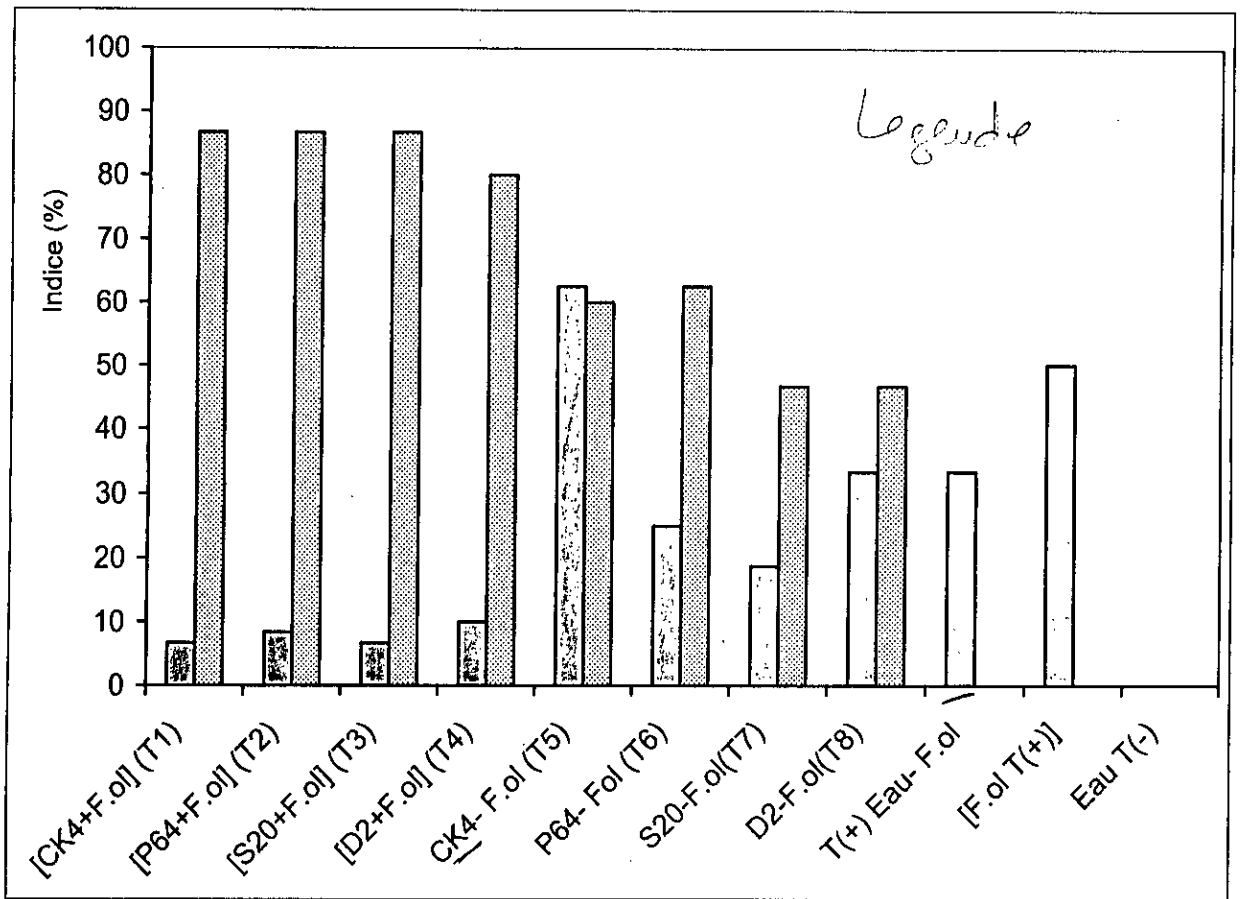


Figure 18 : Sévérité et inhibition de la fusariose de la tomate dans les différents traitements

Les similarités de l'efficacité é des techniques de bactérisation est regroupée dans des groupes homogènes selon les tests de comparaison de Newman-Keuls. Ainsi, les traitements bactérisé selon la procédure P1 avec l'ensemble des souches se classent dans le groupe (A). Les fraitements bactérisés selon la procédure P2 avec les souches CK4et P64 dans le groupe (B) et les souches S20 et D2 se classent dans le groupe (C).

III-2-2- Effet de la bactérisation sur la croissance végétale

L'efficacité de la bactérisation, en terme de bioprotection, peut être aussi exprimée à travers la biostimulation de la croissance des plantes. A cet effet, le rapport PF/PS peut être un indice révélateur sur l'activation de la physiologie de la plante. Comparativement aux plants sains(sans bactérisation), une augmentation de ce rapport dépassant le taux 11% dans le cas de la bactérisation avec les souches avec CK4 et P64.



Figure 19 : Effet de la bactérisation sur le développement de la maladie sur les plants de tomate : (a) : plants infestés par le pathogène ; (b) : plants infestés par le pathogène et bactéries

D'après les résultats (tableau 18), la majorité des traitements présentent un rapport PF/PS supérieur à celui du témoin négatif. En fonction des rapports enregistrés, nous pouvons dire que la physiologie des plants de tomate est améliorée après la bactérisation par les souches bactériennes (figure 20 et 21).

Tableau 18 : Poids frais, poids secs et rapport PF/PS des plants de tomate après bactérisation

Traitements	Poids frais(PF)	Poids sec(PS)	PF/PS
[(p64+F.ol)]	45.29	7.24	6.25
[CK4+F.ol]	47.17	7.08	6.66
[S20+F.ol]	49.31	6.75	6.11
[D2+F.ol]	38.06	6.41	5.93
P64-F.ol	18.95	2.01	6.78
CK4-F.ol	17.52	2.95	5.93
S20-F.ol	13.63	3.42	5.54
D2-F/ol	11.74	2.18	5.38
[F.ol T(+)]	37.36	6.12	6.10
F.ol T(+)	12.13	2.55	5.44
Eau T(-)	14.46	2.34	5.74



Figure 20 : Effet de la bactérisation sur l'induction de la résistance systémique sur les plants bactérisés et infestés par le pathogène.

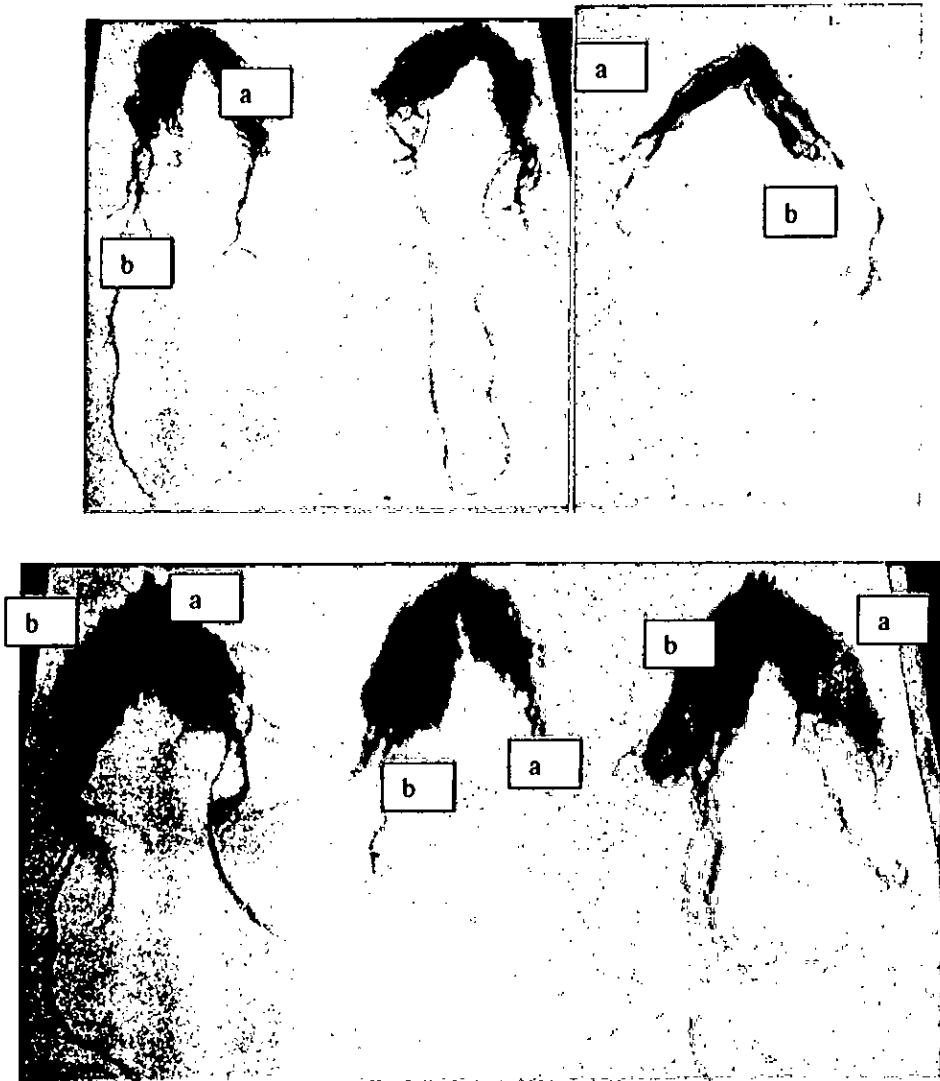


Figure 21 : Effet de la bactérisation sur l'élongation des systèmes racinaires des plants bactérisés : (a) - partie racinaire infestée par le pathogène , (b) -partie racinaire bactérisée

III-3- Interprétation des résultats

D'après les résultats obtenus, les quatre souches bactériennes ont montré des effets inhibiteurs très importants vis-à-vis de l'isolat *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. La réduction de la sévérité de la fusariose vasculaire peut être attribuée aux effets bénéfiques engendrés par les souches de *Pseudomonas* testées. Deux mécanismes sont responsables de ces effets bénéfiques. L'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère, l'autre concerne la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante.

Nos résultats permettent de constater que la meilleure réduction de la maladie avec des taux d'inhibition allant de 80 à 86.68%, a été obtenue dans le cas d'interaction entre les souches bactériennes et l'isolat fongique. Cette intense réduction peut être associée à l'antagonisme microbien direct exercé par les souches bactériennes à l'encontre de l'isolat pathogène incluant divers modes d'action telle que la compétition, l'antibiose ainsi que la réduction de la résistance systémique chez la plante.

Induction

Egalement, dans le cas d'absence d'interaction entre les souches bactériennes et l'isolat fongique une inhibition assez importante de la maladie enregistrée par les souches P64 et CK4 avec, respectivement, des taux d'inhibition de 62.5% et 60%. L'absence de contact direct des souches antagonistes avec l'agent pathogène sous-entend annulation de l'effet de l'antagonisme microbien. La suppression de la maladie enregistrée dans ce cas peut être donc attribuée uniquement à l'induction de la résistance systémique chez la plante.

Il est à noter que la réduction de la maladie dans le cas d'interaction directe des souches bactériennes avec l'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* est plus forte que celle obtenue dans le cas d'absence d'interaction. Ceci peut être expliqué par les types de mécanismes impliqués dans cette réduction.

Selon Wei et al., (1996), l'action de l'induction de la résistance systémique comme mécanisme de contrôle biologique, est une conséquence de l'activation des mécanismes actifs de défense de la plante qui sont activés par des agents inducteurs ; tant dis que l'antagonisme microbien présente des actions directes comme la compétition trophique et la production d'antibiotiques, de sidérophores et d'HCN.

Les bactéries appartenant au groupe *Pseudomonas* spp fluorescents sont des agents antagonistes efficaces produisant divers métabolites toxiques vis-à-vis de

différents types de champignons et bactéries phytopathogènes (Weller, 1988 ; Défago et *al.*, 1990). Les sidérophores (pyoverdines, salicylates, pyochelines), l'acide cyanhydrique et les antibiotiques (2.4-diacetylphloroglucinol, pyolutéorine et pyrroniltrine) produits par la souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens* sont responsables de la suppression de nombreuses maladies telluriques (Voisard et Défago, 1986 ; Défago et Haas, 1990 ; Haas et *al.*, 1991).

Les résultats obtenus au cours de notre essai mettant en évidence l'induction de la résistance systémique chez la tomate vis-à-vis de l'agent fongique F.ol, concordent avec ceux obtenus déjà par plusieurs chercheurs en utilisant la souche WCS417r de *Pseudomonas fluorescens* inductrice de la résistance systémique sur plusieurs espèces végétales: Arabidopsis, l'œillet, radis et tomate (Van Peer et *al.*, 1991 ; Duijff et *al.*, 1995 ; Leeman et *al.*, 1995 ; Hoffland et *al.*, 1996 ; Pieterse et *al.*, 1996 ; Duijff et *al.*, 1998).

La résistance induite recouvre un ensemble de mécanismes par lesquels une plante d'un génotype sensible à une maladie acquiert un caractère résistant après avoir été traité par un stress biologique (Semal, 1989).

Plusieurs auteurs suggèrent que la production d'HCN, de la pyolutéorine (plt) et de phloroglucinol provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de son système racinaire et sa résistance naturelle (Défago et *al.*, 1990 ; Keel et *al.*, 1992 ; Maurhofer et *al.*, 1992).

Selon Maurhofer et *al.*, (1994, 1998), l'acide salicylique, les pyoverdines produits par les souches de *P. fluorescens* provoquent un signal local ou systémique induisant une résistance du tabac contre le virus de la nécrose du tabac(TNV).

Egalement, les lipopolysaccharides (L.P.S.), les chaînes latérales antigènes " o " des souches WCS374 et WCS417 de *P. fluorescens* ont été impliquées dans l'induction de la résistance systémique vis-à-vis du flétrissement fusarien de l'œillet et du radis (Van Peer et Schippers, 1992 ; Leeman et *al.*, 1995). En effet, la souche mutante WCS417r de *P. fluorescens* affectée dans les chaînes latérales d'antigènes " o ", les lipopolysaccharides de la membrane externe a montré une faible colonisation racinaire (Duijff et *al.*, 1997) ainsi qu'une réduction de sa capacité à induire une résistance systémique (Van Peer et *al.*, 1991 ; Leeman et *al.*, 1995).

Les *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent stimuler la production de composés biochimiques liés aux mécanismes de défense de la plante hôte (Albert et Anderson, 1987 ; Zdor et Anderson, 1992 ; M'piga et al., 1997).

La résistance à l'attaque de *F.o. f. sp. radidis lycopersici* des plants de tomates bactérisés par quelques souches de *P. fluorescens* était surtout associée à l'induction de la formation de barrières structurales et biochimiques affectant défavorablement la croissance et le développement du pathogène (M'piga et al., 1997).

Selon Van Peer et al., (1991); Duijff et al., (1993), l'induction de la résistance systémique de l'œillet vis-à-vis de *F.o. f. sp. dianthi* est accompagnée par une accumulation de phytoalexines chez seulement les plants bactérisés par la souche WCS417r de *P. fluorescens*.

Egalement, Meena et al., (1997) ont montré qu'une application foliaire de *P. fluorescens* induit l'activation de l'enzyme PAL, de la chitinase, β -1.3- glucanase ainsi qu'une accumulation des composés phénoliques dans les feuilles du riz. Hynes et Lazorovits (1989) ont signalé une augmentation des protéines " PR " dans les feuilles de haricot suite à un traitement des semences par les *P. fluorescens*. Ces protéines seules ou en combinaison ont présenté une activité antifongique (Datta et Muthukrishnan, 1999).

Les souches bactériennes utilisées au cours de notre essai ont montré en plus des activités de bioprotection des activités de biostimulation de la croissance végétale. D'après les résultats obtenus, nous avons constaté une corrélation entre le pouvoir antagoniste des souches bactériennes vis-à-vis de *F. ol* et la capacité de stimuler la croissance végétale. Différents auteurs ont associé cette stimulation, assurée par certaines souches de *Pseudomonas* spp fluorescents à l'activité antagoniste qu'elles exercent à l'encontre des champignons pathogènes (Lemanceau, 1992).

Les plantes dont le système racinaire a été amplement colonisé par les rhizobactéries antagonistes échapperaient à la pression habituelle de la microflore tellurique résidente, leur croissance s'en trouvant du même coup amélioré (Digat, 1988).

Kloepper et Schroth (1981) ont mis en évidence que les souches de *Pseudomonas* ayant provoqué une réduction de la densité des champignons et des bactéries Gram+ sont les seules responsables de l'augmentation de la croissance des tubercules de pomme de terre.

D'après Van Peer et *al.*, (1991), les souches *Pseudomonas* spp fluorescents agissent directement en modifiant la physiologie de la plante tout en améliorant son alimentation minérale et elles agissent sur le métabolisme de la plante en améliorant sa croissance. L'induction de la résistance systémique sur tabac provoque la suppression de la maladie sous serre et au champ et l'augmentation de la croissance végétale (Tuzun et *al.*, 1986).

Les opérations de détection et de recherche de l'agent pathogène, apporté lors d'infestation des plants, ont révélé la présence de l'isolat fongique au niveau de la majorité des fragments de collet des plants traités. La présence de l'agent phytopathogène indique clairement que le pouvoir pathogène a été inhibé par la bactérisation. Ce constat a été vérifié dans le cas des traitements D2 et P64 (figure 22)



Figure 22: Présence de l'agent pathogène sur les fragments de collets prélevés à partir de plants de tomate.

IV- RECHERCHE DE LA RESISTANCE DU SOL A LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU LIN

IV-1- Effet de la concentration fongique

L'augmentation de la concentration de l'inoculum fongique s'est traduite par une augmentation du taux de maladie (Figure 23). En effet, dans le sol témoin C1 où le taux de maladie est nul, la maladie progresse avec la concentration C2 et C3 en induisant des taux de maladie, respectivement, de 31.25% et de 56.25%. Ce constat confirme que le sol utilisé au cours de notre essai est un sol qui tolère une bonne activité microbienne se traduisant par l'installation du pathogène et son développement et en exprimant son pouvoir pathogène après interaction parasitaire avec les plants de lin (figure 24).

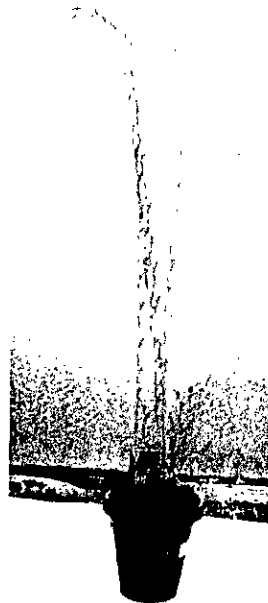


Figure 24 : Flétrissement du sommet caractéristique de la fusariose vasculaire du lin.

VI- 2- Effet de la bactérisation

La bactérisation des sols par les deux souches bactériennes P64 et CK4 a permis de réduire significativement le taux de plants malades, notamment dans le cas de l'infestation avec la concentration C2, soit 10^3 conidies /g de sol. Dans le cas des sols infestés avec la concentration C3 (10^5 conidies/g de sol), la bactérisation a induit un léger recul par rapport aux sols témoins C1, mais sensiblement inférieur par rapport à la concentration C2 (figure 25).

VI- Effet de l'addition du fer

Les amendements en chélates de fer dans le sol ont induit une augmentation dans le taux des plants malades (figure 26). Nous constatons par rapport à la densité fongique de 10^3 conidies/g de sol en absence du fer (C2F1 et C3F1) que les taux de maladie sont inférieurs par rapport aux autres traitements. Avec les traitements associés aux concentrations F2 ($0.5\mu\text{l/g}$ de sol) et F3 ($1\mu\text{l/g}$ de sol), il y a une augmentation significative du taux de plants malades.

En comparant les traitements similaires, mais avec bactérisation avec la souche P64 (figure 27), nous signalons l'absence d'inhibition de la maladie, voir même l'augmentation des taux de maladie avec les concentrations F2 et F3 additionnées au sol. L'effet inhibiteur des bactéries a été annulé par les amendements en fer.

En ce qui concerne la bactérisation du sol avec la souche CK4, nous avons enregistré une réduction très significative de la maladie par rapport au témoin. A la concentration du fer F2 de $0.5\mu\text{l/g}$ de sol, nous avons obtenu une annulation totale de la maladie. L'apport du fer à la concentration F3 ($1\mu\text{l/g}$ de sol) a provoqué un taux de maladie de 46.66% avec la concentration fongique C2 et un taux de 50% avec la concentration fongique C3 (Figure 28).

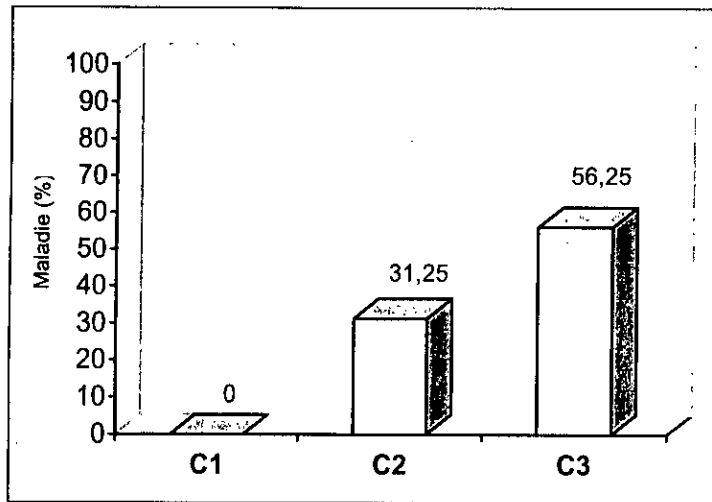


Figure 23: Effet de la concentration du pathogène sur la maladie

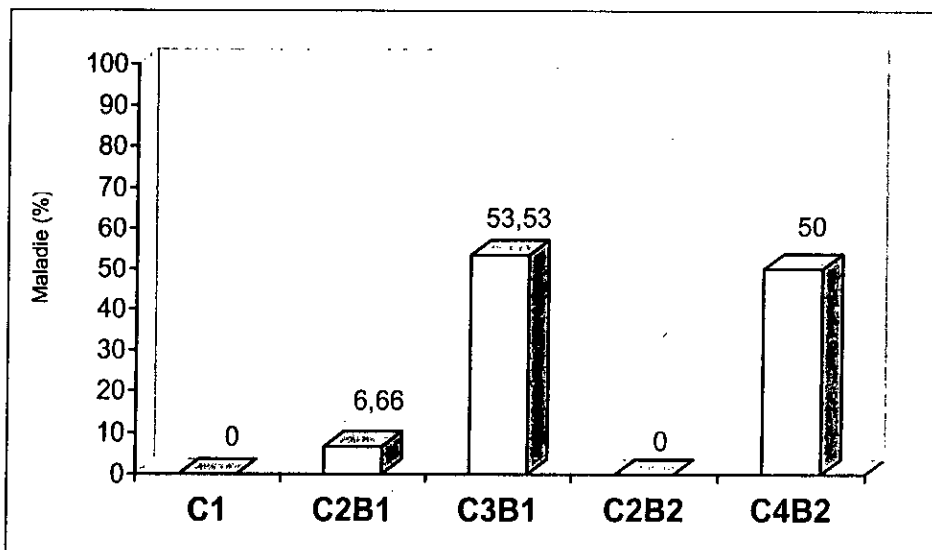


Figure 24 : Effet de la bactérisation sur la maladie

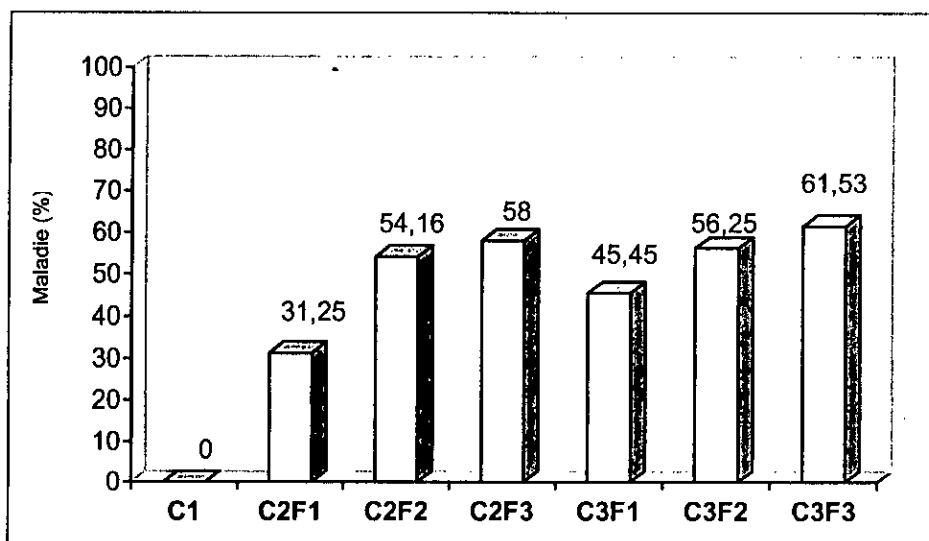


Figure 26 : Effet de l'addition du fer sur la maladie

C1 : absence du pathogène ; C2 : Concentration de 10^3 conidies et C3 : Concentration de 10^5 conidies / g de sol
 B1 : souche bactérienne P64 de *P. fluorescens* ; B2 : souche bactérienne CK4 de *P. fluorescens*

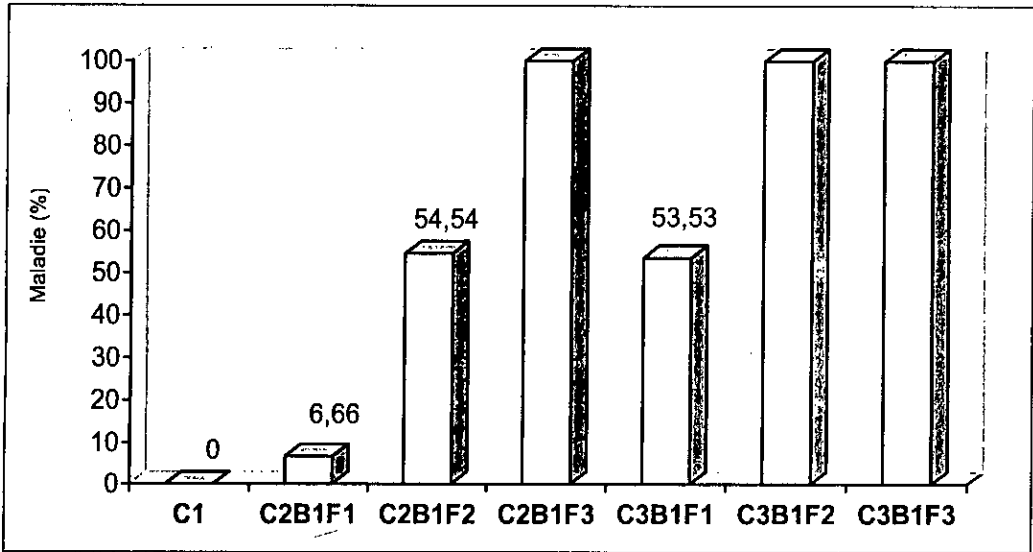


Figure 27 : Effet cumulatif de la bactérisation par la souche et de l'addition du fer sur la maladie

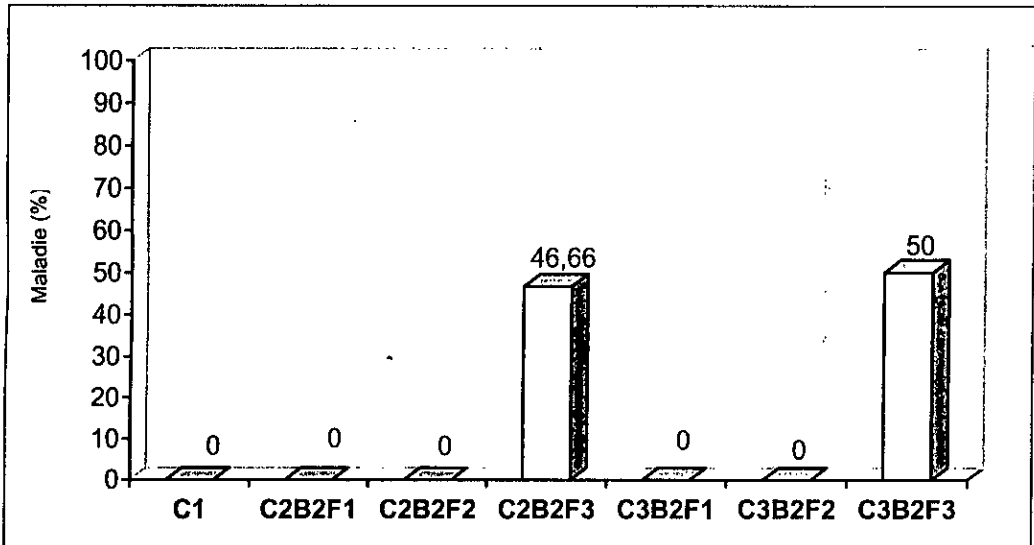


Figure 28: Effet cumulatif de la bactérisation par la souche et de l'addition du fer sur la maladie

C1 : absence du pathogène ; C2 : Concentration de 10^3 conidies et C3 : Concentration de 10^5 conidies / g de sol
 B1 : souche bactérienne P64 de *P. fluorescens* ; B2 : souche bactérienne CK4 de *P. fluorescens*
 F1 : pas d'addition de fer ; F2 : concentration de 0,5 μ l et F3 : 1 μ l de fer / g de sol

VI-4 Effet de l'addition en glucose

L'addition du glucose dans le sol selon les deux concentrations testées G2 et G3 provoque sensiblement l'augmentation des taux des plants malades (figure 29). Cette augmentation est presque similaire avec les deux densités fongiques appliquées (C2G2, C2G3, C3G2 et C3G3).

En introduisant la souche P64 dans les traitements similaires, nous constatons qu'il n'y a pas d'effet inhibiteur notable sur le taux de maladie. Les taux d'infections enregistrés varient de 33.33% à 54.54% (figure 30). Contrairement, la bactérisation du sol avec la souche CK4 provoque une réduction importante du taux d'infection des plants du lin, notamment avec les concentrations G1 et G2. Avec la concentration G3, le taux d'infection reste toujours inférieur par rapport au témoin malade (figure 31).

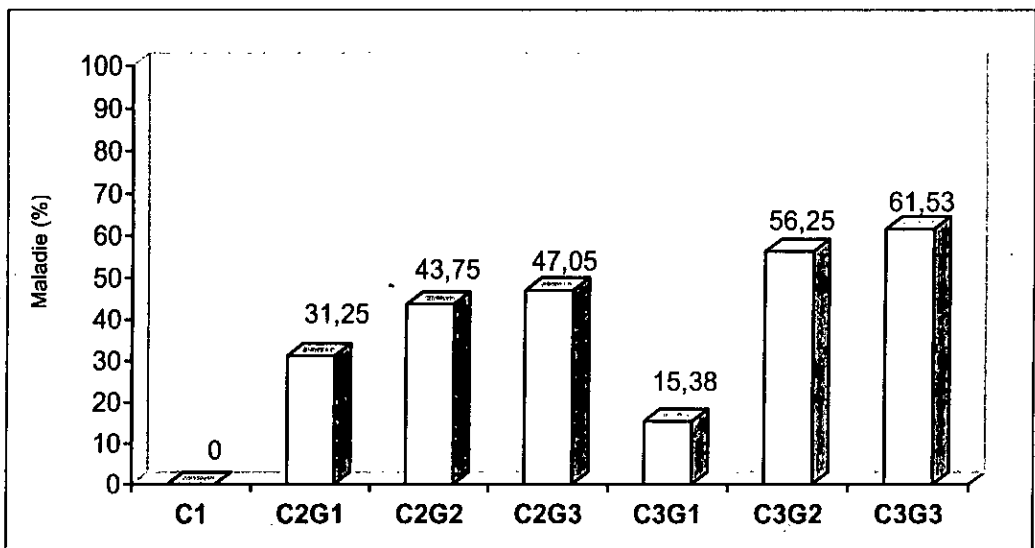


Figure 29 : Effet de l'addition du glucose sur la maladie

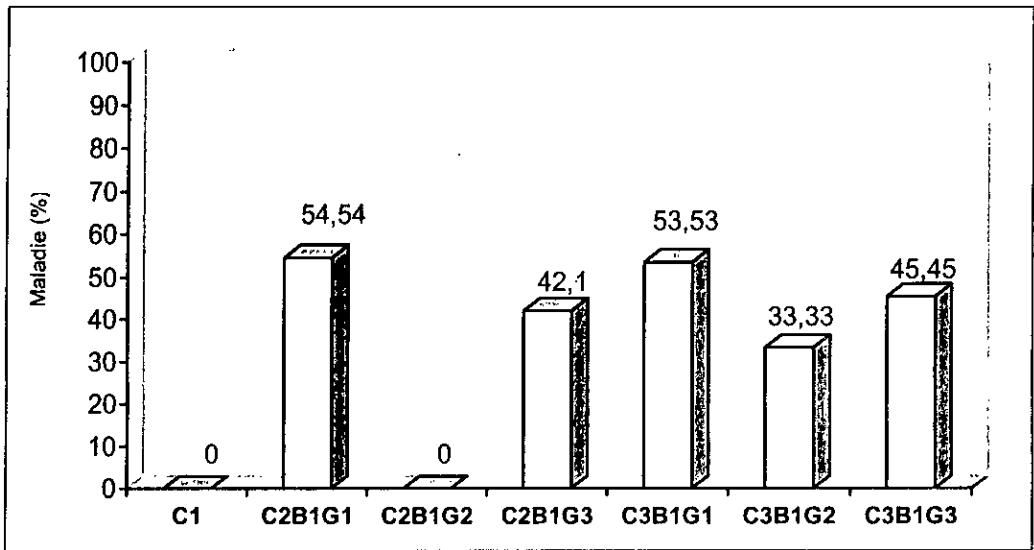


Figure 30 : Effet cumulatif de la bactérisation par la souche et de l'addition du glucose sur la maladie.

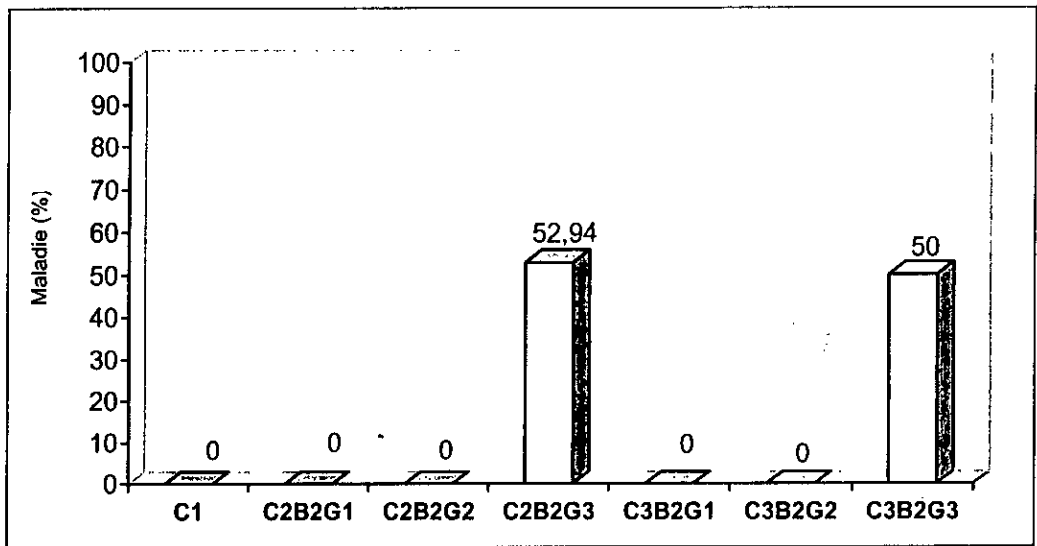


Figure 31: Effet cumulatif de la bactérisation par la souche et de l'addition du glucose sur la maladie

C1 : absence du pathogène ; C2 : Concentration de 10^3 conidies et C3 : Concentration de 10^5 conidies / g de sol
 B1 : souche bactérienne P64 de *P. fluorescens* ; B2 : souche bactérienne CK4 de *P. fluorescens*
 G1 : pas d'addition de glucose ; G2 : concentration de 0,5 μ g et G3 : 1 μ g de glucose / g de sol

III-5 Interprétation des résultats

Les résultats des essais de bactérisation des sols montrent des effets inhibiteurs variables induits par les souches P64 et CK4 en interaction avec les différentes concentrations en fer et en glucose de la fusariose vasculaire du lin.

Les effets de l'addition du fer et du glucose sur le taux de maladie ont été fortement observés dans le cas de la bactérisation avec la souche P64 et d'une manière moindre avec la souche CHAO. Cette dernière est un mutant de la souche CHAO non producteur de pyoverdines. Nous pouvons donc suggérer que l'un des mécanismes impliqué dans la résistance des sols à la fusariose vasculaire provoquée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* est la compétition pour le fer.

Les résultats de nos essais sont similaires à ceux obtenus par Scher et Baker (1982) et Lemanceau et al., (1988). Ces mêmes auteurs attribuent l'implication des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la résistance des sols de Salinas Valley (France) et de Châteaurenard (Californie). Ces mêmes bactéries productrices de sidérophores sont les principaux responsables de la faible disponibilité en fer dans la rhizosphère des plantes provoquant une limitation en cet élément.

Dans les conditions de carence en fer, les *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent des sidérophores, les pyoverdines qui forment avec le fer ferrique (Fe^{3+}) des complexes stables (Meyer et Abdallah, 1978). Le fer chélaté par les pyoverdines n'est pas alors disponible pour les *Fusarium*; la croissance des tubes germinatifs issues de leurs chlamydospores est réduite, ce qui diminue d'autant les risques d'infection des racines des plantes (Scher et Baker, 1982). Ces derniers ont pu augmenter le niveau de résistance de certains sols soit par apport de chélates de synthèse, soit par introduction des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents.

L'augmentation de la disponibilité du fer par introduction de chélates de fer Fe EDTA (Acide Ethylendiamine tetracétique) à un sol résistant ou conducteur provoque l'augmentation de la croissance du pathogène et la sévérité de la maladie. La réduction de la disponibilité du fer par introduction d'un fort chélateur de fer (EDDHA) (Ethylendiaminedi-o- hydroxyphenylacétique-acide) réduit la croissance du pathogène ainsi que la sévérité de la maladie dans les deux types de sols cités (Scher et Baker, 1982 ; Elad et Baker, 1985 ; Lemanceau et al., 1988).

Une corrélation positive a été établie entre la quantité des sidérophores produite *in vitro* par les différents isolats de *Pseudomonas* spp. fluorescents et leur capacité à inhiber la germination de chlamydospores dans le sol et l'inhibition du flétrissement fusarien (Sneh et al., 1984 ; Elad et Baker, 1985).

Selon Kloepper et al., (1980), l'introduction de pseudobactines partiellement purifiées à partir de la souche B10 de *Pseudomonas fluorescens* dans le sol réduit le niveau de la germination de chlamydospores chez *Fusarium* spp.

La promotion de la croissance du blé suite à la suppression de la pourriture racinaire causée par *Pythium* a été obtenue en présence de la souche B324 de *Pseudomonas* sp. mais non pas en présence de son mutant non producteur de sidérophores (Becker et Cook, 1988).

Au cours de notre essai, nous avons enregistré une diminution remarquable du taux de la maladie après la bactérisation avec la souche CK4 non productrice de sidérophores. Nous pouvons donc dire que la compétition pour le fer par la production de sidérophores n'est pas le seul mécanisme impliqué dans l'inhibition de la fusariose vasculaire. D'autres métabolites ont été impliqués dans la suppression de la fusariose telle que les antibiotiques, les enzymes et les composés volatiles (Loper et Lindow, 1993 ; Alabouvette et al., 1996).

L'addition du glucose ne provoque pas des effets d'inhibition notables sur l'expression de la fusariose même avec la bactérisation du sol avec la souche CK4. En effet, des taux de maladie inférieurs se rapprochent de ceux obtenus par les témoins.

Selon Loper et Schroth (1986), le métabolisme microbien dépend des sources de carbone disponible. La production de oomycine est induite par le glucose (James et Gutterson, 1986), alors que la production de 2,4 - diacetyl phloroglucinol par *Pseudomonas fluorescens* était faible en présence de glucose ou de surbose, mais forte en présence de saccharose, du fructose ou du mannitol (Shanahan et al., 1992). Egalement, la glycine est nécessaire pour la synthèse de cyanide (Castric, 1977). La production de sidérophores par *Pseudomonas fluorescens* est aussi liée à la présence de divers hydrates de carbone (Alabouvette et al., 1996).

Alabouvette et al., (1985), ont démontré que le niveau de réceptivité du sol est en relation avec leur niveau énergétique. Le carbone est un élément indispensable à la germination de *Fusarium* soumise à la fongistase des sols.

Les travaux réalisés par Lemanceau et Alabouvette (1988), ont montré que l'enrichissement des sols avec le glucose provoque une augmentation de la gravité de la maladie.

D'après nos résultats, nous avons constaté que la réduction de la fusariose vasculaire du lin varie en fonction de la souche bactérienne introduite et en fonction des concentrations de fer et de glucose apportées.

Selon Alabouvette et *al.*, (1996), l'introduction dans un sol d'un seul agent antagoniste ne peut pas aboutir à une suppression stable et durable de la maladie, quoiqu'il est possible de diminuer la sévérité de la maladie, mais cet effet habituellement ne dure pas longtemps.

Egalement, la compétition pour le fer, comme la compétition pour d'autres éléments énergétiques serait sous la dépendance de facteurs généraux liés à la biomasse globale du sol en microorganismes (Cook et Baker, 1983).

Nous pouvons conclure que la résistance des sols résulte d'interaction complexe entre la masse microbienne et les conditions abiotiques édaphiques.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les résultats de l'extraction d'antibiotiques effectuée à partir des cultures bactériennes ont montré que les souches S20, S66 et S7 synthétisent des antibiotiques sur le milieu B de King(KB). Ces antibiotiques présentent une activité antifongique très importante vis-à-vis des trois isolats fongiques testés, à savoir *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ; *F.o.f.sp.lini* et *F.o.f.sp. albedinis*. La plus importante activité a été obtenue par les souches S66 et S7 en induisant des zones d'inhibition de l'ordre de 16 mm à 21 mm.

La bactérisation des substrats et des plants a montré des effets antagonistes des souches bactériennes appliquées vis-à-vis de *Fusarium* f.sp. *lycopersici* , induisant une inhibition très appréciable de la sévérité de la maladie. La plus forte activité antagoniste a été enregistrée par la souche P64 en réduisant de 73.44% la sévérité de la maladie par rapport au témoin malade. L'application *in situ* des deux souches antagonistes P64 et S20 à l'encontre de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* . La souche S20 a pu induire une inhibition très significative de l'ordre de 87.26% de la sévérité de la maladie sur les plants bactérisés.

A travers les résultats obtenus, nous avons constaté que les meilleures activités antagonistes ont été induites par les souches bactériennes ayant l'aptitude à synthétiser des métabolites secondaires tels que les antibiotiques, l'acide cyanhydrique et les sidérophores. Ceci a été remarqué dans le cas des souches CHAO, productrice d'HCN et P64 et S20 productrice d'antibiotiques. Nous pouvons dire d'après l'étude des activités antagonistes *in situ* vis-à-vis des isolats F.ol et F.olin que les souches P64 et S20 par leurs très fort effet antagoniste, peuvent jouer un rôle en qualité d'antagoniste microbien dans le contrôle de la fusariose vasculaire.

Les souches bactériennes testées, P64, S20, CK4 et D2, ont montré leur implication dans l'induction de la résistance systémique chez les plants de tomate bactérisés et ce en dépit de la présence du pathogène. Cette induction a été fortement observée dans le cas des souches P64 et CK4. Ces dernières, en absence d'interaction avec l'isolat F.ol, provoquent une inhibition, respectivement, de 62.5% et de 60% de la maladie. Nous avons également signalé qu'il y a eu même une stimulation de la croissance des plants de tomate par rapport au témoin. Cette

stimulation a été observée surtout avec les plants bactérisés avec les souches présentant une forte activité antagoniste à l'encontre de l'isolat F.ol.

Il a été noté une augmentation progressive du taux des plants malades en fonction de l'accroissement de la densité fongique dans le sol. Dans ces mêmes conditions, la bactérisation du sol avec la souches P64 et CK4 a provoqué une réduction du nombre de plants malades. L'enrichissement du sol, avec des concentrations différentes en fer et en glucose a induit une variabilité différentielle dans l'expression de la maladie. Ce constat a été observé notamment avec la souche P64 où les concentrations de fer ont engendré une variabilité dans le taux de plants malades. Avec les traitements associés avec la souche CK4, mutant déficiente en pyoverdine, l'effet de l'addition du fer n'a pas influencée l'expression de la maladie. L'enrichissement du sol en glucose a provoqué des variations notables dans l'expression de la maladie, particulièrement dans le cas de la souche CK4 où il y a un taux de maladie élevé. Ces résultats mettent en évidence non pas uniquement l'effet des sidérophores sur le phénomène de bioprotection, mais également l'effet de la compétition trophique.

Les résultats obtenus confirment donc que les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent assurer une bioprotection des plantes vis-à-vis des agents pathogènes non seulement par la production de métabolites toxiques mais également par l'induction des réactions de défense de la plante .

Au vue des conditions de notre expérimentation, il est difficile de se prononcer sur les vraies potentialités des souches bactériennes, il est judicieux de multiplier les essais dans des conditions expérimentales variables. Selon les résultats obtenus, il est intéressant de poursuivre les essais en prenant en considération l'interaction rhizobactéries - agents pathogènes d'origine tellurique avec la plante hôte et la détermination des divers mécanismes qui sont en jeu. Egalement, l'étude des capacités de colonisation rhizosphérique, d'adhérence racinaire et de résistance aux facteurs d'environnement s'avère obligatoire pour augmenter les chances de réussite de la technique de biocontrôle. Il serait nécessaire d'entamer des recherches sur les technologies de formulation des inoculums bactériens pour permettre une bactérisation efficace et durable à l'échelle de production.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alabouvette, C., Lemanceau, P., and Steinberg, C. 1996. Biological control of *Fusarium* wilts: Opportunities for developing a commercial product. In Principals and practices of managing soil borne plant pathologies edited by Robert Hall. University of Guelph, Oubaris,(1996).
- Alabouvette, C., and Couteaudier, Y. 1992. Biological control of *Fusarium* with non pathogenic *Fusaria*, p.415-426. In E.C. tjamos, G.C. Papparizas, and R.J. Cook (ed), biological control of disease. Plenum press, New York.
- Alabouvette, C.1991. Suppressive soils and practical application of biological control of *Fusarium* diseases. In: Biological control of plant diseases. FFTC Book series N°42. pp.120-129.
- Alabouvette, C . 1986. *Fusarium* wilt suppressive soils from de châteaurenard region : review of a 10 year study. *Agronomie*: 6 (3), 273 -284.
- Albert, F. and Anderson, A.J. 1987. The effect of *Pseudomonas putida* colonization on root surface peroxidase. *Plant physiol.* 85, 535-541.
- Alstrom, S. 1991. Introduction of resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J. Gen . Appl. Microbial*, 37:495-501.
- Amir, H., and Alabouvette, C.1993. Involvement of soil abiotic factors in the mechanism of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts. *Soil biology and biochemisty* 25, 157- 164.
- Anderson, A., and Guerra, D. 1985. Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in a hydroponic system. *Phytopathology* 75,992-995.
- Anonyme, 1990.La culture du lin graine. Revue. Avec concours de l'ATL. Réactualisation 1992. Prolea-CETIOM.
- Armstrong, G.M., and Armstrong, J.K. 1981. *Formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases, in *Fusarium: Diseases, biology and taxonomy* (Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J., eds). Pennsylvania state university press, Pennsylvania, PP.391-399.
- 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 plant diseases". NATOADU. Res. Work shop, U.K. Plenum. Press. New York and London.

- Beckman, C.H. 1989. Colonization of the vascular system of plants by fungal with pathogens: a basis of modeling the interactions between host and parasite in time and space, in vascular wilt diseases of plants (Tjamos, E.C., and Beckman, C.H. Eds) Springer – Verlag, Heidelberg, Berlin, PP 19-32.
- Becker, J.O., and 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.
- Benchabane, M., Bakour, R., Toua, D., and Boutekrabi, A. 2000. Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. *Bulletin OEPP/EPPO*. Bulletin 30, 243-246.
- Benchabane, M. 1992. Le dépérissement bactérien des rosacées à noyaux, identification de l'agent causal, dynamique des populations bactériennes épiphytes et mise en évidence du pouvoir glaçogène *in vitro* et *in vivo*. Thèse Magister Ines Agro Blida. 119p.
- Benizri, E., Boudoin, E., Di Batista-Leboeuf, C., Guckert, A. 2001. Des bactéries pour la santé des plantes. *Rev Biofutur* 210.
- Benzina, F. 2001. Isolement et identification taxinomique des *Pseudomonas* spp fluorescents à partir de rhizosphère du palmier dattier et mise en évidence de leurs activités antagonistes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Thèse Ing Ines Agro Blida. 77p.
- Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X., Gardan, L. 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* : Current status and need for revision. *Agronomie*, 20:51-63.
- Budzikiewicz, H. 1993. Secondary metabolites from fluorescent *Pseudomonads*. *FEMS. Microbial Rev.* 104:209-228.
- Burr, T.J., Schroth, M.N., Suslow, T. 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strain of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Phytopathology* 68:1377-1383.
- Campbell, R. 1989. The use of microbial inoculants in the biologic control of plant diseases. In Campbell, R and R.M Macdonald(eds), *Microbial*, OIRL Press, Oxford, UK.
- Chain, E.B., and Mellows, G. 1977. Pseudomonic acid part 1 : The structure of pseudomonic acid A, a novel antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens*. *J.C.S. Perkin* 1:294-309.
- Castric, 1977. Glycine metabolism by *Pseudomonas aeruginosa*: hydrogen cyanide biosynthesis. *J. Bacteriol.* 130:826-831.

- Cook, R.J., and Baker, K.F 1983. The natural and Practices of biological control of plant pathogens. American phytopathological Society, St Paul, 539 pp
- Couteaudier, Y., and Alabouvette, C. 1981. *Fusarium* wilt diseases in soil less culture. Acta Horticulturae. N° 126, 153-158.
- Coyler, P.D., and Mount, M.S. 1984. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on post harvest soft rot diseases. Plant Disease 68, 703-706.
- Crichton, P.R., 1991. Inorganic Biochemistry of iron metabolism. Ellis Horwood Cichester PP: 1- 263.
- Crowley, E., Reid, CCP., and Szanszlo, P.J. 1991. Mechanisms of iron Acquisition from siderophores by microorganismes and plants. In Iron nutrition and interaction in plants. Eds Chen, Y. and Hadar, Y. PP 213-232. Kluwer Academic Publishers Netherlands.
- Crowley, E., Reid, C.P.P., Szaniszlo, P.J. 1987. Microbial siderophores as iron sources for plants. In: Iron transport un microbes plants and animals (G Winkelman, D. Vander helm, JB Neilands. Eds). VCH, Weinheim, 375-385.
- Curl, E.A . 1982. The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. Plant dis 66.624-630.
- Datta, S.K., and Muthukrishnan, S. 1999. Pathogenesis – related proteins in plants. CRC Press, Florida, USA.
- De Mayer, G., and Hofte, M. 1997. Salicylic acid produced by rhyzobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7 NSK2 induces resistance to leaf by *Botrytis cinerea* on bean. Phythopathology 87: 588-593.
- Défago, G., and Haas, D . 1990. Pseudomonads as antagonist of soil born plant pathogens: mode of action and genetic analysis. Soil biochem. 6: 249 -291.
- Défago, G., Haas, D., Berling, CH., Burger, U., Keel, C., Voisard, C., Wirthner, P., Wuthrich, B. 1990. Suppression of black root rot of tabacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In: Biological control of soil – borne plant pathogens (D. Hornby, ed), CAB, Int, 93-108.
- Digat, B. 1994. Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes: Le cas des *Pseudomonas*. C.R. Acad. Agric. Fr, 80, N° 2 pp 00 pp 125.
- Digat, B., et Gardan, L. 1987. Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *putida* . Bull . OEPP/ EPPO, 17, 559-568.

- Digat, B. 1983. Modes d'actions et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes. 24^{ème} colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux. Edit. INRA publ.. Coll. INRA, 18, 239-253.
- Djerbi, M. 1988. Les maladies du palmier dattier. Projet régional de la lutte contre le bayoud. 127p.
- Dowling, D.N., and O'Gara, F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Trends Biotechnology 12, 133-141.
- Duijff, B.J., Gianinazzi-Pearson, V., and Lemanceau, P. 1997. Involvement of outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic root colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r. Phytopathology, 135: 325-334.
- Duijff, B.J., Meijer, J.W., Bakker, P.A.H.M., and Schippers, B. 1993. Siderophore-mediated competition for iron and induced resistance in the suppression of *Fusarium* wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. Neth. J. Plant Pathol. 99: 125-129.
- Elad, Y., Baker, R. 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamyospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. Phytopathology, 75, 1053-1059.
- Flavel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. Ann. Rev. Phytopathology 26: 75-91.
- Fodor, J., Gullner, G., Adam, A.L., Barna, B., Kômvics, T. and Kiraly, Z. 1997. Local and systemic responses of antioxidants to tobacco mosaic virus infection and to salicylic acid in tobacco. Plant Physiol. 114, 1443-1451.
- Fushs, J., and Défago, G. 1991. Protection of tomatoes against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by combining a non pathogenic *Fusarium* with different bacteria in untreated soil. In Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Progress and Prospects (eds Keel C, Koller B and Défago G), pp. 51-56. Bulletin OILB/SROP XIV/8.
- Geels, F.P., Lamers, J.G., Hoekstra, O., Schippers, B. 1986. Potato plant response to seed tuber bacterization in the field in various rotations. Neth. J. Plant Pathol. 92: 257-272.
- Gindrat, D. 1975. La fusariose vasculaire de la tomate de plein champ en Suisse. Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic. 7: 69-72.
- Guerrinot, M.L. 1994. Microbial iron transport. Ann. Rev. Microbiol. 48: 743-772.

- Haas, D., Keel., Laville,L., Maurhofer,M., Oberkanoli,T., Schneider., Voisard,C., Wuthrich,B., and Défago,G.1991. Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in suppression of root diseases, p.450-456. In H. Hennecke and D.P.S. Verma(ed), Advances in molecular genetics of plant -microbe interactions.Kluwer Academic Dordrecht, Netherlands.
- Harrison, L.,Teplow,D.B.,Rinaldi,M.,and Strobel,G.1991.Pneumycins, a family of novel pectides from *Pseudomonas syringae* possessing broad-spectrum antifungal activity. J.Gen.Microbiol.137:2857-2865.
- Heming, B.C.1986. Microbial-iron interactions in the plant rhizosphere . An Overview, J. Plant Nat 9, 505-521.
- Hoffland, E.H., Hakulumien,J. and Van pelt, J.A. 1996. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and non pathogenic *Pseudomonas* species . Biological control Vol 130:249-482.
- Holloway, B.W. 1992- *Pseudomonas* in the late twenties three century . In: Molecular Biology and biotechnology (E. Galli, S. Silver, B. Witholt, eds), AM Soc Microbiol, Washington. DC,1-8
- Hornby, D.1983. Suppressive soils . Ann.Rev.Phytopathol.21: 65 -85
- Howel, CR., and Stepanovic, R.D. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. Phytopathology 69: 480-482.
- Howel, CR., and Stepanovic, R.D. 1980. Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic pyoluteorin. Phytopathology. 70: 712-715.
- Howie, W.J., and Suslow,T.V.1991. Role of antibiotic biosynthesis in the inhibition of *Pythium ultimum* in the cotton spermosphere and rhizosphere by *Pseudomonas fluorescens* . Plant- microb inter. 4:393-399.
- Hynes, R.K and Lazarovits, G. 1989. Effect of seed treatment with plant growth- promoting rhizobacteria on the protein profiles of incellular fluids from bean and tomato leaves. Can J plant Microbe Interact. 4, 393 – 399.
- James, D.J., Gutterson,N.I.1986. Multiple antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens* HV37a and their differential regulation by glucose. App.Environ.Microbiol.52:1183-1189.
- 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., and Booth, C. 1983. Plant pathologist's pocket book. 2nd ed Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 439p.
- Keel, C., Schneider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U., Wirthmer, Haas, D., and Défago, G. 1992. Suppression of root disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Importance of the Bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. Mol. Plant-Microbe Interact. 5:4-13.
- Keel, C., Maurhofer, M., Oberhansli, Th., Voisard, C., Haas, D., Défago, C. 1991. Role of 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of take-all of wheat by a strain of *Pseudomonas fluorescens*. In: Biotic interactions and soil borne diseases (Beemster, ABR, Bollen, GI, Gerlagh, M, Ruissen, MA, Schippers, B, Tempel, A.) Rev Agric Managed Forest Ecol 23, Elsevier, Amsterdam, 335-338.
- Keel, C., Wirthner, Ph., Oberhansli, Th., Voisard, C., Burger, U., Haas, D., and Défago, G. 1990. Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere : Role of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot of tobacco . Symbiosis 9:327-341.
- Keel, C., Voisard, C., Berlin, C.h., Kahr, G., and Défago, G. 1989. Iron sufficiency, a prerequisite for suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO under gnotobiotic conditions. Phytopathology 79:584-558.
- King, E.O., Wark, M.K., and Raney, D.E. 1954. Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein. Journal of Laboratory and chemical medicine 44,301-307.
- Kloepper, J.W. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control Agents. In: Metting B, ed. Soil Microbial Technologies. New York: M. Dekker Inc., 255-274.
- Kloepper, J.W. , Tuzun, S., and Kuc, J.A. 1992. Proposed definition related to induced disease resistance. Biocontrol Science and Technology 2: 349 -351.
- Kloepper, J.W. 1983. Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and in daughter tubers. Phytopathology 73,217-219.
- Kloepper, J.W and M.N. Schroth. 1981. Relation ships of *in vitro* antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. Phytopathology 71: 1020-1024.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M.N. 1980. *Pseudomonas* Siderophores: a mechanism explaining disease suppression soils. Curr. Microbiol.4: 317-320

- Kloepper, J.W., Schroth, M.N. 1978. Plant growth – promoting rhizobacteria on radishes. In: Proc int Conf Plant Pathol Bact Angers, 379-382.
- Krasilnikoy, M. 1961. The role of soil bacteria in plant nutrition. J. Gen. Appl microbial 7:128-144.
- Kuan, T.L., and D.C. Erwin. 1980. Predisposition effect of water saturation of soil on *Phytophthora* root rot of alfalfa. Phytopathology 70 : 981 – 986.
- Lankford, C.E. 1973. Bacterial assimilation of iron crit. Rev. Microbiol 2: 273 - 331.
- Larbaoui, A. 1999. Mise en évidence de la production de sidérophores, de l'acide cyanhydrique et d'antibiotiques chez quelques souches de *Pseudomonas fluorescens*. Thèse Ing Ines agro Blida 68p.
- Larpent, J P., Sanglier, J.J. 1989. Biotechnologie des antibiotiques. Ed Maye. 481pp.
- Latterot H., Blancard, D., Couteaudier, Y. 1988. Les fusirides de la tomate .Phm. Rev. Hort. 288 :29-32.
- Leeman, M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Dirkx, F.P.M., Steijl, H., Bakker, P.A.H.M., and Schippers, B. 1996. Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology 86, 149-155.
- Leeman, M., Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroek, M., Bakker, P.A.H.M., and Schippers, B. 1995. Induction of systemic resistance against *Fusarium* wilt of radish by lipopolysaccharides of *Pseudomonas fluorescens*. Phytopathology 85: 1021-1027.
- Leisinger, T., and Margraff, R. 1979. Secondary metabolites of the *Pseudomonads* fluorescents. Microbiol Rev . 43:422-442.
- Lemanceau, P., Alabouvette, C. 1993. Suppression of *Fusarium* wilts by fluorescent *Pseudomonads*: mechanism and applications. Biocontrol sciences and Technology 3: 219-234.
- Lemanceau, P. 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes: Exemple des *Pseudomonas* spp. fluorescents. Agronomie 12 : 413-437.
- Lemanceau, P., and Alabouvette, C. 1991. Biological control of *Fusarium* diseases by the association of fluorescent *Pseudomonas* and non pathogenic *Fusarium*. In: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria . Progress and Prospects (eds Keel ,Koller, B and Défago, G) , pp.51-56. Bulletin OILB/ SROP xiv/8.

- Lemanceau, P., Alabouvette, C., and Couteaudier, Y. 1988. Recherche sur la résistance des sols aux maladies XIV. Modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer ou de glucose. *Agronomie*. 8(2) 155-162.
- Leong, J. 1986. Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 24, 187-208.
- Lifshitz, R., Kloepper, J.W., Kozlowski, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping, E.M., Zaleska, I. 1987. Growth promotion of canola (repeeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. *Can J. Microbiol* 33, 390-395.
- Linberg, G.O. 1981. An antibiotic lethal to fungi. *Plant Dis* 65: 680-683.
- Lindsay, W.L., and Schwab, B. 1991. The chemistry of iron in soil and its availability to plants. *J. Plant Nutr.* 5: 821-840.
- Liu, L., Kloepper, J. W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 843 – 847
- Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1992. Induction of systemic resistance against cucumber mosaic virus by seed inoculation with select rhizobacterial strains. (Abst). *Phytopathology*. 82: 1108-1109.
- Loper, J.E., Buyer, J.S. 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mole Plant –Microbe, Interact* 4, 5-13.
- Louvet, J., Rouxel, F., Alabouvette, C. 1976. Recherche sur la résistance des sols aux maladies. I. Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance d'un sol au développement de la fusariose vasculaire du melon. *J. gen. Microbiol*, 107, 319 -328.
- Mattar, J. 1993. Les *Pseudomonas* fluorescents de la rhizosphère: caractérisation, incidence de la température et microflore autochtone sur la colonisation racinaire. Thèse. Doct. Univ. Lyon 130p.
- Maurhofer, M., Reimann, C., Schmidli-Sacherer, P., Heeb, S., Haas, D., and Défago, G. 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco necrosis virus. *Phytopathology*, Vol 88, N°7 pp. 678-684.

- Maurhofer, M., Haas, C., Meuwly, P., Metraux, J.P. and Défago, G. 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *P. fluorescens* strain CHAO: Influence of the gac A gene and pyoverdine productions. *Phytopathology* 84,139-146.
- Maurhofer M., Keel,C., Schneider,U., Voisard,C., Haas,D., Défago,G.1992. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO on its disease suppressive capacity .*Phytopatolgy* 82:190-195.
- Meena, B., Radhajeyalakshmi ,R., Vidhyasekaran, R., and Velazhahan, R. 2999. Effect of foliar application of *Pseudomonas fluorescens* on activities of phenylalanine Ammonia- lyase, chitinase and B-1,3-Glucanase and accumulation of phenolics in rice. *Acta phytopathologica et entomologica hungarica* 34 (4), pp 307 – 315.
- Mendes,K.2001. Identification de souches bactériennes rhizosphériques de *Pseudomonas* spp fluorescents et étude de leurs activités antagonistes *in vitro* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* et de *Fusarium oxysporum* f.sp.*lini* . Thèse Ing. Inst Agro Univ Blida 81p.
- Messiaen,C.M., Blancard,D.,Rouxel,F.,and Lafon,R.1990. Les maladies des plantes maraîchères. 3^{ème} ed. 552p.
- Meyer, J.M., and Abdellah, A. 1978. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physico-chemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107: 319-328.
- Miller, D.E., and D.W. Burk. 1974. Influence of soil bulk density and water potential on *Fusarium* root rot of bean. *Phytopathology* 64:526 – 529
- Mishagi, IG., Stowel,L.I., Grogan,R.J., and Spearman,L.C.1982. Fungistatic activity of water-soluble fluorescent pigment of fluorescent pseudomonads . *Phytopathology* 72:33-36.
- M'Piga, P., Belanger, R.R., Paulitz, T.C., and Benhamou, N.1997- Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f sp. *radicis lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 50. 301-320.
- Murray, H.1996. File : //A: Growing flax –Diseases.htm.
- Neilands, J.B. 1981. Iron absorption and transport in microorganism. *An. Rev. Nutr.* 1:27 - 46.
- Neilands, J.B.1995. Siderophores: Structure and function of microbial iron Transport compounds *J. Biol. chem.* 270: 26723-26726.

- Neilands, J.B., and Leong, S.A. 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. *Ann. Rev. plant. Physiol.* 37:187-208.
- Noawk, J., Frommel, M., and Lazarovits, G. 1990. *In vitro* growth promotion of potato by pseudomonad bacterium. *J. Cellular biochem. Suppl.* 14E: 355.
- O'Sullivan, D.J., and O'Gara, F. 1992. Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol Rev.* 56: 662-676.
- Olivain, C., Steinberg, C., and Alabouvette, C. 1995. Evidence of induced resistance in tomato inoculated by non pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. In : Manta (ed) *Environnemental biotic factors in integrated plant disease control* (PP.427-430) , 3rd EFPP conference, Poznan.
- Palleroni, N.J. 1992- Introduction to the family Pseudomonaceae . In: *the Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer. Verlag, New York, 3071-3085
- Palleroni, N.J., 1984. GRAM- negative aerobic rods and cocci : Family I Pseudomonaceae. In: *Bergey's Manual of bacteriology* (NR Krieg, JG.Holt- eds) William et Wilkins, Baltimore, 1, 141-199.
- Pecault, P., et Latterot, H .1966. Perspective sur la sélection de variétés de tomate résistantes aux maladies . *Genetica agraire* . 20 : 110-120 .
- Pieterse C.M.J., Van Wees, S.C.M., Hoffland, E., Van Pelt, J.A and Van Loon, L.C. 1996. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis- related gene expression. *Plant cell* 8 : 1225- 1237
- Rabell, G. 1981. *Fusarium* in human and veterinary medicine . pp 210-220 In: *Fusarium diseases biology , and taxonomy* .P.E. Nelson; T.A. Toussoun and R.J. Cook. Eds. Pennsylvania state university.
- Rampach, G.S., Liu, L., Murphy, J.F., Tuzun, S., and Kloepper, J.W. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic virus using plant growth- promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis* 80. 891- 894
- Reddy, M.S . 1992 . Biological control of plant diseases ESSO Ag biologicals, 402-415. Innovation Blvd. Saskatoon, Saskatchewan S7N 2x2. 33-41.
- Reddy, M.S. and Z.A. Patrick . 1990 . Effect of bacteria associated with mushroom compost and casing on basidiomata formation in *Agaricus bisporus*. *Canadian journal of plant pathology* (in press).

- Saint-pierre, B., Miville, L., and Dion, P. 1984. The effects of salicylates on phenomena related to crown gall. *Can. J. Bot.* 62:729-734.
- Scher, F.M., Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in a *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, 72: 412-417.
- Schippers, B et Van Eck, W.H. 1981. Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*: Diseases, Biology and Taxonomy (Nelson, P.E., Tousson, T.A and Cook, R.J., eds) Pennsylvania state university Press, Pennsylvania, pp. 250-260.
- Schneider, R.W. 1984. Effects of non pathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* and a novel use of the lineweaver-burk double reciprocal plot technique. *Phytopathology* 74: 646-653.
- Schneider, R. W. 1982. Suppressive soils and plant disease. American Phytopathological Society, St Paul. 88 pp
- Schroth, M.N. and Hildebrand, D.C. 1964. Influence of plant exudates on root-infecting fungi. *Annual review of phytopathology* 2, 101-132.
- Schroth, M.U., Hildebrand, D.C., Panopoulos, N. 1992. Phytopathogenic Pseudomonads and related plant-associated Pseudomonads. In: the prokaryotes (MP Balows, ed) Springer-Verlag, New York, 3104-3131.
- Schroth, M.N., and Hancock, J.G. 1982. Diseases suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216:1376-1381.
- Semal, J. 1989. *Traité de la pathologie végétale*
- Seong, KY., and Shin, P.G. 1996. Effect of siderophore on biological control of plant pathogens and promotion of plant growth by *Pseudomonas fluorescens* Ps 88. *Agr. Chem Biotech*, 39: 20-24.
- Shanahan, P., O'sullivan, D.J., Simpson, P., Glennon, J.D., O'gara, F. 1992. Isolation of 2,4-diacetylphloroglucinol from fluorescent *Pseudomonas* and investigation of physiological parameters influencing its production. *App Environ Microbiol* 58:353-358.
- Singh, L. 1978. In vitro screening of some chemicals against three phytopathogenic fungi. *J. Indian Bot. Soc.* 57:191-195.
- Sneh, B., Dupler, M., Elad, Y., and Baker, R. 1984. Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f sp. *cucurimerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a *Fusarium* suppressive soil. *Phytopatology* 74:1115-1124.
- Sonada, R.M. 1976. The occurrence of *Fusarium* root of tomato in south Florida. *Plant disease reporter*. 60: 271-274.

- Stotzky, G. 1986. Influence of soil mineral colloids on metabolic processes, growth, adhesion, and ecology of microbes and virus, P.305- 428. In P.M Hang and M. Schnitzer (ed). Interactions of soil minerals with natural organisms and microbes. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Suslow, T.V . 1982. Role of root- colonizing bacteria in plant growth. pp.187-223 in Mount, M.S. and G.H. Lacy (eds.), phytopathogenic Prokaryotes, vol 1. Academic Press, New York.
- Synder, W.C., and Hansen, H.N.1954. Variation and speciation in the genus *Fusarium* Ann.N.Y. Acad Sci 60:16-23.
- Teinze, M., Hossain, M.B., Barnes, C.L., Leong, J., and Van Der Helm, D. 1981. Structure of ferripseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10. Biochemistry 20: 6446-6457.
- Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bonsall, R.F., and Pierson, L.S. 1990. Production of the antibiotic phenazine -1- carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat . App. Environ. Microbiol. 56:908-912.
- Thomashow, L.S., and Weller, D.M. 1988. Role of phenazines antibiotic from *P. fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. J. Bacteriol. 170: 3499-3508.
- Tibibel, N .1979. Etude comparative de quatre isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* issues de quatre variétés de tomate .Thèse Ing .Etat .INA El harrach.
- Toua, D. 1996. Essai d'utilisation de *Pseudomonas fluorescens* dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* et de *Verticillium dahliae* sur tomate et dans la promotion de la croissance végétale. Thèse Magister. INA. El Harrach. Alger.138p.
- Tuzun, S., Kloepper, J. 1995. Pratical application and implementation of induced resistance. In: hammerschmidt R, Kuc J, eds. Induced resistance to disease in plants. Dordrecht, Boston, London : Kluwer Academic Press, 152-168.
- Tuzun, S., Nesmith, W., Ferris, R.S., and Kuc, J. 1986. Effects of stem injections with *Peronospora tabacina* on growth of tobacco and protection against blue mold in field. Phytopathology 76: 938-941.
- Tuzun, S., and Kuc, J. 1985. A modified technique for inducing systemic resistance to blue mold and increasing growth in tobacco. Phytopathology 75: 1127-1129.

- Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review Of Phytopathology* 36: 453- 483.
- Van Peer, R., and Schippers, B. 1992. Lipopolysaccharides of plant growth – promoting rhizobacteria sp. Strain wc417r induce resistance in carnation of *Fusarium* wilt. *Neth.J.Plant Pathol* 98: 129-139.
- Van Peer, R., Neimann, G.J., and Schippers, B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp strain WCS 417r. *Phytopathology* 81, 728-734.
- Vidhyasekaran, R., Rabindran, R., Muthamilan, M., Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian, N., and Vasumathi, K. 1997. Development of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control pigeonpea wilt. *Biol. Control* 8, 166-171.
- Voisard, C., Keel, C., Haas, D., and Défago, G. 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO. J.* 8: 351-358.
- Walker, J.C. 1961. *Plant pathology* 3rd ed. 819p.
- Wei, G., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria *phytopathology* 81: 1508-1512.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soil-borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual review of phytopathology* 26: 379-407.
- Zehnder, G.W., Murphy, J.F., Sikora, E.J., and Kloepper, J.W. 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. *J Plant Pathology* 107: 39-50
- Zhor, R.E., and Anderson, A. J. 1992. Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of bean. *Plant Soil* 140:99-107
- Zhou, T., and Paulitz, T.C. 1994. Induced resistance in the biological control of *Pythium aphanidermatum* by *Pseudomonas* spp. on cucumber. *J.phytopathol.* 142,51- 63.

ANNEXES

Annexe 1 : Milieux de cultures

MILIEU B de King (King *et al.*, 1954)

Peptone (Difco)	20 g
Glycerole (Prolabo)	15 ml
K ₂ Hpo ₄ (Sigma)	1,5 g
MgSo ₄ (Sigma)	1,5 g
Agar (Sigma)	15 g
Eau distillée	1000 ml

pH = 7,2 autoclavage 20 minutes à 120° C

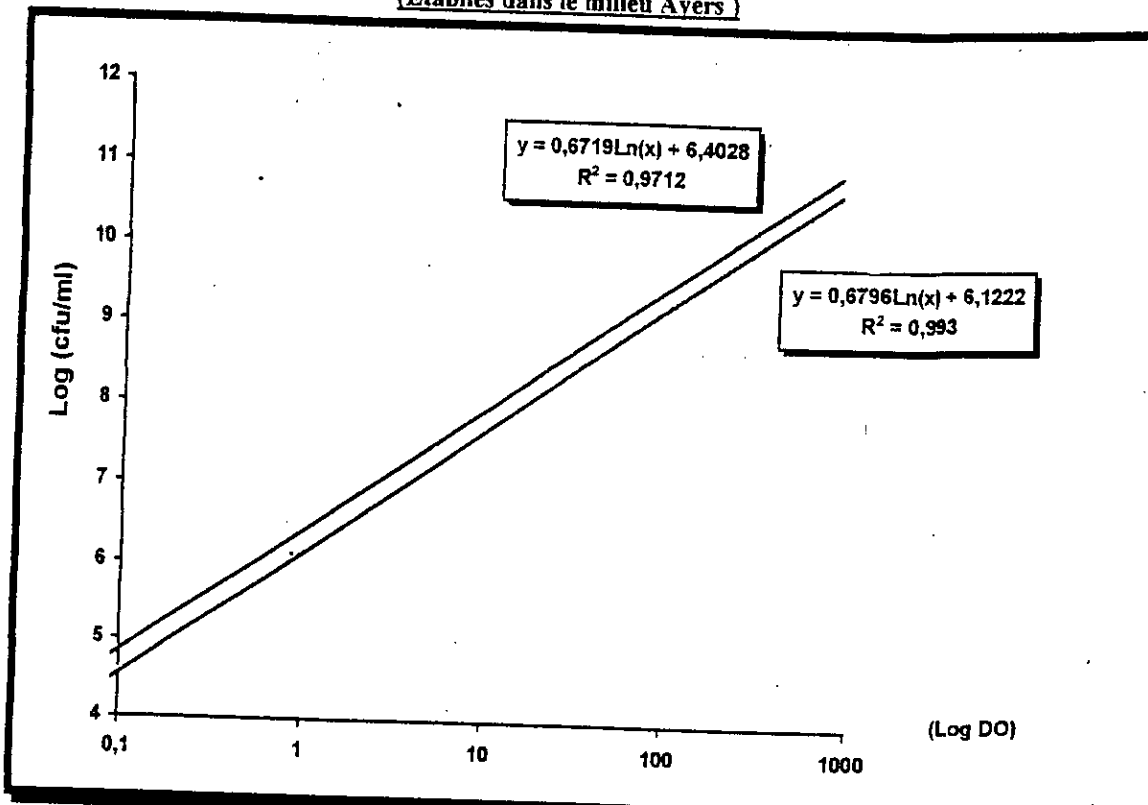
Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Jonsthor et Booth, 1983)

Pomme de terre	200 g
Dextrose	20 g
Ager	15 g
Eau distillée	1000 ml

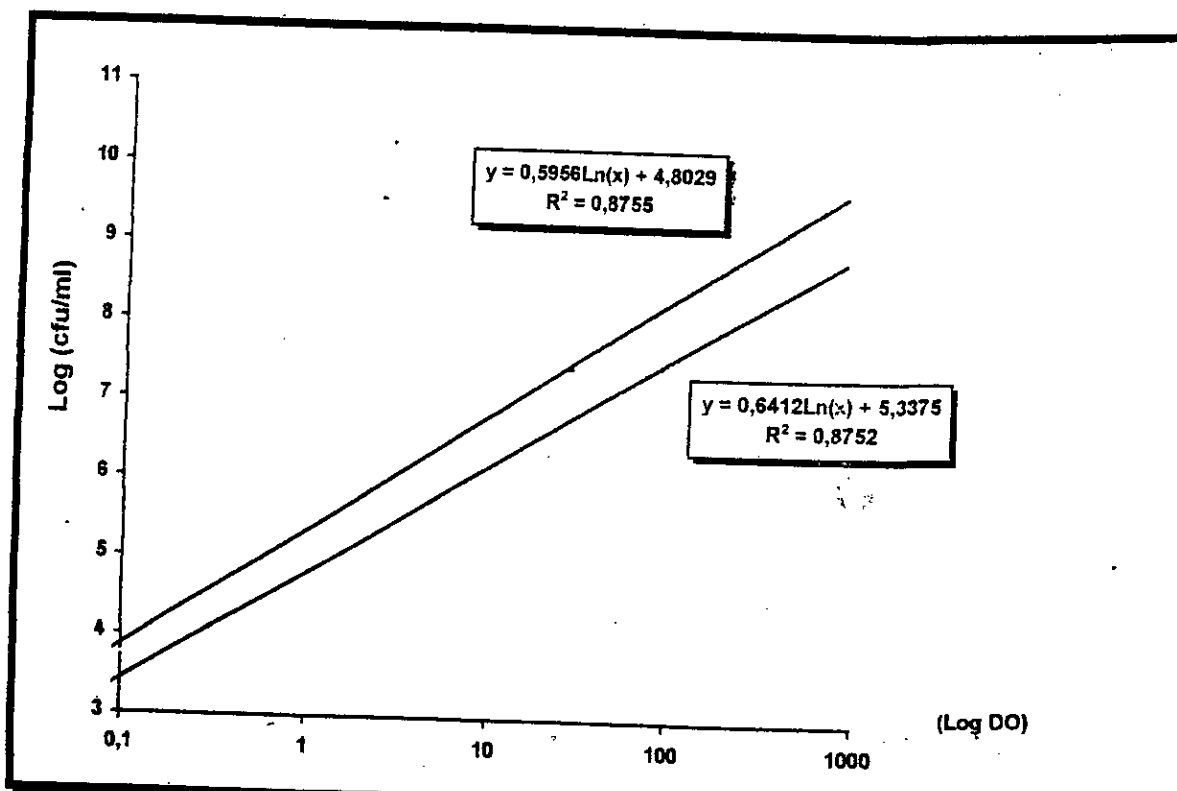
pH 6,8 autoclavage 20 minutes à 120° C

Annexe 2: Cofurbes étalons des souches bactériennes

(Établies dans le milieu Ayers)



Courbes étalons des souches



Courbes étalons des souches

RESUME

Les souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents testées présentent des potentialités de production de métabolites secondaires à effet d'antibiose, notamment les siderophores, l'acide cyanhydrique et les antibiotiques. Des extraits de cultures ont montré des activités antifongiques appréciables à l'encontre de trois formes spéciales de l'espèce *Fusarium oxysporum*; il s'agit de *lycopersici*, de *lini* et de *albedinis*.

La bactérisation du sol et des plantules assure une action de bioprotection vis à vis des fusarioses vasculaires provoquées, respectivement, par *F. o* f.sp. *lycopersici* en interaction avec *Lycopersicon esculentum* et par *F. o* f.sp. *lini* en interaction avec *Linum usitatissimum*. L'application de la bactérisation *in situ* induit des taux d'inhibition de l'expression des fusarioses vasculaires jusqu'à des taux dépassant le seuil de 85% par rapport aux témoins malades conduits dans les mêmes conditions.

La bactérisation de plantules de tomate, sur des parties racinaires séparées, ne permettant pas le contact direct entre le pathogène et l'antagoniste, a induit une résistance systémique inhibant l'expression des symptômes de la fusariose chez la tomate. Cette résistance systémique induite a provoqué des taux d'inhibition de la maladie, par rapport aux témoins, dépassant le taux de 60 %.

L'introduction des souches bactériennes antagonistes dans le sol, en présence de densités croissantes du pathogène, a permis d'observer des activités d'antagonisme retardant le développement de la maladie et annulant l'effet du pathogène sur les plants testés. La bactérisation du sol a permis d'améliorer sa résistance vis à vis de la maladie par le processus de suppression connu dans le cas des sols résistants.

L'enrichissement du sol en fer et en glucose provoque des variations dans l'effet antagoniste microbien et par conséquent sur le niveau de résistance du sol. Cette variation prend son origine à partir des mécanismes d'action liées au fer assimilable influençant la synthèse de siderophores ou à partir de la compétition trophique relative au glucose.

SUMMARY

The bacterial strains of *Pseudomonas* spp. fluorescent tested present potentialities of production of metabolites secondary to effect of antibiosis, notably the siderophores, the hydrocyanic acid and the antibiotics. Extraction of these strains showed activities substantial antifungal towards three forms special of the species *Fusarium oxysporum*: *lycopersici*, *lini* and *albedinis*.

The bacterization of soil and plants give an action of bioprotection towards fusarium wilt respectively, caused by *F. o* f.sp. *lycopersici* in interaction with the *Lycopersicon esculentum* and by *F. o* f.sp. *lini* in interaction with the *Linum usitatissimum*. The application of the bacterization "in situ" induced an inhibition rates of the expression of diseases until rates passing the level of 85% in comparison to the witnesses driven in the same conditions.

The bacterization of tomato plants, on parts detached roots, not permitting the direct contact between the pathogenic and the antagonist, induced a systemic resistance inhibiting the expression of the symptoms of the wilt fusarium tomato. This induced systemic resistance inhibited the diseases at rates 60%.

The antagonistic bacterial strains introduced in soil, in presence of increasing densities of the pathogenic, permitted to observe activities of antagonism delaying the development of the illness and annulling the effect of the pathogenic on the tested plantations. The bacterization of soil permitted to express its resistance "suppressiveness soils" by the process of suppression.

The enrichment of soil by iron and glucose produced some variations in the microbial antagonistic effect and therefore on the level of soil resistance. This variation takes its origin from the mechanisms of action bound to the assimilated iron influencing the synthesis of siderophores or from the related to trophic competition.

* ملخص *

دراسة بعض العزلات لبكتريا من سلالة *Pseudomonas fluorescents* أظهرت امكانيات في افراز بعض المركبات الحيوية الثانوية ذات فعاليات مضادة لنمو بعض الفطريات الضارة بالنباتات . من ضمن هذه الإفرازات المضادة ، نذكر بالخصوص نواقل الحديد Siderophores ، حمض السيانيهيدريك بالإضافة الى المضادات الحيوية .

استعملت عصارة زرع لهذه البكتريا في تجارب مخبرية و أظهرت فعاليات مضادة لنمو الفطريات (*Fusarium oxysporum* (albedinis, lycopersici, lini) .

زرع التربة بهذه العزلات البكتيرية و كذا استعمالها على المجموع الجذري لنبات الطماطم والكتان و فر امكانيات حمايتها بالطرق البيولوجية ضد الأمراض الفطرية الضارة بها:

(F.o. lycopersici) و ضد (F.o. lini)

الاستعمال هذه البكتريا النافعة تسبب في الإنقاص من ظهور أعراض المرض بنسب تتعدى 85 بالمائة بالمقارنة مع النباتات المستعملة كشاهد .

في تجارب أخرى حيث أستعملت البكتريا دون اتصال مباشر مع الفطر المسبب للمرض على المجموع الجذري المنقسم الى قسمين ، لا حظنا اظهار مقاومة ذاتية عند النباتات نتيجة تحفيز اليات الأنشطة الحيوية للنبات من جراء الإفرازات البكتيرية .

زرع التربة بهذه البكتريا أمكننا من ملاحظة اكتساب مقاومة و اضعاف مفعول الفطر الضار نتيجة الأنشطة الحيوية النافعة لدى البكتريا . هذا المفعول تأثر بتغيير تراكيز السكر و الحديد في التربة مؤديا الى تغيير نسب النباتات المصابة بالمرض في كل حالة .

