

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA**  
**FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES**  
**DEPARTEMENT D'AGRONOMIE**

## **MEMOIRE DE MAGISTER**

OPTION : PHYTOPATHOLOGIE

ETUDE DE L'EFFET DES *PSEUDOMONAS* SPP. FLUORESCENTS ET DE  
L'ISOLAT FO47 DE *FUSARIUM OXYSPOURUM* NON PATHOGENE DANS LA  
LUTTE BIOLOGIQUE VIS-A-VIS DES FUSARIOSES VASCULAIRES.

PAR

**Fatiha BENSAID**

Devant le jury composé de :

A. Boutekrabt	Professeur, USD. Blida	Président
Z. Krimi	Maître de conférence, USD. Blida	Examinatrice
M. Boudjemia	Chargée de cours, USD. Blida	Examinatrice
M. Benchabane	Maître de conférence, USD. Blida	Promoteur

BLIDA, juin 2006

Nom du document : page de garde  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA  
Sujet :  
Auteur : Admin  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 08/07/2006 13:50:00  
N° de révision : 3  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 15:07:00  
Dernier enregistrement par : Hamid\_KALAI  
Temps total d'édition : 7 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:21:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 1  
Nombre de mots : 153 (approx.)  
Nombre de caractères : 844 (approx.)

## RESUME

L'objectif de notre travail est la mise en évidence des capacités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescence* S20 et CHAO et de l'isolat fongique FO47 non pathogène *Fusarium oxysporum* vis-à-vis des agents phytopathogènes *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* .f.sp. *lini*. Cette étude a été réalisée en trois parties principales : la première porte sur les activités antagonistes *in vitro* et *in situ*, la deuxième porte sur l'étude de l'ISR «induction la systémique de résistance chez la tomate» et la troisième s'intéresse à l'étude de la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire de la tomate.

Les essais réalisés *in vitro* ont montré que nos antagonistes inhibent de façon significative la croissance mycélienne, la germination conidienne et l'élongation des tubes germinatifs des champignons phytopathogènes. Il a été constaté l'implication des effets d'antibiose ainsi que ceux de la compétition trophique. L'inhibition de ces paramètres vitaux, pour le développement des pathogènes, peuvent contribuer amplement dans la répression de ses capacités reproductives et infectieuses. Les interactions réalisées au niveau des plantes hôtes (essais *in situ*), avec l'application des antagonistes, ont permis de réduire de façon significative le développement des deux fusarioses qualitativement et quantitativement. Les taux d'infections ont régressé significativement par rapports aux témoins et la sévérité était faible. Dans quelques interactions il a été noté une inhibition totale de l'expression des maladies.

Les essais d'induction de la résistance systémique, chez la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, ont permis de constater que l'application des antagonistes stimule les mécanismes naturels de défense de la plante, tout en excluant tout contact direct entre l'antagoniste et le pathogène en question.

L'équilibre microbiologique dans le sol, entre la population antagoniste et celle du pathogène, peut faire l'objet d'une modulation à travers des variations microbiologiques ou des additifs influençant directement ou indirectement le comportement métabolique microbien (métabolismes primaire et secondaire). Dans nos essais il a été noté l'effet positif ou négatif sur la population pathogène, exprimé à travers ses capacités infectieuses, en favorisant son développement ou celui des bactéries antagonistes en stimulant son activité métabolique secondaire (synthèse de sidérophores).

Globalement, il a été constaté une diversité dans les mécanismes d'action (selon la nature fongique ou bactérienne de l'antagoniste), des intensités antagonistes fluctuantes selon les conditions expérimentales (sol désinfecté ou naturel) et selon les réactions de la plante hôte (tomate ou lin). A travers les résultats obtenus, les antagonistes peuvent agir de différentes manières : antibiose, compétition trophique et spatiale, induction de la résistance de la plante et inhibition du pathogène dans le sol.

## SUMMARY

The objective of our present work is the description of the antagonistic capacities of two strains of *Pseudomonas fluorescence* (S20 and CHAO) and the nonpathogenic fungic isolate FO47 *Fusarium oxysporum* against phytopathogenic agents: *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp *lini*. This work has been achieved in three main parts: the first is interested on the *in vitro* and *in situ* antagonistic activities, the second was studied the ISR effect "induction systemic resistance" in tomato plants, and the third part is interested to study the soil receptiveness of fusarium wilt tomato.

Assays *in vitro* showed that our antagonists inhibit with a high level the mycelia growth, conidia germination and elongation of structural pathogens. It has been noted the implication of antibiosis effects as those of the trophic competition. The inhibition of these vital parameters, for the development of pathogenic, can contribute amply in the repression of its reproduction and infection processes. The interactions experimented in host plants tomato or flax (*in situ* assays), with the application of the antagonists, permitted to reduce in a meaningful way the development of both wilt fusarium diseases qualitatively and quantitatively. The rates of infected plants regressed significantly and severity was low.

Induced systemic resistance (ISR) tomato plants infected within *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, split system experiments while excluding any direct contact between the antagonist and the pathogenic, allowed to note that the application of the antagonists stimulates the natural mechanisms of the plant defence.

Soil microbial balance, between the antagonistic population and that of pathogenic, can be modulated through microbiological variations or abiotic additives influencing directly or indirectly the metabolic behavior of the microbial. In this experiment, addition of glucose or EDTA, could increase or decrease the resistance of soil by activation of pathogenic or antagonists, as a result of modification and modulation in their metabolic activities. In our tests it was noted the positive or negative effect on the pathogenic population, expressed through its infectious capacities, by supporting its development or that of the antagonistic bacteria by stimulating its secondary metabolic activity (synthesis of siderophores).

Globally, it was noted a diversity in the mechanisms of action (according to the fungi or bacterial nature of the antagonist), of the fluctuating antagonistic intensities according to experimental conditions (disinfected soil or natural soil) and according to reactions of the plant host (tomato or flax). Through the results obtained, the antagonists can manage in various manners: antibiosis, trophic and space competition, induction of the plant resistance and inhibition of pathogenic in the soil. Associations of the microbial antagonists (combination use), in our study, made it possible to note that there can be complementary, cumulative and even synergic effects.

## ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو اظهار المفعول البيولوجي لعزلات احياء دقيقة نافعة في مكافحة و ابادة الأضرار المرضية الناجمة من الفطرين الضارين بالنبات

*Fusarium oxysporum f.sp. lini* *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*  
الأحياء الدقيقة النافعة المستعملة في تجاربنا هي من صنفين: عزلتين بكتيريا ( CHAO, S20). من سلالة  
*Pseudomonas fluorescense* و عزلة فطرية نافعة FO47 من سلالة *Fusarium oxysporum*.

دراستنا تشمل على ثلاث مراحل أساسية : في المرحلة الأولى أظهرنا المفعول الميكروبيولوجي الايجابي بواسطة تجارب مخبرية باستعمال النبات. المرحلة الثانية درسنا فيها تأثير هذه الأحياء الدقيقة في تنشيط الامكانيات الطبيعية للمقاومة لدى نبات الطماطم. أخيرا في المرحلة الثالثة قمنا بدراسة امكانية اضعاف مفعول الفطر الضار مباشرة في التربة.

نتائج الجزء الأول من هذه الدراسة أظهرت أن المفعول البيولوجي امكن توقيف انتاش بنيات التوليد، تطاول و نمو الفطر في الأوساط المغذية. التجارب المجراة على النبات أظهرت أن المفعول المرضي الضار للفطرين  
*Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*، *Fusarium oxysporum f.sp. lini*  
قد تراجع، حتى أنه في بعض الأحيان أضرر تماما، بمفعول الأحياء الدقيقة النافعة.

في الجزء التجريبي الثاني، رغم عدم تواجد أي علاقة تضاد مباشرة، بين الأحياء الدقيقة النافعة و الفطر الضار. إلا أن الأعراض المرضية تراجعت بقدر ملموس كما و كيفا نتيجة تنشيط القدرات الدفاعية الطبيعية لدى النبات. بما أن الصنف المرضي المدروس نابع من التربة، قد حاولنا في الجزء الأخير لهذه الاطروحة التأثير على المفعول الضار للفطر داخل التربة. التأثير هذا كان بواسطة تغيرات ميكروبيولوجية و ذلك بادخال العزلات النافعة السابقة الذكر و كمرحلة أولى، و باحداث تغيرات غذائية بادخال glucose او EDTA كمرحلة ثانية.

دراستنا اظهرت ان المفعول الحيوى للتضاد الميكروبيولوجى نابع من عدة ميكانيزمات فعالة بحسب طبيعة الكائن الحي الدقيق (بكتيريا او فطر) ، و حدة المفعول المتغيرة حسب الظروف التجريبيى (تربة معقمة او طبيعية) و حسب مقاومة النبات (طماطم او كتان). ان الاحياء الدقيقة المجربة بامكانها التأثير بطرق عدة : التضاد الحيوى ، التنافس على الاغذية و الامكنة و تنشيط المقاومة الطبيعية للنبات و كذا التقليل من حدة الفطر (تواجده او مفعوله) مباشرة فى التربة. استعمال مزيج من هذه الأحياء الدقيقة المختبرة فى اعمالنا بامكانها الزيادة في المفعول الايجابي، و ذلك بطرق كيميائية او تضاعفية.

Nom du document : RESUME  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : RESUME  
Sujet :  
Auteur : Admin  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 08/09/2006 15:59:00  
N° de révision : 2  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 15:59:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition :3 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:22:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 3  
Nombre de mots : 1 263 (approx.)  
Nombre de caractères : 6 950 (approx.)

---

## ETUDE DE L'EFFET DES *Pseudomonas* spp. FLUORESCENTS ET DE L'ISOLAT FO47 DE *Fusarium oxysporum* NON PATHOGENE DANS LA LUTTE BIOLOGIQUE VIS A VIS DES FUSARIOSES VASCULAIRES.

---

L'objectif de notre travail est la mise en évidence des capacités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescence* S20 et CHAO et de l'isolat fongique FO47 non pathogène *Fusarium oxysporum* vis-à-vis des agents phytopathogènes *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*. Cette étude a été réalisée en trois parties principales : la première porte sur les activités antagonistes *in vitro* et *in situ*, la deuxième porte sur l'étude de l'ISR «induction la systémique de résistance chez la tomate» et la troisième s'intéresse à l'étude de la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire de la tomate.

Les essais réalisés *in vitro* ont montré que nos antagonistes inhibent de façon significative la croissance mycélienne, la germination conidienne et l'élongation des tubes germinatifs des champignons phytopathogènes. Il a été constaté l'implication des effets d'antibiose ainsi que ceux de la compétition trophique. L'inhibition de ces paramètres vitaux, pour le développement des pathogènes, peuvent contribuer amplement dans la répression des ses capacités reproductives et infectieuses. Les interactions réalisées au niveau des plantes hôtes (essais *in situ*), avec l'application des antagonistes, ont permis de réduire de façon significative le développement des deux fusarioses qualitativement et quantitativement. Les taux d'infections ont régressé significativement par rapports aux témoins et la sévérité était faible. Dans quelques interactions il a été noté une inhibition totale de l'expression des maladies.

Les essais d'induction de la résistance systémique, chez la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, ont permis de constater que l'application des antagonistes stimule les mécanismes naturels de défense de la plante, tout en excluant tout contact direct entre l'antagoniste et le pathogène en question.

L'équilibre microbiologique dans le sol, entre la population antagoniste et celle du pathogène, peut faire l'objet d'une modulation à travers des variations microbiologiques ou des additifs influençant directement ou indirectement le comportement métabolique microbien (métabolismes primaire et secondaire). Dans nos essais il a été noté l'effet positif ou négatif sur la population pathogène, exprimé à travers ses capacités infectieuses, en favorisant son développement ou celui des bactéries antagonistes en stimulant son activité métabolique secondaire (synthèse de sidérophores).

Globalement, il a été constaté une diversité dans les mécanismes d'action (selon la nature fongique ou bactérienne de l'antagoniste), des intensités antagonistes fluctuantes selon les conditions expérimentales (sol désinfecté ou naturel) et selon les réactions de la plante hôte (tomate ou lin). A travers les résultats obtenus, les antagonistes peuvent agir de différentes manières : antibiose, compétition trophique et spatiale, induction de la résistance de la plante et inhibition du pathogène dans le sol. Les associations des antagonistes microbiens, dans notre étude, ont permis de constater qu'il peut y avoir des effets complémentaires, cumulatifs et même synergiques. Le recours à la lutte microbiologique est un moyen qui peut apporter un plus et un complément dans les stratégies de lutte contre les maladies d'origine tellurique. Ce procédé biologique peut également diminuer l'utilisation systématique et abusive des formulations chimiques et participer dans la préservation et la restauration du sol.

Nom du document : resume page de garde  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : ETUDE DE L'EFFET DES Pseudomonas spp  
Sujet :  
Auteur : katia  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 16:45:00  
N° de révision : 2  
Dernier enregistr. le : 06/09/2006 16:45:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition : 1 Minute  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:23:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 1  
Nombre de mots : 560 (approx.)  
Nombre de caractères : 3 080 (approx.)

## REMERCIEMENTS

L'expression de mon entière gratitude et mes plus vifs remerciements vont d'abord à mon promoteur Monsieur le D<sup>r</sup>. Benchabane Messaoud, maître de conférence à l'université de Blida d'avoir accepté la direction de ce travail et de m'avoir dirigé et aidé pour ses précieux conseils qui m'ont jamais fait défaut. Je le remercie pour ses encouragements et la confiance qu'il m'a si gentiment accordé. Je le remercie également pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail et pour son aide précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit.

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

- P<sup>r</sup>. Ammar Bouterkrabt.
- D<sup>r</sup>. Zoulikha Krimi.
- M<sup>me</sup>. Mebarka Boudjemia.

Je voudrais également remercier les membres du laboratoire de Microbiologie, où j'ai effectué mes travaux pour leur aide et leur encouragement.

Un merci particulier à Djamila, Samia et Amina pour leurs aides, leur sympathie et leur gentillesse.

Un merci tout spécial aussi à ma famille et mes amies en particulier mes chers parent qui m'ont donné la force et le courage de continuer sur ce chemin.

Enfin, que toutes les personnes, qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de ma gratitude et de ma sympathie.

Nom du document : REMERCIEMENT  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : REMERCIEMENTS  
Sujet :  
Auteur : Admin  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/07/2006 18:04:00  
N° de révision : 1  
Dernier enregistr. le : 06/07/2006 18:07:00  
Dernier enregistrement par : Admin  
Temps total d'édition :3 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:22:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 1  
Nombre de mots : 220 (approx.)  
Nombre de caractères : 1 216 (approx.)

## TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	10
1. GENERALITES SUR LES FUSARIOSES VASCULAIRES	13
1.1. Données générales sur <i>Fusarium oxysporum</i>	13
1.2. Symptomatologie	14
1.3. Processus d'infection	14
1.4. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> W.C Snyder et H.N Hansen	16
1.5. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lini</i> (Bolley) W.C. Snyder et H.N. Hansen	17
1.6. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> W.L Gordon	18
1.7. Lutte	19
2. MICROORGANISMES ANTAGONISTES DE <i>Fusarium oxysporum</i>	21
2.1. Importance des microorganismes antagonistes	21
2.2. Effets bénéfiques des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	23
2.3. Effet de <i>Fusarium oxysporum</i> non pathogène	29
2.4. Combinaison de plusieurs microorganismes	31
2.5. Biocontrôle du flétrissement fusarien	31
3. SOLS RESISTANTS	37
3.1. Type de résistance	37
3.2. Origines de la résistance	39
4. MATERIELS ET METHODES	42
4.1. Matériel biologique	42
4.2. Antagonisme <i>in vitro</i>	46
4.3. Antagonisme <i>in situ</i>	48
4.4. Induction systémique de la résistance des plantes	52
4.5. Réceptivité du sol à <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> FOL (F)	56
5. RESULTATS ET DISCUSSION	62
5.1. Antagonisme <i>in vitro</i>	62
5.2. Interprétation des résultats	68
5.3. Antagonisme <i>in situ</i>	71
5.4. Induction systémique de la résistance chez la tomate (ISR)	88
5.5. Réceptivité des sols a la fusariose vasculaire de la tomate	96

APPENDICE	
CONCLUSION	111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	118

Nom du document : TABLE DES MATIERES  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : TABLE DES MATIERES  
Sujet :  
Auteur : Admin  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 08/09/2006 16:01:00  
N° de révision : 4  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 16:39:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition :2 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:23:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 2  
Nombre de mots : 249 (approx.)  
Nombre de caractères : 1 373 (approx.)

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 4.1:	Dispositifs expérimentaux des essais	49
Figure 4.2:	Dispositifs expérimentaux des essais d'antagonisme <i>in situ</i>	50
Figure 4.3 :	Symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate	51
Figure 4.4 :	Déformation du lin en arc «Shepherd's crook»	51
Figure 4.5 :	Conduite des plants de tomate en système Split en non Split	53
Figure 4.6 :	Dispositif expérimental de l'essai l'ISR	54
Figure 4.7 :	Dispositif expérimental de l'essai de réceptivité du sol	58
Figure 5.1 :	Inhibition des agents pathogènes lors des tests préliminaires	63
Figure 5.2 :	Inhibition du pathogène dans le sol	66
Figure 5.3 :	Développement et fructifications du pathogène dans le sol	68
Figure 5.4 :	Evolution de la maladie sur les plants de tomate	71
Figure 5.5 :	Evolution de l'infection (%) de la fusariose vasculaire de la tomate	74
Figure 5.6 :	Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate	75
Figure 5.7 :	Gains en croissance des plants (parties aériennes et racinaires)	73
Figure 5.8 :	Développement de la fusariose sur les plants de lin	76
Figure 5.9 :	Evolution de l'infection des plants de lin	78
Figure 5.10 :	Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate	79
Figure 5.11 :	Inhibition de la fusariose vasculaire de la tomate	82
Figure 5.12:	Inhibition de la fusariose vasculaire du lin	82
Figure 5.13 :	Plants conduits en système split	88
Figure 5.14 :	Taux d'infection de la fusariose	88
Figure 5.15:	Taux d'infection enregistrés dans les systèmes split et non split	89
Figure 5.16 :	Gains en en élancement des systèmes racinaires	91
Figure 5.17 :	Effet des traitements sur la phytostimulation	92
Figure 5.18 :	Colonisation racinaire par <i>Pseudomonas fluorescens</i>	92
Figure 5.19 :	Effet de la concentration du pathogène sur l'infection (%)	96
Figure 5.20 :	Inhibition (%) de la réceptivité du sol vis-à-vis de FOL(F)	98

Figure 5.21 :	Effet des amendements (EDTA et glucose) sur la réceptivité du sol	100
Figure 5.22:	Evolution des taux d'infection (a) et de sévérité (b) dan le sol (B)	102
Figure 5.23:	Evolution des taux d'infection (a) et de sévérité (b) dan le sol (C)	103
Figure 5.24 :	Effet de FOL (F) sur la mortalité des plants (%)	104
Figure 5.25 :	Comportement des plants dans les sols infestés et inoculé par les antagonistes	104
Figure 5.26 :	Evolution des populations bactériennes (C7R12) dans le sol	105
Tableau 1.1 :	Groupes de compatibilité végétative chez les différentes formes spéciales de <i>Fusarium oxysporum</i> VCG)	15
Tableau 2.1 :	Biocontrôle des maladies fongiques par bactérisation des semences et des racines	22
Tableau 2.2 :	Biocontrôle des fusarioses vasculaires par des antagonistes fongiques telluriques	22
Tableau 2.3 :	Types et déterminants bactériens de l'induction systémique	26
Tableau 2.4 :	Protection des plantes par des associations microbiennes.	32
Tableau 4.1:	Souches bactériennes	43
Tableau 4.2:	isolats cryptogamiques	43
Tableau 4.3:	caractéristiques physicochimiques du sol	45
Tableau 5.1:	Activités antagonistes dans les trois milieux	64
Tableau 5.2 :	l Taux d'inhibition de la croissance mycélienne sur les trois milieux	65
Tableau 5.3 :	Effet des traitements sur le développement du pathogène dans le sol	67
Tableau 5.4	Effet des antagonistes sur le développement des champignons phytopathogènes dans le sol (24 heures d'intervalle)	67
Tableau 5.5:	Effet des traitements sur le développement de la fusariose de la tomate	81
Tableau 5.6 :	Effet des traitements sur le développement de la fusariose du lin	81
Tableau 5.7:	Effet des antagonistes sur l'inhibition de la maladie en système split et non split	90
Tableau 5.8:	Effet des traitements sur la phytostimulation des plants de tomate	91
Tableau 5.9 :	Effet de l'apport des inoculum antagonistes sur la maladie	98
Tableau 5.10 :	Effet de l'apport du glucose et d'EDTA sur la maladie	99
Tableau 5.11 :	Effet de l'apport des inoculum antagonistes sur l'infection (%)	101
Tableau 5.12 :	Evolution des populations fongiques dans le sol	105



Nom du document : LISTE DES ILLUSTRATIONS  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX  
Sujet :  
Auteur : Admin  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 08/09/2006 16:06:00  
N° de révision : 4  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 16:39:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition :6 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:21:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 3  
Nombre de mots : 646 (approx.)  
Nombre de caractères : 3 559 (approx.)

## INTRODUCTION

Les dégâts causés par les pathogènes du sol, depuis toujours, constituent une réelle menace sur diverses spéculations végétales entraînant une réduction importante des rendements. Les maladies racinaires des plantes cultivées sont généralement attribuées à des agents bactériens et/ou fongiques adaptés à la vie tellurique. Les affections cryptogamiques sont souvent redoutables et affectent une gamme très large de plantes cultivées. Divers genres de mycètes tels que *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Verticillium*, sont des causes directes en agissant individuellement, en complexe et même en chaîne, provoquant divers types de maladies et des dégâts appréciables sur les plantes.

Le genre *Fusarium* renferme de nombreux agents pathogènes, connus par leur virulence et leur agressivité sur diverses espèces végétales. L'espèce *Fusarium oxysporum*, responsable de pourritures radiculaires et de trachéomycoses, cause des flétrissements aussi bien sur des plantes herbacées que ligneuses [1]. Cette espèce est représentée par une multitude de formes spéciales reconnues par leur pathogénéicité spécifique en interaction avec des hôtes déterminés, c'est le cas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dont l'hôte privilégié est la tomate, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* parasite du lin et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* responsable de la fusariose du palmier dattier.

Les travaux de sélection et d'amélioration de génotypes végétaux résistants n'ont pas pu permis de contourner ces trachéomycoses. Globalement, vis-à-vis de ce type de maladies, les méthodes de lutte se basent essentiellement sur des procédures chimiques, sous forme de fumigants systémiques qui n'assurent pas une protection durable et efficace. En raison de ses capacités saprophytiques et de sa conservation dans le sol, ce pathogène devient difficile à maîtriser par ces méthodes chimiques. L'emploi abusif des formulations chimiques abouti à la pollution de l'environnement d'une manière générale et particulièrement du sol, sans omettre les risques de phytotoxicité. Les techniques de lutte biologique, reposant sur l'exploitation des potentialités antagonistes des microorganismes, deviennent une alternative réelle pour le biocontrôle des trachéomycoses fusariennes [2].

La bactérisation des semences, des plantules ou des substrats de cultures de rhizobactéries bénéfiques induit des effets positifs sur la croissance des plantes et souvent confère aux systèmes racinaires une protection vis-à-vis des agents phytopathogènes du sol [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. Parmi les microorganismes expérimentés et utilisés, même si ce n'est pas à grande échelle, les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Fusarium* non pathogène méritent une attention particulière, en raison de leur adaptation à la vie tellurique et plus particulièrement pour leur compétence rhizosphérique. Ces groupes microbiens bénéfiques ont été expérimentés avec succès dans de nombreux essais conduits en conditions contrôlées ou en conditions naturelles. Il a été souligné, dans la quasi-totalité de ces travaux, que l'efficacité de ces microorganismes réside dans leurs modes d'action qui se basent essentiellement sur la compétition trophique, la production de métabolites secondaires à effet antibiose vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes, la stimulation de la croissance végétale des plantes et l'induction de leur résistance systémique, phénomène connu sous le terme " Induced Systemic Resistance" (ISR) [3, 6, 7, 8, 18, 19].

La lutte contre les fusarioses vasculaires peut être menée aussi en utilisant des souches de *F. oxysporum* non pathogènes sélectionnées pour leurs activités antagonistes contre les formes spéciales pathogènes [20], dont l'effet bénéfique s'exprime par plusieurs mécanismes comprenant particulièrement la compétition pour les nutriments, notamment pour le carbone [21, 22], la compétition pour les sites d'infection [23], la colonisation des racines [23, 24] et aussi l'induction de la résistance systémique chez les plantes [24]. Dans ce contexte de la lutte microbiologique vis-à-vis des agents des flétrissements fusariens, notre travail consiste en l'expérimentation des potentialités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20 et CHAO) et de l'isolat de *Fusarium* non pathogène F047 vis-à-vis des deux formes spéciales. *lini* et *lycopersici* de *F. oxysporum*. Les effets d'antagonisme et de phytoprotection ont été étudiés à travers trois parties expérimentales :

- La première partie de notre étude cherche à mettre en évidence le pouvoir de biocontrôle *in vitro* et *in situ* des agents microbiens antagonistes, lorsqu'ils sont introduits individuellement ou en co-inoculation, vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en interaction avec la tomate et de *F. oxysporum* f. sp. *lini* en interaction avec le lin, dans des conditions gnotobiotiques et naturelles.

- La deuxième partie de notre travail a été conduite pour la mise en évidence d'un autre mécanisme, reconnu chez ce groupe de microorganismes rhizosphériques, s'illustrant par l'induction systémique de la résistance chez des plants de tomate vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

- La troisième partie porte sur l'étude de l'effet de l'introduction de ces agents microbiens antagonistes sur la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire de la tomate.

Nom du document : INTRODUCTION  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : INTRODUCTION  
Sujet :  
Auteur : MESSAOUD  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 07/09/2006 11:46:00  
N° de révision : 2  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 11:46:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition :3 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:20:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 3  
Nombre de mots : 827 (approx.)  
Nombre de caractères : 4 552 (approx.)

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MEMOIRE DE MAGISTER

OPTION : PHYTOPATHOLOGIE

ETUDE DE L'EFFET DES *Pseudomonas* spp. FLUORESCENTS ET DE L'ISOLAT  
FO47 DE *Fusarium oxysporum* NON PATHOGENE DANS LA LUTTE BIOLOGIQUE  
VIS-A-VIS DES FUSARIOSES VASCULAIRES.

PAR

Fatiha BENSAID



Devant le jury composé de :

A. Boutekrabt	Professeur, USD. Blida	Président
Z. Krimi	Maître de conférence, USD. Blida	Examinatrice
M. Boudjemia	Chargée de cours, USD. Blida	Examinatrice
M. Benchabane	Maître de conférence, USD. Blida	Promoteur

BLIDA, juin 2006

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA**  
**FACULTE DES SCIENCES AGRONOMIQUES ET VETERINAIRES**  
**DEPARTEMENT D'AGRONOMIE**

**MEMOIRE DE MAGISTER**

OPTION : PHYTOPATHOLOGIE

ETUDE DE L'EFFET DES *Pseudomonas* spp. FLUORESCENTS ET DE L'ISOLAT  
FO47 DE *Fusarium oxysporum* NON PATHOGENE DANS LA LUTTE BIOLOGIQUE  
VIS-A-VIS DES FUSARIOSES VASCULAIRES.

PAR

**Fatiha BENSAID**



Devant le jury composé de :

A. Boutekrabt	Professeur, USD. Blida	Président
Z. Krimi	Maître de conférence, USD. Blida	Examinatrice
M. Boudjemia	Chargée de cours, USD. Blida	Examinatrice
M. Benchabane	Maître de conférence, USD. Blida	Promoteur

BLIDA, juin 2006

## RESUME

L'objectif de notre travail est la mise en évidence des capacités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescense* S20 et CHAO et de l'isolat fongique FO47 non pathogène *Fusarium oxysporum* vis-à-vis des agents phytopathogènes *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*. Cette étude a été réalisée en trois parties principales : la première porte sur les activités antagonistes *in vitro* et *in situ*, la deuxième porte sur l'étude de l'ISR « induction la systémique de résistance chez la tomate » et la troisième s'intéresse à l'étude de la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire de la tomate.

Les essais réalisés *in vitro* ont montré que nos antagonistes inhibent de façon significative la croissance mycélienne, la germination conidienne et l'élongation des tubes germinatifs des champignons phytopathogènes. Il a été constaté l'implication des effets d'antibiose ainsi que ceux de la compétition trophique. L'inhibition de ces paramètres vitaux, pour le développement des pathogènes, peuvent contribuer amplement dans la répression de ses capacités reproductives et infectieuses. Les interactions réalisées au niveau des plantes hôtes (essais *in situ*), avec l'application des antagonistes, ont permis de réduire de façon significative le développement des deux fusarioses qualitativement et quantitativement. Les taux d'infections ont régressé significativement par rapports aux témoins et la sévérité était faible. Dans quelques interactions il a été noté une inhibition totale de la maladie.

Les essais d'induction de la résistance systémique, chez la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, ont permis de constater que l'application des antagonistes stimule les mécanismes naturels de défense de la plante, tout en excluant tout contact direct entre l'antagoniste et le pathogène en question.

L'équilibre microbiologique dans le sol, entre la population antagoniste et celle du pathogène, peut faire l'objet d'une modulation à travers des variations microbiologiques ou des additifs influençant directement ou indirectement le comportement métabolique microbien (métabolismes primaire et secondaire). Dans nos essais il a été noté l'effet positif ou négatif sur la population pathogène, exprimé à travers ses capacités infectieuses, en favorisant son développement ou celui des bactéries antagonistes en stimulant son activité métabolique secondaire (synthèse de sidérophores).

Mots clés : *Pseudomonas* spp. fluorescents, *Fusarium oxysporum* non pathogène, fusarioses vasculaire, antagonisme microbien, lutte biologique, induction de la résistance systémique, réceptivité des sols.

## SUMMARY

The objective of our present work is the description of the antagonistic capacities of two strains of *Pseudomonas fluorescense* (S20 and CHAO) and the nonpathogenic fungic isolate FO47 *Fusarium oxysporum* against phytopathogenic agents: *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f.sp *lini*. This work has been achieved in three main parts: the first is interested on the *in vitro* and *in situ* antagonistic activities, the second was studied the ISR effect "induction systemic resistance" in tomato plants, and the third part is interested to study the soil receptiveness of fusarium wilt tomato.

Assays *in vitro* showed that our antagonists inhibit with a high level the mycelia growth, conidia germination and elongation of structure's pathogens. It has been noted the implication of antibiosis effects as those of the trophic competition. The inhibition of these vital parameters, for the development of pathogenic, can contribute amply in the repression of its reproduction and infection processes. The interactions experimented in hosts plants tomato or flax (*in situ* assays), with the application of the antagonists, permitted to reduce meaningful way the development of both wilt fusarium diseases qualitatively and quantitatively. The rates of infected plants regressed significantly and severity was low.

Induced systemic resistance (IRS) tomato plants infected within *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, split system experiments while excluding any direct contact between the antagonist and the pathogenic, allowed to note that the application of the antagonists stimulates the natural mechanisms of the plant defense.

Soil microbial balance, between the antagonistic population and that of pathogenic, can be modulated through microbiological variations or abiotics additives influencing directly or indirectly the metabolic behavior microbial. In this experiment, addition of glucose or EDTA, could increase or decrease the resistance of soil by activation of pathogenic or antagonists, as a result of modification and modulation in their metabolic activities. In our tests it was noted the positive or negative effect on the pathogenic population, expressed through its infectious capacities, by supporting its development or that of the antagonistic bacteria by stimulating its secondary metabolic activity (synthesis of siderophores).

**Key words :** *Pseudomonas spp.* .fluorescents, nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, Fusarium wilt, antagonism, biological - control, induced systemic resistance, soil receptivity

## ملخص

الغرض من هذه الدراسة هو اظهار المفعول البيولوجي لعزلات احياء دقيقة نافعة في مكافحة و ابادلة الأضرار المرضية الناجمة من الفطرين الضارين بالنبات  
*Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*  
الأحياء الدقيقة النافعة المستعملة في تجاربنا هي من صنفين: عزلتين بكتيريا ( CHAO, S20 ).  
من سلالة *Pseudomonas fluorescense* و عزلة فطرية نافعة FO47 من سلالة *Fusarium oxysporum*.

دراستنا تشمل على ثلاث مراحل أساسية : في المرحلة الأولى أظهرنا المفعول الميكروبيولوجي الايجابي بواسطة تجارب مخبرية باستعمال النبات. المرحلة الثانية درسنا فيها تأثير هذه الأحياء الدقيقة في تنشيط الامكانيات الطبيعية للمقاومة لدى نبات الطماطم. أخيرا في المرحلة الثالثة قمنا بدراسة امكانية اضعاف مفعول الفطر الضار مباشرة في التربة.

نتائج الجزء الأول من هذه الدراسة أظهرت أن المفعول البيولوجي امكن توقيف انتشار بنيات التوليد, تطاول و نمو الفطر في الأوساط المغذية. التجارب المجراة على النبات أظهرت أن المفعول المرضي الضار للفطرين

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*  
قد تراجع, حتى أنه في بعض الأحيان أضمر تماما, بمفعول الأحياء الدقيقة النافعة.

في الجزء التجريبي الثاني, رغم عدم تواجده أي علاقة تضاد مباشرة, بين الأحياء الدقيقة النافعة و الفطر الضار. الا أن الأعراض المرضية تراجعت بقدر ملموس كما و كيفا نتيجة تنشيط القدرات الدفاعية الطبيعية لدى النبات.

بما أن الصنف المرضي المدروس نابع من التربة ، قد حاولنا في الجزء الأخير لهذه الاطروحة التأثير على المفعول الضار للفطر داخل التربة. التأثير هذا كان بواسطة تغييرات ميكروبيولوجية و ذلك بادخال العزلات النافعة السابقة الذكر كمرحلة أولى, و باحداث تغييرات غذائية بادخال glucose او EDTA كمرحلة ثانية.

## REMERCIEMENTS

L'expression de mon entière gratitude et mes plus vifs remerciements vont d'abord à mon promoteur Monsieur le D<sup>r</sup>. Benchabane Messaoud, maître de conférence à l'université de Blida d'avoir accepté la direction de ce travail et de m'avoir dirigé et aidé pour ses précieux conseils qui m'ont jamais fait défaut. Je le remercie pour ses encouragements et la confiance qu'il m'a si gentiment accordé. Je le remercie également pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail et pour son aide précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit.

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

- P<sup>r</sup>. Ammar Bouterkrabt.
- D<sup>r</sup>. Zoulikha Krimi.
- M<sup>me</sup>. Mebarka Boudjemia.

Je voudrais également remercier les membres du laboratoire de Microbiologie, où j'ai effectué mes travaux pour leur aide et leur encouragement.

Un merci particulier à Djamila, Samia et Amina pour leurs aides, leur sympathie et leur gentillesse.

Un merci tout spécial aussi à ma famille et mes amies en particulier mes chers parent qui m'ont donné la force et le courage de continuer sur ce chemin.

Enfin, que toutes les personnes, qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de ma gratitude et de ma sympathie.

## TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLE DES MATIERES	
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION	10
1. GENERALITES SUR LES FUSARIOSES VASCULAIRES	13
1.1. Données générales sur <i>Fusarium oxysporum</i>	13
1.2. Symptomatologie	14
1.3. Processus d'infection	14
1.4. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> W.C Snyder et H.N Hansen	16
1.5. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i> (Bolley) W.C. Snyder et H.N. Hansen	17
1.6. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> W.L Gordon	18
1.7. Lutte	19
2. MICROORGANISMES ANTAGONISTES DE <i>Fusarium oxysporum</i>	21
2.1. Importance des microorganismes antagonistes	21
2.2. Effets bénéfiques des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents	23
2.3. Effet de <i>Fusarium oxysporum</i> non pathogène	29
2.4. Combinaison de plusieurs microorganismes	33
2.5. Biocontrôle du flétrissement fusarien	31
3. SOLS RESISTANTS	37
3.1. Type de résistance	37
3.2. Origines de la résistance	39
4. MATERIELS ET METHODES	42
4.1. Matériel biologique	42
4.2. Antagonisme <i>in vitro</i>	46
4.3. Antagonisme <i>in situ</i>	48
4.4. Induction systémique de la résistance des plantes	52
4.5. Réceptivité du sol à <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> FOL (F)	56
5. RESULTATS ET DISCUSSION	62
5.1. Antagonisme <i>in vitro</i>	62
5.2. Interprétation des résultats	68
5.3. Antagonisme <i>in situ</i>	71

5.4. Induction systémique de la résistance chez la tomate (ISR)	87
5.5. Réceptivité des sols a la fusariose vasculaire de la tomate	96
APPENDICE	
CONCLUSION	111
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	118

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 4.1:	Dispositifs expérimentaux des essais	49
Figure 4.2:	Dispositifs expérimentaux des essais d'antagonisme <i>in situ</i>	50
Figure 4.3 :	Symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate	51
Figure 4.4 :	Déformation du lin en arc «Shepherd's crook»	51
Figure 4.5 :	Conduite des plants de tomate en système Split en non Split	53
Figure 4.6 :	Dispositif expérimental de l'essai l'ISR	54
Figure 4.7 :	Dispositif expérimental de l'essai de réceptivité du sol	58
Figure 5.1 :	Inhibition des agents pathogènes lors des tests préliminaires	63
Figure 5.2 :	Inhibition du pathogène dans le sol	66
Figure 5.3 :	Développement et fructifications du pathogène dans le sol	68
Figure 5.4 :	Evolution de la maladie sur les plants de tomate	71
Figure 5.5 :	Evolution de l'infection (%) de la fusariose vasculaire de la tomate	74
Figure 5.6 :	Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate	75
Figure 5.7 :	Gains en croissance des plants (parties aériennes et racinaires)	73
Figure 5.8 :	Développement de la fusariose sur les plants de lin	76
Figure 5.9 :	Evolution de l'infection des plants de lin	78
Figure 5.10 :	Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate	79
Figure 5.11 :	Inhibition de la fusariose vasculaire de la tomate	82
Figure 5.12:	Inhibition de la fusariose vasculaire du lin	82
Figure 5.13 :	Plants conduits en système split	88
Figure 5.14 :	Taux d'infection de la fusariose	88
Figure 5.15:	Taux d'infection enregistrés dans les systèmes split et non split	89
Figure 5.16 :	Gains en en élongation des systèmes racinaires	91
Figure 5.17 :	Effet des traitements sur la phytostimulation	92
Figure 5.18 :	Colonisation racinaire par <i>Pseudomonas fluorescens</i>	92
Figure 5.19 :	Effet de la concentration du pathogène sur l'infection (%)	96
Figure 5.20 :	Inhibition (%) de la réceptivité du sol vis-à-vis de FOL(F)	98

Figure 5.21 :	Effet des amendements (EDTA et glucose) sur la réceptivité du sol	100
Figure 5.22:	Evolution des taux d'infection (a) et de sévérité (b) dan le sol (B)	102
Figure 5.23:	Evolution des taux d'infection (a) et de sévérité (b) dan le sol (C)	103
Figure 5.24 :	Effet de FOL (F) sur la mortalité des plants (%)	104
Figure 5.25 :	Comportement des plants dans les sols traités	104
Figure 5.26 :	Evolution des populations bactériennes (C7R12) dans le sol	105
Tableau 1.1 :	Groupes de compatibilité végétative chez les différentes formes spéciales de <i>Fusarium oxysporum</i> VCG)	15
Tableau 2.1 :	Biocontrôle des maladies fongiques par bactérisation des semences et des racines	22
Tableau 2.2 :	Biocontrôle des fusarioses vasculaires par des antagonistes fongiques	22
Tableau 2.3 :	Types et déterminants bactériens de l'induction systémique	26
Tableau 2.4 :	Protection des plantes par des associations microbiennes.	32
Tableau 4.1:	Souches bactériennes	43
Tableau 4.2:	isolats cryptogamiques	43
Tableau 4.3:	caractéristiques physicochimiques du sol	45
Tableau 5.1:	Activités antagonistes dans les trois milieux	64
Tableau 5.2 :	l Taux d'inhibition de la croissance mycélienne sur les trois milieux	65
Tableau 5.3 :	Effet des traitements sur le développement du pathogène dans le sol	67
Tableau 5.4	Effet des antagonistes sur le développement des phytopathogènes	67
Tableau 5.5:	Effet des traitements sur le développement de la maladie	81
Tableau 5.6 :	Effet des traitements sur le développement de la fusariose du lin	81
Tableau 5.7	Effet des antagonistes sur l'inhibition de la maladie	90
Tableau 5.8:	Effet des traitements sur la phytostimulation des plants de tomate	91
Tableau 5.9 :	Effet de l'apport des inoculums antagonistes sur la maladie	98
Tableau 5.10 :	Effet de l'apport du glucose et d'EDTA sur la maladie	99
Tableau 5.11 :	Effet de l'apport des inoculums antagonistes sur l'infection (%)	101
Tableau 5.12 :	Evolution des populations fongiques dans le sol	105



## INTRODUCTION

Les dégâts causés par les pathogènes du sol, depuis toujours, constituent une réelle menace sur diverses spéculations végétales entraînant une réduction importante des rendements. Les maladies racinaires des plantes cultivées sont généralement attribuées à des agents bactériens et/ou fongiques adaptés à la vie tellurique. Les affections cryptogamiques sont souvent redoutables et affectent une gamme très large de plantes cultivées. Divers genres de mycètes tels que *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Verticillium*, sont des causes directes en agissant individuellement, en complexe et même en chaîne, provoquant divers types de maladies et des dégâts appréciables sur les plantes.

Le genre *Fusarium* renferme de nombreux agents pathogènes, connus par leur virulence et leur agressivité sur diverses espèces végétales. L'espèce *Fusarium oxysporum*, responsable de pourritures radiculaires et de trachéomycoses, cause des flétrissements aussi bien sur des plantes herbacées que ligneuses [1]. Cette espèce est représentée par une multitude de formes spéciales reconnues par leur pathogénéicité spécifique en interaction avec des hôtes déterminés, c'est le cas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dont l'hôte privilégié est la tomate, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* parasite du lin et *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* responsable de la fusariose du palmier dattier.

Les travaux de sélection et d'amélioration de génotypes végétaux résistants n'ont pas pu permis de contourner ces trachéomycoses. Globalement, vis-à-vis de ce type de maladies, les méthodes de lutte se basent essentiellement sur des procédures chimiques, sous forme de fumigants systémiques qui n'assurent pas une protection durable et efficace. En raison de ses capacités saprophytiques et de sa conservation dans le sol, ce pathogène devient difficile à maîtriser par ces méthodes chimiques. L'emploi abusif des formulations chimiques abouti à la pollution de l'environnement d'une manière générale et particulièrement du sol, sans omettre les risques de phytotoxicité. Les techniques de lutte biologique, reposant sur l'exploitation des

potentialités antagonistes des microorganismes, deviennent une alternative réelle pour le biocontrôle des trachéomycoses fusariennes [2].

La bactérisation des semences, des plantules ou des substrats de cultures de rhizobactéries bénéfiques induit des effets positifs sur la croissance des plantes et souvent confère aux systèmes racinaires une protection vis-à-vis des agents phytopathogènes du sol [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17]. Parmi les microorganismes expérimentés et utilisés, même si ce n'est pas à grande échelle, les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Fusarium* non pathogène méritent une attention particulière, en raison de leur adaptation à la vie tellurique et plus particulièrement pour leur compétence rhizosphérique. Ces groupes microbiens bénéfiques ont été expérimentés avec succès dans de nombreux essais conduits en conditions contrôlées ou en conditions naturelles. Il a été souligné, dans la quasi-totalité de ces travaux, que l'efficacité de ces microorganismes réside dans leurs modes d'action qui se basent essentiellement sur la compétition trophique, la production de métabolites secondaires à effet antibiose vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes, la stimulation de la croissance végétale des plantes et l'induction de leur résistance systémique, phénomène connu sous le terme " Induced Systemic Resistance" (ISR) [3, 6, 7, 8, 18, 19].

La lutte contre les fusarioses vasculaires peut être menée aussi en utilisant des souches de *F. oxysporum* non pathogènes sélectionnées pour leurs activités antagonistes contre les formes spéciales pathogènes [20], dont l'effet bénéfique s'exprime par plusieurs mécanismes comprenant particulièrement la compétition pour les nutriments, notamment pour le carbone [21, 22], la compétition pour les sites d'infection [23], la colonisation des racines [23, 24] et aussi l'induction de la résistance systémique chez les plantes [24]. Dans ce contexte de la lutte microbiologique vis-à-vis des agents des flétrissements fusariens, notre travail consiste en l'expérimentation des potentialités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (S20 et CHAO) et de l'isolat de *Fusarium* non pathogène F047 vis-à-vis des deux formes spéciales. *lini* et *lycopersici* de *F. oxysporum*. Les effets d'antagonisme et de phytoprotection ont été étudiés à travers trois parties expérimentales :

- La première partie de notre étude cherche à mettre en évidence le pouvoir de biocontrôle *in vitro* et *in situ* des agents microbiens antagonistes, lorsqu'ils sont introduits

individuellement ou en co-inoculation, vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en interaction avec la tomate et de *F. oxysporum* f. sp. *lini* en interaction avec le lin, dans des conditions gnotobiotiques et naturelles.

- La deuxième partie de notre travail a été conduite pour la mise en évidence d'un autre mécanisme, reconnu chez ce groupe de microorganismes rhizosphériques, s'illustrant par l'induction systémique de la résistance chez des plants de tomate vis-à-vis de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

- La troisième partie porte sur l'étude de l'effet de l'introduction de ces agents microbiens antagonistes sur la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire de la tomate.

## CHAPITRE 1

### GENERALITES SUR LES FUSARIOSES VASCULAIRES

#### 1.1. Données générales sur *Fusarium oxysporum* :

Le genre *Fusarium*, décrit depuis 1809, regroupe des espèces telluriques saprophytes et des pathogènes de plantes. Ces organismes sont également impliqués en pathologie humaine, causant des mycotoxicoses et des infections qui peuvent être locale ou disséminées. Très cosmopolites, on trouve les *Fusarium* dans les zones tropicales, les régions tempérées, les zones désertiques, montagneuses et même arctiques. Ce genre fongique renferme divers agents pathogènes responsables de diverses maladies affectant l'homme, les animaux et les plantes [25, 26, 27].

Comparativement aux autres types de maladies des plantes, diversifiées et nombreuses, les agents parasitaires fongiques vasculaires sont représentés par un nombre réduit d'espèces telles que *Verticillium dahliae*, *Verticillium alboatrum* et *Phialophora gregendus*; mais ils sont largement répandus et provoquent des dégâts économiquement importants sur une large gamme de plantes annuelles et pérennes [28]. Le terme *Fusarium* dérive du mot grec "fusiform". Signifiant enflé au centre et rétréci vers les extrémités, correspondant à la forme typique de ces spores [27].

*Fusarium oxysporum* est un agent fongique ubiquiste bien représenté au sein de la communauté microbienne tellurique, notamment dans la microflore rhizosphérique. Il se rencontre pratiquement dans la quasi-totalité des sols agricoles, surtout sous sa forme asexuée. Cette espèce présente des formes phytopathogènes hautement spécifiques sur des hôtes déterminés, dénommées formes spéciales (f. sp) "forma specialia" en fonction de la plante hôte parasitée; ainsi il a été mis en évidence plus de 100 formes spéciales chez cette espèce [29].

En raison de la complexité des caractères phénotypiques et des similitudes génotypique, il est généralement admis la difficulté de distinction taxonomique entre ces

formes spéciales; pour cela la pathogénicité demeure le caractère distinctif majeur [30]. La diversité génétique entre les isolats de *F. oxysporum* a été extrêmement analysée et regroupée en de nombreux groupes de compatibilités végétatifs (G.C.V.) "Végétative Compatibility Groups". Désormais, les G.C.V peuvent constituer un outil de prédilection et d'analyse des similarités génétiques pour ce taxon fongique [31, 32, 33, 34] (Tableau 1.1).

### 1.2. Symptomatologie :



Les fusarioses vasculaires sont parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, dont les symptômes sont divers et peuvent toucher l'ensemble de la plante à n'importe quel stade de sa croissance. Les symptômes aériens consistent en un flétrissement et un jaunissement qui se manifestent d'abord sur les feuilles basales puis gagnent les feuilles supérieures. Le jaunissement apparaît d'une manière générale unilatéralement avec apparition des nécroses qui se généralisent par la suite. Le flétrissement est irréversible, lorsque les symptômes affectent l'ensemble du feuillage la plante meurt [35].

L'invasion systémique du pathogène provoque des dommages sur le système vasculaire des plantes, induisant des perturbations dans la circulation de la sève par la détérioration des vaisseaux et/ou l'accumulation des substances toxiques, provoquant ainsi l'obstruction totale ou partielle des tissus vasculaires [36, 37]. Ces symptômes internes, du type décoloration brune sombre des tissus conducteurs et du système racinaire, peuvent être confondus avec les symptômes des autres types de trachéomycoses (verticillioses) et de tracheobactérioses (*Ralstonia solanaceum* et *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* [36]. Certaines souches de *Fusarium oxysporum* produisent diverses substances toxiques dans le milieu de culture et au sein de la plante, notamment la lycomarasmine et l'acide fusarique [38], l'éthylène et ses dérivés [39], ainsi que des enzymes hydrolytiques (polygalactronase et pectinméthylestérase) [40]. Ces substances jouent un rôle important dans l'action parasitaire et dans le développement des symptômes induisant le flétrissement.

### 1.3. Processus d'infection :

Il est généralement admis que les premiers foyers d'infection, au niveau des racines, sont initiés par les formes saprophytes et/ou de conservation du pathogène dans le sol notamment les chlamydospores; ces derniers après leur germination, les tubes

**Tableau 1.1** : Groupes de compatibilité végétative chez les différentes formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (VCG) [32, 33].

Formes spéciales (fsp)	Hôte	Code f.sp	Nombres de VCG
<i>adzukicola</i>	<i>Vigna angularis</i>	038-	0380, 0381
<i>albedinis</i>	<i>Phoenix dactylifera</i>	017-	0170
<i>allii</i>	<i>Allium sativum</i>	039-	0390
<i>apii</i>	<i>Apium</i>	001-	0010 - 0012
<i>asparagi</i>	<i>Asparagus</i>	100-	1001 - 1008, 10011 - 10019
<i>basilici</i>	<i>Ocimum</i>	040-	0400
<i>batatas</i>	<i>Ipomoea</i>	036-	-
<i>betae</i>	<i>Beta</i>	027-	-
<i>canariensis</i>	<i>Phoenix canariensis</i>	024-	0240
<i>cepaе</i>	<i>Allium cepae</i>	042-	0420
<i>chrysanthemi</i>	<i>Chrysanthemum</i>	005-	0050, 0051
<i>ciceris</i>	<i>Cicer</i>	028-	0280
<i>conglutinans</i>	<i>Brassica</i>	010-	0100, 101, 104
<i>cubense</i>	<i>Musa</i>	012-	0120 - 0126, 0128 - 1224
<i>cucumerinum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	018-	0180 - 0183
<i>cyclaminis</i>	<i>Cyclamen</i>	015-	0151 - 0153
<i>dianthi</i>	<i>Dianthus</i>	002-	0020 - 0022, 0025, 0027, 0028
<i>elaeidis</i>	<i>Elaeis</i>	014-	0140, 0141
<i>erythroxyli</i>	<i>Erythroxyllum</i>	029-	-
<i>fragariae</i>	<i>Fragaria</i>	043-	-
<i>garlic</i>	<i>Allium sativum</i>	101-	1011 - 1013
<i>gladioli</i>	<i>Gladiolus</i>	034-	0340 - 0345
<i>lactucum</i>	<i>Lactuca</i>	030-	0300
<i>lagenariae</i>	<i>Lagenaria</i>	041-	-
<i>lilii</i>	<i>Lilium</i>	019-	0190
<i>lini</i>	<i>Linum</i>	044-	0440
<i>lupini</i>	<i>Lupinus</i>	031-	-
<i>lycopersici</i>	<i>Lycopersicon</i>	003-	0030- 0033
<i>matthioli</i>	<i>Matthiola</i>	021-	0210
<i>medicaginis</i>	<i>Medicago</i>	004-	0040, 0041
<i>melongenae</i>	<i>Solanum melongena</i>	032-	0320
<i>melonis</i>	<i>Cucumis melo</i>	013-	0130 - 0136, 0138
<i>nicotianae</i>	<i>Nicotiana</i>	037-	-
<i>niveum</i>	<i>Citrullus</i>	008-	0080 - 0082
<i>opuntiarum</i>	<i>Opuntia</i>	045-	0450 - 0456
<i>papaveris</i>	<i>Papaver</i>	025-	-
<i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus</i>	016-	0161 - 0168
<i>pisi</i>	<i>Pisum</i>	007-	0070 - 0073
<i>radicis-cucumerinum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	026-	0260, 0261
<i>radicis-lycopersici</i>	<i>Lycopersicon</i>	009-	0090 - 0094, 0096 - 0099
<i>nicotianae</i>	<i>Nicotiana</i>	037-	-
<i>niveum</i>	<i>Citrullus</i>	008-	0080 - 0082
<i>raphani</i>	<i>Raphanus</i>	022-	0220
<i>spinaciae</i>	<i>Spinacia</i>	033-	0330 - 0332
<i>tracheiphilum</i>	<i>Vigna unguiculata</i>	006-	0060
<i>tuberosi</i>	<i>Solanum tuberosum</i>	035-	-
<i>tulipae</i>	<i>Tulipa</i>	023-	0230
<i>vanillae</i>	<i>Vanilla</i>	020-	0201, 0202
<i>vasinfectum</i>	<i>Gossypium</i>	011-	0110 - 0119, 01111, 01112
<i>zingiberi</i>	<i>Zingiber</i>	046-	-
<i>raphani</i>	<i>Raphanus</i>	022-	0220

germinatifs se développent pour atteindre des sites privilégiés sur les racines et initier le processus d'infection. La germination des chlamydospores ainsi que l'évolution saprophytique du mycélium sont largement stimulées et favorisées dans la rhizosphère que dans les autres compartiments du sol [41].

Le sol rhizosphérique, par le biais des exsudats racinaires des plantes, constitue une étape cruciale dans l'initiation de l'infection systémique où les chlamydospores n'ont besoin que de quelques heures pour germer et pénétrer à travers les tissus non différenciés [42]. Généralement le processus d'infection, par voie systémique, peut se réaliser par une pénétration active dans les cellules immatures qui entourent le méristème subapical de la racine. Lorsque ces cellules se divisent et se différencient, le pathogène est éliminé des futures cellules phloémiques et du cortex, mais se maintient dans les vaisseaux et le parenchyme médullaire [34]. Dans les vaisseaux le mycélium produit des microconidies qui sont transportées vers le haut par la sève; quand ce mouvement est empêché par une paroi transversale, les microconidies germent, et le tube germinatif pénètre dans la paroi pour que la formation des microconidies reprend de l'autre côté de cette paroi. La mort du plant intervient quand le champignon atteint avec ses toxines le bourgeon terminal. Après la mort du plant, le mycélium continue à se développer dans les tissus morts et forme de nombreuses chlamydospores dans les cellules du parenchyme [43].

#### 1.4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* W.C Snyder et H.N Hansen :

L'agent du flétrissement fusarien de la tomate, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, a été signalé pour la première fois dans les îles de la Manche par Mass GE en 1895 [35], puis il s'est répandu dans de nombreuses régions de production de tomate, touchant déjà en 1991 plus de 32 pays [36, 44, 45]. En Algérie, cette maladie a été signalée initialement en 1966 par Pecault et al., [46]. Chez cette espèce, il a été relevé une grande variabilité dans sa virulence, il a été identifié trois races physiologiques distinctes [47, 48, 49] et 4 groupes de compatibilité végétative [50, 51]. Les deux premières races sont actuellement regroupées dans trois groupes de compatibilité végétative, le VCG<sub>s</sub> 0030 à 0032 [51], la troisième race appartient aux VCG<sub>s</sub> 0030 et 0033 [51, 52].

Le champignon peut provoquer des symptômes, caractérisant cette affection vasculaire, sur la plante à n'importe quel stade végétatif. Les premiers symptômes externes se caractérisent par un jaunissement basal du rachis, d'une foliole et éventuellement de la feuille entière [53], la décoloration de la tige commençant par un léger jaunissement

longitudinal sur une portion de celle-ci et évolue en une bande jaune plus marquée puis en une nécrose beige à marron claire. Les symptômes sur fruits débiteront par une coloration très claire, brunissant avec le temps et évoluant par la suite sur la totalité du fruit [54].

Au cours de son cycle de vie, le champignon présente une phase saprophyte et une phase parasitaire [27, 54]. Le cycle peut-être constitué d'une période unique correspondant à une reproduction asexuée continue qui se renouvelle et se perpétue sous forme conidienne [44]. En présence de la plante, les chlamydo-spores germent et les filaments produits pénètrent et se développent à l'intérieur des vaisseaux correspondants à la racine attaquée [55].

Durant la phase saprophyte, le champignon se conserve pendant plusieurs années sous forme de chlamydo-spore sur les débris végétaux et dans le sol, à des profondeurs allant de 80 cm à 1 mètre [37, 54, 56, 57]. Généralement, le développement de la maladie se réalise dans des sols sableux et acides [58], sur des cultures carencées en azote, en phosphore et/ou en calcium [59], à la température de l'ordre de 28° à 30°C et avec une humidité relative élevée [60].

#### 1.5. *Fusarium oxysporum* f. sp *lini* (Bolley) W.C. Snyder et H.N. Hansen :

La fusariose vasculaire du lin est causée par la forme spéciale *lini* de *Fusarium oxysporum*, qui est constituée par un seul groupe de compatibilité végétatif désigné par 0440 [33]. Comme celui des autres formes spéciales, le cycle de vie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* se comporte deux phases saprophyte et parasitaire [54, 61], où les chlamydo-spores subissent une formation, une dormance et une germination [62]. Le sol, la semence et les débris végétaux sont les principaux moyens de propagation du champignon.

Cet agent cryptogamique, qui vit extrêmement longtemps dans le sol, peut initier l'infection à n'importe quel stade de croissance de la plante, de la levée à la fin de la floraison. Les racines infectées se décolorent en gris cendre et au niveau de l'extrémité apicale on distingue la déformation en arc «Shepherd's crook», symptôme typique de la fusariose du lin et parfois le flétrissement ne touche la tige que partiellement [63]. Les plants du lin atteints, par cette maladie, donnent des fibres courtes qui ne sont pas utilisables dans la production industrielle.

### 1.6. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* W.L Gordon :

La fusariose vasculaire du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L), dénommée bayoud est causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Les isolats de cette forme spéciale sont regroupés dans un seul groupe de compatibilité végétatif (0170) [64]. Le bayoud est au début apparu au Maroc dans la vallée de Draâ vers 1870, pour s'introduire en Algérie par les oasis frontalières de Beni Ounif en 1898 et de Bechar en 1900. Depuis son apparition, cette maladie a causé la destruction de plus de 3 millions de palmiers dans les régions du Sud-Ouest et plus de 10 millions de palmiers au Maroc [65]. *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, comme tous les agents de trachéomycoses d'origine tellurique, pénètre directement par les racines du palmier et se localise dans les faisceaux ligneux. La progression du champignon est ascendante et se réalise à la fois par le mycélium et par les microconidies, qui sont entraînées par le courant de la sève jusqu'au sommet de l'arbre. Au cours de son ascension, l'agent pathogène colonise le parenchyme de l'arbre par un mycélium inter et intracellulaire qui prend alors la couleur brun rougeâtre, caractéristique du Bayoud [66].

Le bayoud attaque aussi bien les palmiers jeunes qu'adultes, de même que les rejets de la base. Les premiers symptômes de la maladie font leur apparition sur une ou plusieurs feuilles de la couronne moyenne, qui prennent une teinte gris cendrée et ensuite se fanent d'une façon particulière : les pennes situées d'un côté de la feuille commencent à blanchir et la maladie progresse de la base vers l'apex, et le flétrissement gagne l'autre côté, en sens inverse jusqu'à la mort de la feuille qui devient arquée. Les mêmes symptômes peuvent ensuite apparaître sur des feuilles adjacentes ou opposées. Ce processus peut durer de quelques jours à quelques semaines. Dans tous les cas, la maladie avance toujours vers le cœur de l'arbre qui meurt quand le mycélium atteint le bourgeon terminal. Le palmier peut mourir après 6 mois à 2 ans de l'apparition des premiers symptômes en fonction du cultivar et des conditions de plantation [67, 68]. Les contaminations peuvent se faire par le sol, les outils, les poussières, les eaux d'irrigations et les boutures. Le champignon est très inégalement réparti dans le sol; on le trouve entre 0 et 30 cm de la surface du sol, mais parfois, jusqu'à 1 m [64]. L'inoculum se conserve dans le sol sous forme de débris végétaux ou des chlamydospores pendant plusieurs années [69].

### 1.7. Lutte :

Les méthodes de lutte appliquées pour le contrôle des fusarioses sont généralement limitées, comme c'est le cas de l'ensemble des maladies parasitaires vasculaires. Il n'existe actuellement aucun moyen réellement efficace pour contrôler totalement ces maladies [70]. Les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif : élimination des plants malades et des résidus de culture, désinfection des terreaux et utilisation des semences saines, pratique de la jachère et la réalisation des rotations [59]. Barna *et al.*, [71], soulignent l'importance du maintien d'une fertilisation azotée afin de favoriser la production de pousses jeunes pour améliorer la résistance de la plante. Le recours au chaulage peut diminuer les attaques fusariennes [72].

La protection des cultures contre le flétrissement fusarien se fait principalement, depuis plusieurs décennies, par l'utilisation de pesticides tels que bromure de méthyle [73], benomyl, captafol [74] et thiophanate [75] qui deviennent aujourd'hui inquiétants à cause de leur impact chimique, de la demande sociale pour un environnement sain et de leur nuisibilité sur l'environnement (production de résidus, pollution diffuse, destruction de l'équilibre microbien...). Les traitements chimiques à base de fongicides systémiques, appliqués en cours de culture, sont souvent inefficaces dans la pratique et favorisent le développement de phénomène de résistance chez le pathogène [76], en raison de la difficulté d'atteindre les couches profondes du sol dans lesquelles le parasite se conserve sous forme de chlamydospores [75], en plus des coûts élevés des opérations de désinfection du sol [23].

A titre préventif, la lutte physique proposée par Anchisi *et al.*, [77] consiste à traiter la racine avec de l'eau chaude de 48° à 49° C pendant 30 secondes avant la transplantation pour stimuler la croissance des racines. La stérilisation et/ou la solarisation ne sont pas des solutions pratiques à grande échelle et à long terme.

La lutte génétique consiste à sélectionner des cultivars résistants et à réaliser des multiplications combinées pour l'obtention de génotypes résistants [36, 78]; malheureusement jusqu'à présent ces génotypes sont de qualité fruitière médiocre dans le cas du palmier dattier. L'apparition de souches résistantes du pathogène réduit l'efficacité de ces procédures de lutte et nécessite la recherche de nouveaux gènes de résistance [35].

Pour remédier à ce problème de contrôle des fusarioses vasculaires, par les techniques précédemment citées qui ne sont pas généralement efficaces, la lutte biologique peut contribuer ou devenir une alternative pour renforcer les procédures de lutte. Elle consiste à utiliser des antagonistes naturels des pathogènes, limitant ainsi leur prolifération et/ou à renforcer les défenses des plantes et à augmenter la résistance du sol à la réceptivité des maladies [79, 80]. Parmi les agents antagonistes, les plus prometteurs se trouvent des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Fusarium oxysporum* non pathogènes [16, 20].

## CHAPITRE 2

### MICROORGANISMES ANTAGONISTES DE

#### *Fusarium oxysporum*

##### 2.1. Importance des microorganismes antagonistes :

Depuis que la protection des plantes est devenue une préoccupation dans la conduite et l'amélioration des cultures, les techniques de lutte biologique ont toujours suscité un intérêt notamment dans le cas où les techniques classiques ne sont pas efficaces. L'utilisation des microorganismes, en qualité d'agent de lutte biologique, a été souvent associée avec des maladies d'origine telluriques [81, 83, 84, 85]. La nature épidémique des fusarioses vasculaires ajoutée au mode d'action du pathogène ont toujours constitué des limites devant la réussite des méthodes de lutte conventionnelle. Pour remédier à ces problèmes, de nombreux travaux ont souligné l'importance de l'expérimentation et de l'utilisation d'antagonistes microbiens naturels. Parmi les microorganismes les plus étudiés, quant à leur exploitation dans la lutte contre les fusarioses vasculaires nous citons particulièrement les agents fongiques : *Fusarium oxysporum* non pathogène, *Glomus*, *Pythium*, *Trichoderma*, et les agents bactériens : *Bacillus*, *Burkholdera*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* (Tableau 2.1 et 2.2).

Les agents de biocontrôle ne sont pas limités à un groupe microbien spécifique; cependant vu la diversité de la microflore au niveau du sol et de la rhizosphère, il est probable que le spectre de souches potentiellement efficaces n'a été examiné que partiellement sous des conditions expérimentales, même si sur le marché il est déjà, quelque formulations a base de microorganismes [86].



**Tableau 2.1 :** Biocontrôle des maladies fongiques par bactérisation des semences et des racines.

Bactéries	Champignons pathogènes	Plantes	Références
<i>Bacillus subtilis</i> GB03	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	Pois chiche	[87]
<i>Burkholderia cepacia</i> A3R	<i>Fusarium graminearum</i>	Blé	[88]
<i>B. cepacia</i> PHQM 100	<i>Fusarium</i> spp.	Mais	[89]
<i>Paenibacillus</i> sp. 300	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Concombre	[90]
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>F. o</i> f. sp. <i>Radicis-lycopersici</i>	Tomate	[91]
<i>P. chlororaphis</i> PCL 1391	<i>F. o</i> f. sp. <i>Radicis-lycopersici</i>	Tomate	[92]
<i>P. chlororaphis</i> RD31-3A	<i>Fusarium</i> spp.	Douglasse	[93]
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	Radis	[94]
<i>P. fluorescens</i> WCS417	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	Radis	[95]
<i>P. fluorescens</i> WCS358	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	Lin	[95]
<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	Radis	[94]
<i>Streptomyces</i> sp. 385	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	Concombre	[90]

**Tableau 2.2 :** Biocontrôle des fusarioses vasculaires par des antagonistes fongique telluriques.

Antagonistes	Pathogènes	Plantes hôtes	References
<i>Fusarium</i> spp. (Cs-1, Cs-20, FO47) (non pathogène)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	[96]
	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>niveum</i>	Pastèque	[96]
<i>Fusarium oxysporum</i> Fo47 (non pathogène)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	[97]
<i>Fusarium oxysporum</i> (non-pathogène)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	[98]
<i>Fusarium solani</i> (non-pathogène)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	[98]
<i>Glomus intraradices</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	Ouillet	[99]
<i>Penicillium oxalicum</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Tomate	[100]
<i>Pythium acanthophoron</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	Orge	[101]
<i>Pythium mycoparasiticum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	Orge	[101]
<i>Pythium oligandrum</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	Orge	[101]
<i>Pythium pericladium</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	Orge	[101]
<i>Trichoderma virens</i> GL-3	<i>Fusarium graminearum</i> ; <i>Pythium arrhenomanes</i> ; <i>P. ultimum</i>	Mais	[102]

## 2.2. Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp fluorescents :

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été expérimentés avec succès dans de nombreux essais conduits en conditions contrôlées, en plein champs, et en conditions naturelles [3, 6, 103, 104, 105, 106]. Ces espèces sont classées parmi les rhizobactéries les plus adaptées à la vie tellurique et surtout rhizosphérique [107, 108, 109, 110].

De nombreux travaux ont montré l'importance de ces rhizobactéries dans le biocontrôle de plusieurs agents phytopathogènes, dans la stimulation de la croissance des plantes [13, 111] et leur rôle bénéfique « écologique » dans la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol [3, 7, 112, 113]. Ces bactéries sont souvent dominantes au sein de la communauté microbienne rhizosphérique, elles se rencontrent dans tous les horizons, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes ou au voisinage immédiat des racines.

Les *Pseudomonas* spp fluorescent forment un large groupe bactérien rencontré dans le sol, les plantes et les environnements aquatiques. Les principales espèces étudiées dans la lutte microbiologique sont surtout : *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Chlororhizobium* et d'autres espèces récemment décrites comme *P. jessennii* [114] et *P. lini* [115].

Sommairement, les effets bénéfiques des rhizobactéries se présentent directement sur la plante, en stimulant sa physiologie et en améliorant sa croissance et/ou indirect par l'inhibition et l'élimination des effets néfastes de la flore racinaire pathogène.

### 2.2.1. Stimulations de la croissance végétale :

La réalisation des effets bénéfiques, cités précédemment, est liée à la position stratégique de ces bactéries dans l'interface sol-racine. En effet ce dernier joue un rôle majeur dans les relations de la plante avec les rhizobactéries et inversement elles sont affectées par les excretions et les exsudats racinaires, ce qui explique leurs aptitudes à coloniser la rhizosphère [116]. La stimulation de la croissance par ces rhizobactéries a été rapportée sur plusieurs espèces végétales. Les effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été mis en évidence dans différentes conditions expérimentales et dans les différents stades phénologiques des plantes : sur le développement des vitroplants, pendant la rhizogénèse, sur

la faculté germinative [117, 118, 119, 120, 121], sur la levée et l'élongation des tiges, sur l'accroissement de la phytomasse des plantes herbacées et ligneuses [122].

Pour ce qui est de l'amélioration de l'alimentation minérale de la plante, nous citons surtout le fer, le phosphore et le manganèse [7]. Les gains en croissance induits par ces microorganismes sont la conséquence de synthèse de métabolites secondaires analogues aux phytohormones et à l'amélioration de l'alimentation hydrominérale de la plante. En ce qui concerne la phytostimulation, de nombreux travaux ont mis en évidence la capacité de certaines souches bactériennes à synthétiser des auxines, des cytotoxines, des gibbérellines [123], de l'acide indole-3- acétique [124], de l'acide succinique [125] et certaines vitamines [126].

Si l'excrétion de siderophores par les rhizobactéries est abondante, la plante trouvera à sa disposition du  $Fe^{+++}$  chélaté qu'elle pourra assimiler facilement [127]. Demange *et al.* [128] ont montré grâce à l'utilisation du  $Fe^{55}$  que la plante peut assimiler le complexe fer - siderophones. Briat [129] a observé que la tomate absorbe le fer de façon plus efficace en présence de ce type de bactéries.

Certains *Pseudomonas* seraient capables de solubiliser le phosphore organique du sol, abondant mais inutilisable par les végétaux, soit par minéralisation des phosphores organiques grâce à des phosphatases, soit par solubilisation des phosphates organiques sous l'effet des acides libérés [130]. La réduction du manganèse du sol par les *Pseudomonas* spp. fluorescents pourrait augmenter sa disponibilité et favoriser son assimilation par la plante [131].

### 2.2. 2. Induction systémique de la résistance des plantes :

Bien que les effets microbiens bénéfiques décrits soient responsables au moins partiellement, de l'amélioration de l'état sanitaire des plantes, les PGPR peuvent aussi induire des effets directs en stimulant les capacités défensives des plantes [132, 133, 134, 135, 136]. Ce mécanisme, est connu par l'induction systémique de la résistance des plantes (ISR) (Induced Systemic Resistance ISR) [10]. La résistance induite aux plantes, par les PGPR, a été mise en évidence chez plusieurs espèces végétales (Tableau 2. 3).

Le phénomène d'induction de la résistance se traduit par une augmentation de sa capacité de se défendre contre un large spectre d'agents pathogènes (fongiques, bactériens et viraux) [19, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148] et même contre des insectes [139] et des nématodes [149]. Dans le cas des fusarioses, de nombreux travaux ont souligné l'efficacité des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans l'induction systémique de la résistance des plantes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* [19, 95, 142, 150, 151, 152, 153]. Ce type de résistance est considéré comme non spécifique, à l'exemple, de la protection assurée par la souche *Pseudomonas* WCS417R qui s'exerce principalement vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphani*, mais également vis-à-vis d'autres agents pathogènes : *P. syringae* pv. *syringae*, *Alternaria brassicicola* et *F. oxysporum* [154].

Il a été démontré également que les *Pseudomonas* spp fluorescents peuvent jouer le rôle d'éliciteurs sur l'activation des gènes de défense des plantes [155]. La caractérisation des produits des gènes de défense chez les plantes a permis de montrer l'existence de deux catégories majeures de modifications systématiquement retrouvées : il s'agit d'une modification structurale de la paroi cellulaire et des changements physiologiques et biochimiques [153, 156]. Lors d'une préinoculation par une rhizobactérie, la paroi cellulaire des végétaux pouvait être renforcée par des dépôts de composés phénoliques [157, 158], de polysaccharides et par l'accumulation rapide de la lignine [159]. Dans les plantes préinoculées par des rhizobactéries, Il a été noté une très intense stimulation des voies métaboliques secondaires conduisant notamment à l'accumulation des protéines PR "Pathogenesis related proteins" (Chitinases,  $\beta$ -1,3 glucanases) [19, 138, 157, 159, 160], la synthèse de phytoalexines [142, 160, 161, 162], de Peroxydases [162], de phenylalanine ammonialyase (PAL) [106] et de Chalcone synthase [160].

Les déterminants bactériens induisant les mécanismes de défense des plantes dans différents systèmes d'interaction, sont très variables (Tableau 2.3). La souche *P. aeruginosa* 7NSK2 synthétise l'acide salicylique qui induit une augmentation de la défense des plantes envers *Botrytis cinerea* [134, 161]. Chez la tomate et le radis les lipopolysaccharides de *P. fluorescens* peuvent induire leur résistance aux fusarioses vasculaires [162, 150]. Les

sidérophores, peuvent aussi jouer un rôle dans le phénomène d'induction systémique de la résistance du radis contre le flétrissement fusarien [138, 163, 164].

Tableau 2.3 : Types et déterminants bactériens de l'induction systémique des plantes [10].

<b>Souche bactérienne</b>	<b>Plante : déterminant bactérien</b>	<b>Type</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 7NSK2	Tabac : acide salicylique	SAR
	Haricot : acide salicylique	SAR
<i>Pseudomonas fluorescens</i> CHAO WCS374	Tabac : siderophore	SAR
	Radis : lipopolysaccharide , siderophore facteur régulateur des fers	ISR
	WCS417	ISR
	Ouillet : lipopolysaccharide	ISR
	Radis : lipopolysaccharide, facteur régulateur des fers ioniques	ISR
<i>Pseudomonas putida</i> WCS358	<i>Arabidopsis</i> : lipopolysaccharide	ISR
	<i>Arabidopsis</i> : lipopolysaccharide, siderophore	ISR

SAR: Systemic Acquired Resistance; ISR: Induced Systemic Resistance

### 2.2.3. Modification des équilibres microbiens :

L'utilisation de la lutte microbiologique contre les maladies fongiques d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses études bibliographiques [7, 22, 165, 166, 167]. La plupart de ces travaux insiste sur le double effet de ces germes, antibiose vis-à-vis de certains pathogènes et action stimulante sur la croissance des plantes via l'activation de leurs activités métaboliques. L'antibiose est le mécanisme le plus connu en phytopathologie; l'antagonisme microbien est considéré comme une interaction directe entre deux ou plusieurs microorganismes qui occupent la même niche écologique, dont les actions de confrontation se réalisent et/ou par des actions directes (antibiose) par des actions indirectes (compétition). Les substances bactériennes ayant des effets inhibiteurs peuvent être des antibiotiques, des enzymes ou des substances volatiles [166, 168]. La compétition s'exerce pour des éléments susceptibles d'être en quantité insuffisante pour satisfaire les besoins des protagonistes (eau, oxygène, les éléments nutritifs...) ou pour les sites spécifiques [166].

Dans la vive compétition qui existe entre les microorganismes telluriques, au sein de la rhizosphère, les rhizobactéries possèdent un atout majeur car elles sont aptes à coloniser efficacement et rapidement le système racinaire. Même si le rôle de la compétition pour l'espace ne peut pas être complètement exclu, l'essentiel des travaux relatifs à la compétition exercée par les *Pseudomonas* spp fluorescents porte en particulier sur la compétition trophique pour le fer ionique [169, 170, 171]. Ce dernier devient assimilable non seulement par la bactérie, qui en tire un avantage métabolique évident, mais aussi par la plante assurant à celle-ci un métabolisme énergétique plus actif, ce qui se répercute indirectement sur sa croissance et son développement [172]. Même s'il est évident de la simplicité de la mise en évidence de ces processus bactériens, en conditions expérimentales (facilité de culture, multiplication bactérienne rapide...), néanmoins leur exploitation pratique est étroitement liée aux conditions environnementales [7, 106].

#### 2.2.1. Synthèse de sidérophores :

Le fer est un élément essentiel à la vie de tout organisme vivant, il est impliqué dans les réactions d'oxydoréduction qui se déroulent lors des réactions fondamentales comme la photosynthèse, la respiration, la fixation d'azote atmosphérique, la synthèse des désoxyribonucléotides, le transport d'oxygène et le transport d'électrons [171]. Cet élément est souvent un facteur limitant pour la croissance et l'activité microbienne dans le sol [171]. Dans des conditions d'aérobie et de pH physiologique alcalin, le fer se trouve sous formes oxydées et polymérisées d'hydroxyde de fer  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  totalement insoluble, ce qui rend son assimilation difficile [173].

Dans le sol rhizosphérique, la concentration de cet élément est généralement faible compte tenu des caractéristiques physico-chimiques des sols, de la forte densité microbienne dans la rhizosphère et des prélèvements de fer ferrique par la plante. Dans un milieu carencé en fer; pour contourner ce problème de biodisponibilité les *Pseudomonas* spp fluorescents comme la plupart des microorganismes, ont développé des stratégies spécifiques pour capter le fer et le stocker à l'intérieur de leurs cellules, en synthétisant des petites molécules appelées sidérophores pour le transporter à l'intérieur des cellules bactériennes [174]. Les siderophores sont des métabolites secondaires synthétisés par plusieurs espèces de *Pseudomonas* spp.



fluorescent telles que *P. aeruginosa*, *P. fluorescens putida*, *P. ovalis*, *P. nildenbighii*, *P. reptitivora*, *P. gericulata* et *P. calciprecipitans* [175].

Les sidérophores (du Grec, porteurs de fer) sont des composés organiques de faible poids moléculaire (500 à 1500 Da) et de forte affinité pour le fer trivalent, a une constante de stabilité d'environ  $10^{32}$  [175] se traduisent *in vitro* par l'émission d'un chromophore jaune-vert fluorescent sous rayonnement ultraviolet [114, 176] caractéristique de ce groupe bactérien [177], qui sont des hydroxamates ou des catéchols. [178]. Selon les auteurs, le pigment fluorescent est nommé « fluoresceine » ou « pyoverdine » [175] ou pseudobactine [179, 180]; il est constitué d'une chaîne peptidique d'acide aminé lié à un chromophore fluorescent responsable de la fluorescence jaune vert caractéristique de ce pigment [128].

La diversité structurale entre les différents siderophores produits par les *Pseudomonas* spp. fluorescents est parfaitement considérable selon les espèces et les souches productrices [181] et la nature chimique des groupes qui chélatent le fer ferrique. Les *Pseudomonas* produisent plusieurs types de sidérophores tels que les pyoverdines [169, 175], les ferribactines, les pseudomonines et les pyochelines [7, 182].

La production des sidérophores, corrélativement au pouvoir antagoniste sont sensibles aux variations de la température, du pH du sol, de la disponibilité de l'azote, des teneurs en oxygène, en cuivre, et en phosphore, et de la concentration en oligo-éléments notamment en fer [179, 183, 184, 185].

La présence de sidérophores dans le milieu semble être indispensable à l'expression de l'antagonisme. L'activité antagoniste exercée par les pyoverdines est effectivement liée à la compétition pour le fer, puisqu'elle est annulée lors de l'apport de fer [3, 186]. Cet élément est stimulé en diminuant la concentration de cet élément dans le milieu [119, 187].

Il a été rapporté que les activités antagonistes chez plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents a l'encontre de divers agents phytopathogènes de genre *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Erwinia* [170, 188], dont le potentiel chélateur est nettement meilleur que celui des autres microorganismes [170]

### 2.2.3.2. Antibiose :

Le processus d'antibiose est sans doute, le mécanisme le plus étudié dans les activités antagonistes microbiennes. Divers métabolites, souvent secondaires, ont des effets analogues ou sont similaires aux antibiotiques. Chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents se sont surtout des antibiotiques ; tels que 2.4 diacetylphloroglucinol des phénazines, des pyoluteorines et des pyrrolnitrines [92, 189, 190, 191, 192, 193], des Viscosinamides , des tiensines, amphisine et de l'oomycine A et de la tropolone [193]. Certaines souches produisent des cyanides d'hydrogène [189, 194] et des enzymes lytiques telles que les chitinases et les  $\beta$  1-3 glucanases, capables de dégrader la paroi fongique et les composés toxiques tel que l'acide fusarique [195].

Le rôle des antibiotiques dans l'inhibition du développement des microorganismes phytopathogènes a été mis en évidence grâce à l'utilisation de mutants déficients en synthèse d'antibiotiques par rapport aux souches sauvages [92, 189, 196]. Certaines souches ont été également manipulées génétiquement afin de leur permettre de produire plusieurs antibiotiques. L'utilisation de gènes rapporteurs et de sondes, pour mesurer l'expression des gènes impliqués dans la production d'antibiotiques, a permis de détecter l'activité de ces gènes lors de la colonisation des racines et directement dans la rhizosphère [92]. Les antibiotiques produits dans la rhizosphère et la spermosphère ont été reconnus comme un facteur majeur dans la suppression de plusieurs maladies telluriques, telles que le piétin échaudage du blé [5], la Pourriture blanche des racines du tabac (189) et la fusariose vasculaire de la tomate [197].

### 2.3. Effet de *Fusarium oxysporum* non pathogène :

Actuellement, les souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum* reçoivent beaucoup plus d'attention dans la lutte biologique, surtout en montrant une certaine régularité et reproductibilité dans de nombreuses expérimentations [20, 21, 82, 93, 98, 131, 198]. Des études expérimentales effectuées dans des sols naturellement suppressifs aux fusarioses ont montré que deux types de microorganismes sont impliqués dans les mécanismes de suppression : les souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum* et des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents [170, 199].

Depuis la première mise en évidence de l'effet bénéfique de ces souches dans les sols suppressifs par Smith et Snyder [80], plusieurs travaux ont montré que les sols suppressifs aux fusarioses vasculaires renferment une densité élevée de souches de *Fusarium oxysporum* non pathogènes [43, 80, 200, 201]; dans les travaux d'Alabouvette *et al.*, [202], cette densité était 10 fois plus élevées dans les sols résistants que dans les sols sensibles.

Les souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum* diffèrent non seulement par leur efficacité et leurs modes d'action, mais aussi par leurs caractéristiques génotypiques et phénotypiques [201]. Plusieurs de ces souches ont montré leur capacité inhibitrice vis-à-vis des fusarioses vasculaires, parmi elles la souche FO47 très active, utilisée comme souche modèle dans la bioprotection des plants vis-à-vis des formes pathogènes de *Fusarium oxysporum*, elle peut contribuer en tant que moyen de lutte biologique contre les formes pathogènes de *Fusarium oxysporum*. Du point de vue théorique, l'interaction entre les souches pathogènes et non pathogènes de *Fusarium oxysporum* tient place au niveau du sol, au niveau de la rhizosphère mais également à l'intérieur des racines. Les principaux modes d'action associés avec les souches non pathogènes sont la compétition trophique, la compétition pour les sites d'infection et l'induction systémique de la résistance chez les plantes [202]. Il est également à noter que les *Fusariums* non pathogènes jouent un rôle prépondérant dans les actions d'inhibition des fusarioses dans les sols suppressifs [70].

### 2.3.1. Compétitions trophique et spatiale :

La fréquence élevée des *Fusarium oxysporum* dans la rhizosphère serait due au pouvoir compétitif de ces souches saprophytes [201, 203]. Globalement, la compétition s'effectue vis-à-vis des souches pathogènes pour le carbone, pour l'azote et pour le fer [203, 204, 205, 206]. La compétition nutritive est l'un des mécanismes de la suppression des fusarioses vasculaires dans le sol, où la microflore saprophyte est plus stimulée dans la rhizosphère pour provoquer un stress nutritif spécifique vis-à-vis des formes pathogènes à développement lent [20, 43, 80, 202]. La compétitivité s'exerce également par leur pouvoir d'adaptation aux différents milieux telluriques, par leur croissance dans la rhizosphère et leur aptitude à occuper l'espace rhizosphérique [207, 208, 208, 209, 210, 212].

### 2.3.2. Induction systémique de la résistance :

Des études sur les interactions plante-microorganismes ont montré que les souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum* interviennent indirectement par induction systémique de la résistance des plantes [24, 25].

Les travaux sur l'induction systémique de la résistance par l'intermédiaire des champignons non pathogènes sont relativement récents, car les premiers travaux dans ce sens datent de 1997 [157]. La résistance conférée aux plantes, par les souches non pathogènes de *Fusarium oxysporum*, a été démontrée chez plusieurs espèces végétales, comme la tomate [204], le petit pois et la pastèque [78, 96]. Les changements physiologiques chez la plante sont reconnus par la production de phytoalexines [25, 157, 204], de chitinases, de  $\beta$  1,3 glucanase, de  $\beta$  1,4 glucosidase et de protéines PR-1 et des peroxydases [25, 157, 204].

### 2.4. Combinaison de plusieurs microorganismes :

Vue l'action non spécifique des souches antagonistes, la variabilité des réponses en fonction de l'environnement et la diversité des mécanismes impliqués font que l'efficacité doit être recherchée à travers l'association de souches à propriétés différentes [7, 106, 211, 212]. Ainsi, afin d'améliorer le niveau de protection vis-à-vis des fusarioses vasculaires, l'utilisation d'inoculum mixte (*Fusarium oxysporum* non pathogène et *Pseudomonas* spp. fluorescents assure une meilleure protection que celle de chacun des composants [22, 213, 214].

De part la variabilité des modes d'action obtenue par des utilisations individualisées, l'efficacité peut être améliorée par des effets additifs ou synergiques [7, 106, 215, 216]. De plus, il est souhaitable d'utiliser des microorganismes ayant un spectre d'action positif relativement large, comme les *Pseudomonas* spp. fluorescents avec d'autres microorganismes plus dirigés vers des problèmes spécifiques des cultures à traiter (Tableau 2.4). Les chances de sélectionner des souches efficaces peuvent être meilleures en isolant des antagonistes de même niche écologique. Ainsi l'activité antagoniste de la souche non pathogène de *Fusarium oxysporum* FO47 et de la souche de *Pseudomonas fluorescens* C7, utilisées en association contre des formes pathogènes de *F. oxysporum* a été démontrée [217].

**Tableau 2.4 :** Protection des plantes par des *Pseudomonas* spp. fluorescents et des *Fusarium oxysporum* non pathogènes [69].

<i>Pseudomonas</i> antagonistes	<i>F. oxysporum</i> pathogène	Plantes hôtes	Suppression de la maladie	
			Sévérité (%)	Production (%)
<b>P. putida A12</b>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i>	33 <sup>a</sup>	145
			19 <sup>b</sup>	105
			57 <sup>c</sup>	102
Souche N1R	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i>	<i>Cucumis sativus</i>	36 <sup>a</sup>	154
			38.5 <sup>b</sup>	146
<b>P. putida A12</b>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	<i>Linum sativum</i>	62.5 <sup>c</sup>	108
			73 <sup>a</sup>	
			64 <sup>b</sup>	
<i>Pseudomonas</i> spp. Strain C7R12	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i>	68 <sup>c</sup>	
			47.5 <sup>a</sup>	
			46.1 <sup>b</sup>	
<i>P. fluorescens</i> Pf36	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i>	65.6 <sup>c</sup>	
			9-17 <sup>a</sup>	
			39-74 <sup>c</sup>	
Souche Pf153	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lini</i>	<i>Linum sativum</i>	6-20 <sup>a</sup>	
			26-87 <sup>c</sup>	
Souche CHAO	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis</i>	<i>Linum sativum</i>	20 <sup>a</sup>	
			87 <sup>c</sup>	
			13 <sup>a</sup>	
<i>Pseudomonas</i> spp. C7	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	<i>Lycopersicum</i> <i>esculentum</i>	10 <sup>b</sup>	
			33.5 <sup>c</sup>	
			38-50 <sup>a</sup>	156-286
<b>P. putida</b> WCS358	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>dianthi</i>	<i>Dianthus</i> <i>caryophyllus</i> cv <i>lena</i>	49.5-55 <sup>b</sup>	117-198
			46-72 <sup>c</sup>	100-138
			36.3 <sup>a</sup>	
			37.4 <sup>b</sup>	
			52.6 <sup>c</sup>	

<sup>a</sup>% de contrôle de la maladie; <sup>b</sup>% de la protection assurée par les *Pseudomonas*; <sup>c</sup>% de la protection assurée par *F. oxysporum* non pathogènes

### 2.5. Biocontrôle du flétrissement fusarien :

La réussite de la lutte biologique ne nécessite pas seulement de définir les conditions de succès mais également d'identifier les causes d'échec, que ce soit par une meilleure connaissance des propriétés que doit avoir un agent de lutte biologique ou par une meilleure compréhension des conditions environnementales nécessaire à son maintien, son développement et son efficacité. Si la compréhension du mode d'action de *Fusarium oxysporum* non pathogène et des *Pseudomonas* spp. fluorescente reste une étape nécessaire, l'étude devra être mise sur une meilleure connaissance et compréhension de leur adaptation à l'environnement dans lequel ils sont introduits ou sont des organismes résidents naturellement. L'installation d'un organisme non résident au sein d'un écosystème complexe reste difficile, ainsi la réussite de l'opération est conditionnée par l'inter complexe pathogène plante et sol [205].

#### 2.5.1. Effet du sol :

La cause des échecs lors de l'introduction de microorganismes dans le sol est souvent attribuée aux caractéristiques de celui-ci. En plus du rôle du sol comme support dans les interactions entre les microorganismes et le déplacement des équilibres microbiens, vers l'un ou l'autre des microorganismes, plusieurs facteurs édaphiques incluant la température, l'humidité, le pH et les propriétés physico-chimiques influencent sur leurs installation, leurs activités, leur conservation, l'installation des antagonistes et leur interaction avec la microflore indigène [110, 206, 207].

Le pH du sol semble avoir un effet direct tant sur la production des métabolites secondaires que sur la répression des maladies. En effet, la production de sidérophores pourrait être réduite ou inhibée en retour dans la rhizosphère de certaines plantes lorsque la teneur en  $Fe^{3+}$  disponible est élevée; ceci étant particulièrement vérifié dans les sols acides. Comme, il a été démontré que la concentration de l'acide phénazine-1-carboxylique (PCA) en fermentation liquide est optimale à pH 6,0 et diminue rapidement aux valeurs de pH supérieurs et inférieurs à celle-ci [208].

Dupler et Baker, [206] et Howie *et al.*, [110] ont également montré que l'humidité du sol est un facteur important dans la colonisation. Selon la texture du sol, la meilleure colonisation racinaire a lieu à des valeurs en potentiel hydrique comprises entre 0,01 et 1,4 bar [110].

La température affecte également la croissance bactérienne, la colonisation racinaire et la production des métabolites secondaires tels que les siderophores [192]. Elle joue également un rôle important sur les équilibres microbiens du sol; les différents microorganismes n'ayant pas les mêmes optimums thermiques de croissance. La sensibilité des *Pseudomonas* à la température du milieu environnant peut dépendre de leur origine géographique [209].

Bahme et Scroth, [210] ont également montré que la colonisation bactérienne est influencée par la texture du sol; les argiles grâce à leur effet structural, leur effet tampon et leur effet réservoir joue un rôle important aussi bien sur la quantité des microorganismes que sur leurs activités biologiques. Ainsi Smith et Snyder [80] ont observé que l'indice de la fusariose du pois a été réduit dans des sols argileux par rapport aux sols sableux.

Les caractéristiques microbiologiques du sol influencent directement la survie de la souche de *Pseudomonas* inoculée ; survie est d'autant meilleure que la biomasse microbienne est limitée [24] et que la quantité de nutriments est importante [147].

#### 2.5.2. Effet de la plante :

Le rôle de la plante dans l'orientation de la microflore rhizosphérique est en fonction de ses caractéristiques taxonomiques et métaboliques. En effet, il pourrait exister des mécanismes de spécificité (ou sélectivité de l'effet rhizosphère) aboutissant à la stimulation ou l'inhibition préférentielle de populations microbiennes en interaction avec certains génotypes de plantes. Les interactions entre les microorganismes, les plantes et le milieu sont complexes et réciproques. Les plantes ont une action directe sur les microorganismes du sol, de part les substances diverses qu'elles apportent dans le sol surtout au niveau de la rhizosphère; ces substances peuvent atteindre 40% de la quantité nette du carbone fixé par les parties aériennes lors de la photosynthèse [218]. Un très grand nombre de molécules solubles, insolubles et gazeuses sont ainsi disponibles à la proximité immédiate des racines sous forme de sucres (des

glucides simples ou polymérisés), d'acides aminés organiques, des dérivés nucléiques et des protéines provenant de la lyse des cellules [116].

La disponibilité en éléments nutritifs, ainsi que l'espace occupé par les rhizobactéries constituent des facteurs sur l'équilibre microbien entre antagoniste et pathogène au niveau de la rhizosphère. Si l'excrétion hors des cellules des composés solubles de faibles poids moléculaire par exemple des sucres ou des acides aminés, est considérée comme un processus passif, la sécrétion et l'excrétion sont de processus actifs qui consomment de l'énergie, qui concernent généralement les enzymes, les mucilages et les acides organiques [219].

La nature et la quantité de ces substances racinaires sont influencées par plusieurs facteurs, notamment les conditions environnementales (lumière, température, humidité, pH...), la plante (génotype, cultivar, stade phénologique), les caractéristiques pédologique et microbiologique du sol, type de sol et les microorganismes telluriques; par conséquent, la modification de l'un de ces facteurs entraîne un changement au niveau de la composition et l'activité de la microflore rhizosphérique [220]. Les effets bénéfiques de la bactérisation résultent à la fois des activités spécifiques des bactéries et de leur densité dans la rhizosphère de la plante-hôte; ainsi l'efficacité des souches de *Pseudomonas* spp fluorescents utilisées dépend de leur aptitude à produire certains métabolites et de leur pouvoir colonisateur [7, 221].

L'aptitude de ces *Pseudomonas* à coloniser la rhizosphère s'explique non seulement par leur grande affinité pour les exsudats racinaires, mais aussi par leur temps de génération relativement court, à l'exemple au niveau de la rhizosphère de *Pinus radiata* il n'est que de 5 heures alors qu'il est environ de 77 h dans le sol non rhizosphérique [276]. Même comparativement à d'autres agents antagonistes microbiens (*Bacillus*), les niveaux de la colonisation sont nettement élevés avec les *Pseudomonas* [108].

La compétence rhizosphérique d'une rhizobactérie "PGPR" résulte de divers mécanismes, dont les plus étudiés sont le chimiotactisme pour les composés libérés par le système racinaire, la fixation des bactéries sur les racines et aussi leur capacité à mobiliser les composés libérés par les racines des plantes. En effet Howie *et al.*, [110] ont montré que la

colonisation des racines passe par deux phases : la première phase correspond à l'attachement des bactéries à la cellule végétale, elles sont donc distribuées de façon passive et la deuxième phase, correspondant à la distribution locale des bactéries et à leur survie et leur prolifération active jusqu'à la limite avec les microorganismes indigènes. L'adhésion des bactéries aux racines serait d'autant plus efficace que la surface de la cellule bactérienne est hydrophobe. L'adhésion racinaire des *Pseudomonas* dépend de leur aptitude à s'agglutiner avec les glycoprotéines, dites agglutinines, produites par la plante [222, 223, 224].

D'autres travaux suggèrent, également, que les chaînes polysaccharidiques latérales, constitutives de l'antigène O des LPS bactériens (lypopolysaccharide) [142], les pili et les fimbriae seraient également impliqués dans la colonisation racinaire chez les *Pseudomonas* en intervenant dans leur fixation sur les racines. L'intensité de la colonisation chez le *Pseudomonas* est également influencée par leur localisation au niveau de la racine, ainsi les bactéries endophytes ou endorhizosphériques seraient moins sujettes à la compétition que celles situées à l'extérieur de la racine [187]. Du point de vue fondamental, de nombreuses études se sont intéressées aux réponses des plantes face aux agents pathogènes; leur résistance est basée sur des défenses constitutives (formation de papilles, lignification de la paroi cellulaire, synthèse de phénols, de flavonoïdes, et de tanins... et sur l'induction de différentes réponses cellulaires plus ou moins rapides (génération de formes activées de l'oxygène, modification des flux d'ions, variation du  $Ca^{2+}$  cytosolique et production de signaux cellulaires [135]. Certains éliciteurs, d'origine microbienne, sont reconnus par la plante et induisent la formation de molécules de signalisation interne tels que, l'acide salicylique [225], l'acide jasmonique et l'éthylène [151]. Ces signaux internes entraînent une résistance systémique ou localisée selon les trois voies principales : les composés structuraux (accumulation de lignine, formation des papilles, dépôt de la callose...) [26], la synthèse des protéines PR [152] et la stimulation des voies métaboliques secondaires conduisant notamment à la production des phytoalexines. Ces moyens de résistance peuvent aussi être induits par des agents antagonistes ou de leurs métabolites secondaires, ce qui représente un perfectionnement de la capacité défensive des plantes contre un large éventail de pathogènes [142].

## **CHAPITRE 3**

### **SOLS RESISTANTS**

Bien que la notion de sols résistants à des maladies d'origine tellurique est ancienne, sa compréhension et son exploitation restent relativement insuffisants et nécessitent plus d'investigations avec les avancées scientifiques actuelles. De nombreuses études consacrées aux sols résistants, ces dernières années, ont montré que le phénomène est assez répandu et se manifeste à l'encontre de plusieurs maladies. Ces sols ont été désignés par plusieurs qualificatifs : immunes, conductifs, suppressif, résistant, "sensitifs soils", "pathogènes suppressifs soils", "diseases suppressives soils", "long life soils", "antagonistic soils", "biologically buffered", "competitive soils", "décline soils", fongistatique, "low pathogen", "intolerant", [19, 225]. Le qualificatif de résistant s'applique à des sols qui limitent fortement ou suppriment la manifestation d'une maladie sur une culture sensible, en présence de conditions environnementales favorables à l'expression de l'agent pathogène présent ou introduit dans le sol [58, 83, 202].

#### 3.1. Type de résistance :

La résistance d'un sol peut être spécifique ou générale en fonction des cibles biotiques inhibées, constitutive ou acquise selon les caractères biotiques et abiotiques du sol et à long ou à court terme selon sa durabilité et sa longévité [28].

Dans un sol ayant une résistance spécifique, la transmission de ce caractère, lié à une nature microbiologique, pour d'autres sols est une propriété fondamentale pour ce type de résistance [83, 131, 226]. Dans ce cas, c'est une suppression où l'ensemble de la microflore n'est pas indispensable à la manifestation de la résistance, seulement une fraction fongique et/ou bactérienne, et spécifiquement de *Fusarium oxysporum* non pathogène et de *Pseudomonas* spp. fluorescent devant jouer un rôle prépondérant [83,

131, 172]. Cette résistance a un spectre d'action spécifique, elle s'exerce vis-à-vis de l'ensemble des espèces de *Fusarium oxysporum* mais pas à l'encontre d'autres agents telluriques y compris les espèces fusariennes non vasculaires [119, 215, 227, 228]. Il a été rapporté d'autres cas de sols dont leur résistance est spécifique vis-à-vis de : *Geamonomyces graminis var. tritici*, ou de *Aphanomyce enteichtii*, ou de *Thielaviopsis basicola* ou de *Phytophthora cinnamomi* ou de *Phytophthora infestans* ou de *Pythium splendens* ou de *Pythium ultimum* ou de *Rhizoctonia solani* ou de *Streptomyces scabies* ou de *Plasmodiophora brassicae* ou de *Ralstonia solanacearum* ou de *Pseudomonas solanacearum* [96, 120, 207, 229].

La résistance d'un sol suppressif, considérée comme non transmissible est liée à la biomasse microbienne totale autochtone tellurique, qui entre en compétition avec les pathogènes nuisibles outre la composante microbienne antagonistes. L'activité de la biomasse tellurique est souvent stimulée par le type de cultures, la conduite culturale incluant la quantité et la qualité de fertilisants appliquée ainsi que les travaux du sol [196].

La résistance constitutive est conditionnée par un environnement biologique et physico-chimique défavorable dans lequel le pathogène ne peut pas s'exprimer, même s'il est autochtone ou se développer s'il est introduit. La résistance acquise peut s'observer dans un sol initialement permessif, progressivement avec la même culture " monoculture"[28].

La résistance à long terme, après plusieurs décennies de suite dans un sol contaminé où l'agent pathogène peut s'établir mais ne provoque pas la maladie; il s'agit d'une résistance liée fortement à la stabilité des propriétés physico-chimiques et biologiques de ce sol [230]. Contrairement, la résistance à court terme s'observe uniquement pendant quelques cycles végétatifs seulement. Ce phénomène est le résultat d'un changement exogène rapide dans l'environnement physique, chimique et/ou biologique du sol (introduction des antagonistes, matière organique, engrais...). Les techniques culturales jouent également un rôle important dans l'installation d'une fraction particulière de la flore antagoniste; ainsi le déclin du piétin échaudage n'a pas lieu dans les champs non labourés et semés directement sur chaumes [226]. Les rotations de cultures sont les plus anciennes

mesures de lutte préventive contre les agents pathogènes, ayant pour effet la suppression des débris contaminés et des substrats favorables aux pathogènes, pour éviter l'accumulation de leur inoculum [230].

### 3.2. Origines de la résistance :

Une maladie d'origine tellurique est conditionnée par trois facteurs principaux : la plante hôte, le parasite et le sol. Le pouvoir pathogène du parasite peut être modifié par un ensemble de facteurs liés à l'environnement physico-chimique du sol qui agit sur le parasite lui-même ou sur la plante; à cet égard les sols suppressifs aux flétrissements fusariens causé par *Fusarium oxysporum*, ont été liés à l'influence des propriétés physiques et chimiques du sol (abiotique) [58, 198], et/ou de la microflore du sol (biotique) [231].

#### 3.2.1. Origine abiotique :

Certes, la suppression du sol est due à la balance microbienne totale et ses activités antagonistes [232], cependant l'explication des mécanismes mis en œuvre dans cette résistance est liée aux propriétés abiotiques du sol [37]. Dans de nombreuses études sur la réceptivité des sols aux maladies fongiques, il a été clairement mis en évidence le rôle de la structure et de la texture du sol, de l'humidité, du pH, de la matière organique et des oligo-éléments. Les agents fongiques concernés sont, entre autre, de ces maladies sont: *Aphanomyces* sp, *Fusarium*, *Geomanomyces*, *Phytophthora*, *Plasmodiophara*, *Rhizoctonia*, *sclerotium* sp, *Streptomyces scabies*, *Thielaviopsis basicola* et *Verticillium* sp. Ces facteurs ne sont pas la cause directe de la résistance mais ont tendance à créer un milieu défavorable pour la croissance, l'activité, la densité des agents pathogènes et pour la physiologie de la plante en lui conférant une résistance plus ou moins importante [198].

L'effet de la proportion et le type d'argile dans le sol sur la sévérité de la fusariose sont le plus souvent cités [196]. Walker [44], a montré que les fusariose du pois et du bananier sont plus sévères dans les sols sableux. La propriété suppressif des sols, serait d'après Semal [57], Cook et Baker [120] liée à la présence d'une teneur élevée en montmorillonite. Amir et Alabouvette [198] ont noté qu'après 225 jours de l'apport de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* dans un sol sableux, on ne retrouve que 0,4 % de la

population initiale, alors qu'il en subsiste 46 % dans le même sol enrichi en montmorillonite.

L'effet bénéfique de l'argile peut s'expliquer par sa capacité de stimuler l'activité bactérienne qui freine ou élimine le développement des *Fusarium* pathogènes, l'accumulation des éléments nutritifs à l'interface des feuillets fournit des sites d'échanges pour l'azote ionique et relève le pH à un niveau favorable à la multiplication bactérienne [233]. L'argile peut aussi améliorer la résistance à la dessiccation en assurant une déshydratation plus régulière du contenu cellulaire et de diminuer la diffusion et les effets inhibiteurs des toxines et des antibiotiques en les absorbant [85].

Plusieurs cas d'induction de résistance ont été relatés, les uns font intervenir quelque oligo-éléments (Fe, Zn, Mg,), l'autres sont fondés sur l'influence favorable du Ca et du Br [231]. La variation du pH influence significativement le niveau de résistance des sols, le déclin du flétrissement fusarien a été associé à un pH alcalin [43, 227, 228], qui a affecté la disponibilité en fer, en calcium, et en aluminium [214]. La faible disponibilité du Fe, du Mn, et du Zn dans le sol alcalin a permis d'expliquer la faible incidence de la fusariose vasculaire du lin et de la tomate dans les sols chaulés ou naturellement alcalins [238]. Ces oligoéléments stimulent la synthèse de 2-4 diacétylphloroglucinol et pyoverdine chez les *Pseudomonas* spp. fluorescent et inhibe la synthèse de l'acide fusarique chez *Fusarium oxysporum* pathogène [134].

### 3.2.2 Origine biotique :

Bien que la nature biologique des sols suppressifs aux fusarioses présente naturellement, mais ce type de résistance ne se trouve que dans quelques zones géographiques limitée, comme la région du Chateaufort ( France) et dans la vallée du Rhône et les îles Canaries [54, 69, 197]. Dans ces sols les mécanismes de résistance aux fusarioses vasculaires ont été souvent attribués à leur nature biologique (antagonistes microbiens). Depuis les premiers travaux de recherches, durant les années 1970, plusieurs autres travaux ont signalé l'existence des sols similaires dans d'autres régions du monde [43, 80, 119]. Selon Weller [235], Weller *et al.*, [131] la détection de sols suppressifs ou résistants, nécessite de vérifier les étapes de stratégie suivante :

- Si les traitements biocides (chaleur humide, radiations, antibiotique) appliqués détruisent cette résistance corrélativement à une forte diminution des populations microbiennes impliquées, la résistance peut être directement liée à l'activité microbienne du sol [43].
- Les agents microbiens, responsables du caractère suppressif du sol doivent inhiber *in vitro* fortement l'agent pathogène et confèrent ce caractère au substrat naturellement sensible après leur introduction.
- L'effet suppressif d'un sol traité par la chaleur peut être restauré par l'addition d'une petite quantité de sol suppressif (0,7 à 10 %) [43]. Weller [235] a montré que le développement de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cyclaminis* pourrait être freiné lorsque l'on incorporait à la tourbe, utilisée comme substrat de culture de l'œillet, 10 % d'une terre résistant à la fusariose du melon.
- Comme le phénomène de la résistance des sols aux maladies est le plus souvent la conséquence d'une activité microbienne intense et particulière, des caractérisations phénotypiques et génotypiques sont nécessaires pour identifier les groupements bactériens fonctionnels.

Beaucoup d'expérimentations ont montré que l'introduction simultanée de souches non pathogène sélectionnés de *Fusarium oxysporum* et de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans des sols conducteurs ou sur des substrats de culture augmente leur niveau de résistance [180, 213]. Globalement cette co-inoculation, utilisant différents types d'antagonistes, permettra la mise en action de divers mécanismes englobant à la fois, l'antagoniste par voie d'antibiose et la compétition pour l'espace et les nutriments.

Il a été démontré que des phénomènes de compétitions nutritives pour le fer conditionnent le niveau de la résistance des sols aux fusarioses vasculaires [20, 95], dans lequel les *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent des sidérophores. L'introduction de substances nutritives stimulent la croissance des microorganismes antagonistes qui entrent en compétition pour ces substances avec l'agent pathogène, entraînant un renforcement de la fongistase. L'addition de certains amendements aux sols suppressifs diminue l'intensité de la compétition et accroît la réceptivité du sol aux maladies [7].

Nom du document : CHAPITRE 3  
Répertoire : C:\Documents and Settings\Administrateur\Mes documents\Ben  
said  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : CHAPITRE 3 : SOLS RESISTANTS  
Sujet :  
Auteur : MESSAOUD  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 07/09/2006 12:42:00  
N° de révision : 4  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 12:54:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition :6 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:14:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 5  
Nombre de mots : 1 706 (approx.)  
Nombre de caractères : 9 384 (approx.)

## CHAPITRE 4

### MATERIELS ET METHODES

#### 4.1. Matériel biologique :

##### 4.1.1. Souches bactériennes :

Trois souches de *Pseudomonas fluorescens* ont été utilisées dans nos travaux expérimentaux (Tableau 4.1). Il s'agit de la souche S20, isolée localement qui a montré des aptitudes antagonistes dans des travaux précédents [106, 236] et deux souches de référence considérées comme modèles, dans les essais relatifs aux *Pseudomonas spp.* fluorescents: la souche de référence CHAO connue par ses performances en lutte microbiologique vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes, par sa compétence rhizosphérique et sa production de divers métabolites secondaires [197] et la souche C7R12, mutant de la souche C7 résistante à la rifampicine, connue par sa forte colonisation de la rhizosphère et sa capacité de biocontrôle de diverses maladies d'origine tellurique [217, 237, 238]. A partir de cultures conservées sur le milieu B de King KB [239] (APPENDICE A), des repiquages ont été réalisés sur le même milieu dans des boîtes de Pétri pour vérifier la pureté des souches; les cultures pures ont été conservées à 4 °C.

##### 4.1.2. Isolats cryptogamiques :

Le matériel fongique utilisé dans nos essais expérimentaux est composé de cinq isolats de *Fusarium oxysporum*; ils s'agit de quatre isolats phytopathogènes et de l'isolat FO47 non pathogène de *Fusarium oxysporum* (Tableau 4.2). Les isolats cryptogamiques sont :

- FOL (F) : *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* (isolé en France).
- FOL (B) : *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* (isolé en Algérie).
- Foln : *Fusarium oxysporum f.sp.lini* (isolé en France).
- Foal : *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (isolé en Algérie).

- FO47 : *Fusarium oxysporum* non pathogène (isolé en France).

**Tableau 4.1:** Souches bactériennes.

Souches de <i>Pseudomons fluorescens</i>	Origine végétale	Origine géographique	Année d'isolement	Observations
<b>S20</b>	Rhizosphère du palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)	2001	Collection microbienne du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida
<b>CHAO</b>	Rhizosphère du tabac	Suisse	1986	Envoi du Pr.K. Keel (laboratoire de phytomédecine, Zurich, Suisse).
<b>C7R12*</b>	Rhizosphère du lin	Châteaurenard, France	1988	Envoi du Pr. Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon- France.

\* il s'agit d'un mutant résistant à la rifampicine de la souche C7 (100µg /l).

**Tableau 4.2 :** isolats cryptogamiques.

Isolats cryptogamiques	Plante hôte	Origine géographique	Observations
<b>FOL(F)</b>	Tomate	Dijon (France)	Envoi du Pr. Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon- France.
<b>FOL(B)</b>	Tomate	Blida (Algérie)	Collection microbienne du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida
<b>Foln</b>	Lin	Dijon (France)	Envoi du Pr. Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon- France.
<b>Foal</b>	Palmier dattier	Ghardaïa (Algérie)	Collection microbienne du laboratoire de phytopathologie de l'université de Blida
<b>FO47</b>	Sol suppressif à la fusariose	Dijon (France)	Envoi du Pr. Lemanceau laboratoire de microbiologie et géochimie du sol (INRA) Dijon- France.

Les isolats phytopathogènes utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir de plantes malades, ils se caractérisent par un pouvoir pathogène élevé en interaction avec plusieurs cultivars du lin et de la tomate [106, 240 , 241]. L'isolat FO47 non pathogène de *Fusarium*

*oxysporum* a été isolé à partir d'un sol suppressif français [232], son efficacité dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire à été démontrée dans de nombreux travaux [70, 98, 217]. La pureté des isolats fongiques à été vérifiée par des cultures monosporiques obtenues sur le milieu eau agar (Annexe 1) et repiqués individuellement sur le milieu PDA "potato dextrose agar" [242]. A partir de cette culture, des inoculum fongiques ont été préparés avec des cultures âgées de 7 à 10 jours cultivés sur le milieu PDA à 25°C.

#### 4.1.3. Matériel végétal :

Les essais d'application des interactions (antagonistes- pathogènes) ont été effectués avec les deux espèces végétales lin et tomate : le lin (*Linum usitatissimum* var. *opaline*), est choisie sur la base de sa sensibilité à *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini* et sa durée de végétation [82, 202]; les deux variétés de la tomate (*Lycopersicon esculentum* "riograndé" et "marmande" ont été choisies pour leur sensibilité à *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Les graines de ces trois variétés ont été désinfectées par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 6° pendant 20 mn, puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile et séchées sur papiers filtre absorbant.

#### 4.1.4. Le sol :

Le sol utilisé dans les essais d'antagonisme *in situ* ont été prélevés au niveau de la station expérimentale de l'université de Blida (Département d'Agronomie). Après séchage et tamisage (4 mm de diamètre) afin d'éliminer les éléments grossiers, le sol a été utilisé naturellement (avec sa flore indigène) ou après sa désinfection par autoclavage (deux autoclavages à 120°C pendant 30 mn chacun de 24 heures d'intervalle). Les caractéristiques physicochimiques du sol ont été étudiées durant l'année 2005 au niveau du laboratoire de pédologie du département d'Agronomie de l'Université de Blida (Tableau 4.3).

**Tableau 4.3** : caractéristiques physicochimiques du sol

Caractéristiques	
pH <sub>eau</sub>	6.9
pH <sub>KCL</sub>	6.7
K <sup>+</sup>	0.63 %
Na <sup>+</sup>	2.63 %
Ca <sup>+2</sup> + Mg <sup>+2</sup>	6.36 %
S <sup>+</sup>	9.65 %
C.E	0.44
C.E.C (meq /100g de sol	12.5
V (taux de saturation)	77.2
P <sup>2</sup> O <sup>5</sup> assimilable (ppm)	189.33
Ca CO <sub>3</sub>	0
Matière organique	1.89
H <sub>cc</sub> (humidité pondérale à la capacité au champ)	10.45
Argile	16.36 %
L	24.12 %
LG	16.26 %
SF	14.28 %
SG	28.98 %

Dans la troisième partie de notre expérimentation, relative aux essais de la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire du lin et de la tomate, en plus du sol provenant de la station expérimentale de notre université, nous avons utilisé deux autres sols provenant de deux régions à vocation maraîchère situées dans les régions de Bouharoun et de Cherrhell (Tipaza), cultivées depuis plus de 10 ans consécutives en tomate. Dans le site de Bouharoun, la tomate est conduite sous abris plastiques, alors que celui de Cherrhell la culture est en plein champs. Selon les propriétaires de ces terres, des symptômes typiques de fusariose vasculaire sont signalés chaque année. Afin de confirmer la présence de cette maladie des isolements microbiologiques ont été effectués ont montré la présence de l'agent pathogène dans ces deux sols.

#### 4.1.5. Conditions de plantation et de culture :

Notre expérimentation a été réalisée à la station expérimentale du département d'agronomie de l'université de Blida, sous serre en verre à Charpente métallique, d'une hauteur de 4.5 mètres et de dimensions de (17.5 m × 22.5 m). L'aération est assurée par des fenêtres latérales et chauffée par des radiateurs à chauffage central.

Les conteneurs utilisés sont de trois types :

- Des pots de couleur blanche en plastique de 10 cm de hauteur et de 6.5 cm de diamètre d'une contenance de 200 g.
- Des bacs en plastiques rectangulaires et transparents d'une profondeur de 10 cm, de dimensions de (136 cm × 14 cm) et d'une contenance de 5 Kg.
- Des cagettes rectangulaires en plastique, d'une profondeur de 18 cm, de dimensions de (50 cm × 30 cm) et d'une contenance de 6 Kg.

#### 4.2. Antagonisme *in vitro* :

Ce test consiste en la vérification des activités antagonistes *in vitro* des microorganismes antagonistes sélectionnés vis-à-vis des agents phytopathogènes étudiés.

##### 4.2.1. Inhibition de la croissance mycélienne :

Le pouvoir antagoniste des souches S20, CHAO et FO47 sur l'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes a été testé sur trois milieux gélosés : le milieu PDA favorable au développement des champignons, le milieu KB favorable au développement des bactéries et le milieu mixte composé de parts égales des deux premiers milieux (KB + PDA). Au début, des tests préliminaires ont été réalisés sur la croissance mycélienne, sur la germination des conidies et sur l'élongation des tubes germinatifs pour détecter d'éventuelles activités antagonistes. Il s'agit de placer dans la même boîte de Pétri 5 pastilles gélosées (5 mm de diamètre), l'une portant le pathogène au centre de la boîte et les autres portant l'antagoniste (FO47, S20 ou CHAO) à la périphérie. Les pastilles gélosées des bactéries sont préparées à partir de cultures de 24 heures, alors que celle des champignons ont été préparées à partir de cultures âgés de 7 à 10 jours. Pour chaque interaction, trois répétitions sont prévues. Au terme de la période d'incubation, 8 à 10 jours à 25 °C, les diamètres des colonies fongiques sont mesurés en prenant en compte le diamètre des zones d'inhibition formées à la limite du développement entre le pathogène et l'antagoniste.

##### 4.2.2. Inhibition du pathogène dans le sol :

L'objectif de cet essai est de tester l'effet des agents antagonistes sur le développement des agents pathogènes dans le sol. A cet effet, des confrontations ont été effectuées dans des

boites de Pétri en verre (antagoniste - pathogène) contenant 100 g de sol stérilisé au préalable par autoclavage. Les inoculums bactériens, d'une concentration de  $10^5$  cfu /ml, ont été préparés dans de l'eau distillée stérile à partir de cultures bactériennes de 24 h cultivées sur le milieu KB. Les inoculums fongiques, d'une concentration de  $10^5$  conidies /ml, ont été préparés à partir de cultures de 7 à 10 jours cultivées sur le milieu PDA.

Dans chaque boite, les 100g de sol sont imprégnés avec la suspension antagoniste CHAO, S20 ou FO47 est mélangé, en masse, avec 15 ml du milieu gélosé PDA en surfusion (45-50°C) en additionnant la suspension fongique pathogène FOL(F) ou FOL(B) ou (Falb) ou (Foln) après une légère agitation en mouvements circulaires pour homogénéiser la répartition dans le milieu, l'inoculation a été effectuée à 25 °C pendant 15 à 20 jours. Il est à noter que les inoculations pathogènes et antagonistes ont été apportés à la même concentration dans le sol, soit  $10^5$  cfu ou conidies par gramme de sol.

Les témoins, traités selon la même procédure, sont :

- Le témoin positif, représenté par des boites où le sol a été inoculé seulement avec l'agent pathogène.
- Le témoin négatif où les apports ont été remplacés selon les mêmes volumes avec de l'eau distillée stérile.
- Le troisième témoin où le sol a été inoculé uniquement avec l'antagoniste pour observer le développement de ce dernier.

Chaque traitement a été répété trois fois et incubé de 15 à 20 jours à 25°C. La lecture des résultats s'effectue selon le développement des témoins positifs, correspondant au développement optimal du pathogène en question.

Dans ces essais, nous avons étudié deux variantes :

- La première consiste à inoculer le sol avec l'antagoniste et le pathogène; ceci dans le but de permettre à l'antagoniste de s'adapter et d'initier sa croissance et ses activités métaboliques.
- Dans la deuxième variante, nous avons effectué des traitements où l'antagoniste est représenté par une combinaison de deux ou de trois souches antagonistes; comme suit : CHAO+ S20, CHAO+ FO47, S20 + FO47 ou CHAO+S20 + FO47.

La lecture des résultats s'est basée sur le développement du pathogène à travers des observations macroscopiques et micromorphologiques du pathogène; il s'agit de noter la densité mycélienne et la formation des fructifications.

#### 4.3. Antagonisme *in situ* :

Les essais d'antagonisme *in situ* ont été effectués avec les souches S20 et CHAO de *Psudomonas fluorescens* et l'isolat non pathogène F047 de *Fusarium oxysporum* vis-à-vis des pathogènes *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* FOL(F) agent du flétrissement fusarien de la tomate et de *Fusarium oxysporum* f.sp *lini* Folin agent du flétrissement fusarien du lin. Ces essais ont été réalisés en interaction avec les plantes hôtes des pathogènes, à savoir la tomate (variété riograndé) et le lin (variété opaline).

##### 4.3.1. Application des antagonistes et infestation du sol :

L'inoculation des graines de tomate ou de lin, préalablement désinfectés (cf.4.1.3), a été effectuée par trempage dans une suspension de l'antagoniste préparée selon les mêmes techniques précédentes (cf.4.2.2) , pendant 20 mn à la concentration de  $10^8$  conidies ou cfu /g de sol. Après application de/ou des antagonistes (s), Les graines ont été semés dans des pots contenant 160 g de sol, et infestés par le ou les pathogènes ( $10^8$  conidie /g de sol 24 h après le semis.

##### 4.3.2 Dispositif expérimental :

Les essais ont été conduits selon un dispositif expérimental en blocs aléatoires complets avec trois répétitions (Figures 4.1 et 4.2). Dans chaque bloc figure les dix traitements étudiés avec cinq plants par bloc, soit 15 plants par traitement. Il est à noter que le dispositif a été adopté pour chaque culture (tomate ou lin), que ce soit pour les essais réalisés en sol naturel ou ceux réalisés en sol désinfecté. Au total nous avons réalisé quatre essais indépendants :

- Essai d'antagonisme *in situ* avec la tomate en sol naturel.
- Essai d'antagonisme *in situ* avec la tomate en sol désinfecté.

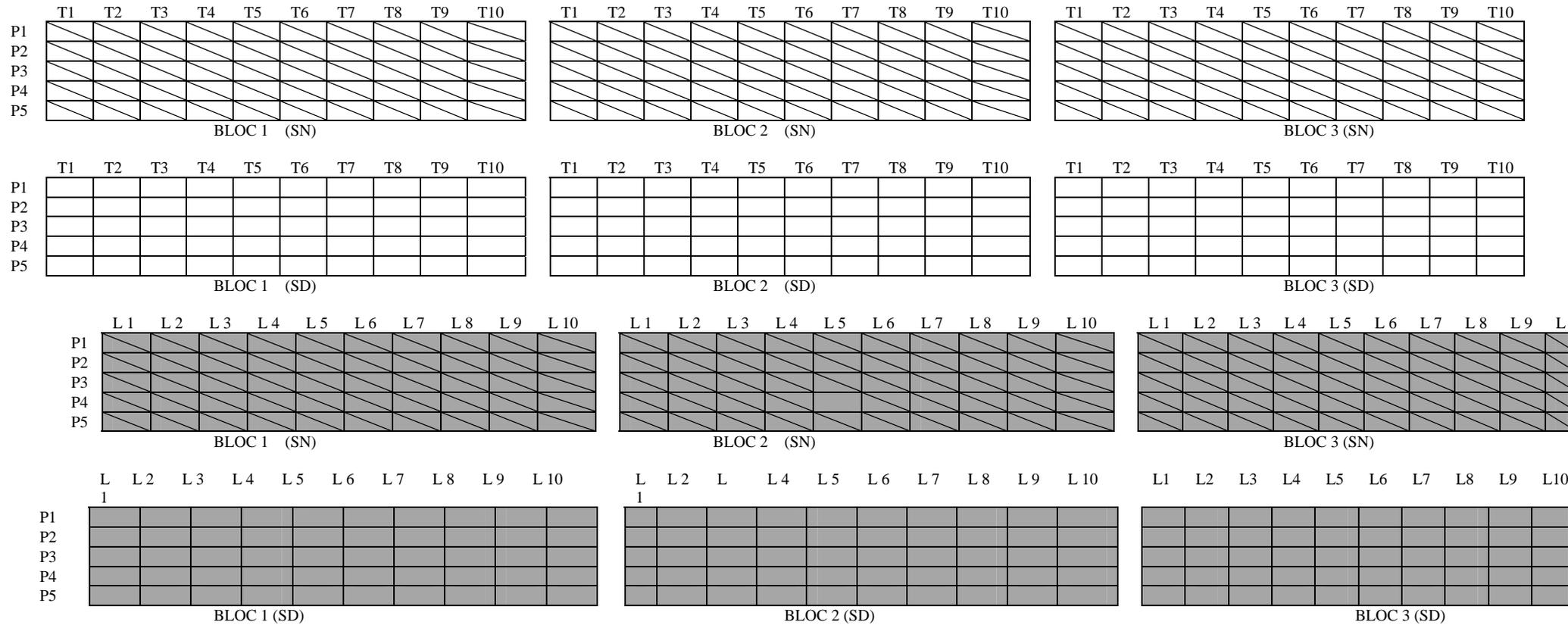
- Essai d'antagonisme *in situ* avec le lin en sol naturel.
- Essai d'antagonisme *in situ* avec le lin en sol désinfecté

Les traitements en question sont (Figure 4.2) :

- **T (-)** : Témoin négatif (sain) : plants inoculés avec l'eau distillée stérile.
- **T (+)** : Témoin positif (malade) : plants inoculés avec le pathogène FOL (F) ou (Foln).
- **T1 ou L1** : Plants bactérisés par les souches S20
- **T2 ou L2** : Plants bactérisés par les souches CHAO
- **T3 ou L3** : Plants bactérisés par la souche S20 et infestés par le pathogène FOL(F) ou (Foln).
- **T4 ou L4** : Plants bactérisés par la souche CHAO et infestés par le pathogène FOL(F) ou (Foln).
- **T5 ou L5** : Plants bactérisés par la souche FO47 et infestés par le pathogène FOL (F) ou (Foln).
- **T6 ou L6** : Plants bactérisés par la combinaison (CHAO + FO47) et infestés par le Pathogène FOL(F) ou (Foln).
- **T7 ou L7** : Plants bactérisés par la combinaison (S20+ FO47) et infestés par le pathogène FOL(F) ou (Foln).
- **T8 ou L8** : Plants bactérisés par la combinaison (S20+CHAO + FO47) et infestés par le pathogène FOL(F) ou (Foln).



**Figure 4.1** : Dispositifs expérimentaux des essais



**Tomate**

- T1 : T- = témoin sain
- T2 : S20
- T3 : CHAO
- T4 : T+ = FOL
- T5 : S20+ FOL
- T6 : CHAO + FOL
- T7 : Fo47+ FOL
- T8 : CHAO + FO47 + FOL
- T9 : S20 + FO47 + FOL
- T10 : S20 + CHAO + FO47 + FOL

**Lin**

- L1 : T0 = témoin sain
- L2 : S20
- L3 : CHAO (F)
- L4 : T+ = FOIn
- L5 : S20+ FOIn
- L6 : CHAO + FOIn
- L7 : Fo47+ FOIn
- L8 : CHAO + FO47 + FOIn
- L9 : S20 + FO47 + FOIn
- L10 : S20 + CHAO + FO47 + FOIn

**Figure 4. 2:** Dispositifs expérimentaux des essais d'antagonisme *in situ* (essais de lin, de tomate, en sol naturel et en sol désinfecté). (SN = sol naturel; SD= sol désinfecté)

#### 4-3-3 Paramètres analysés :

Pendant une période de 70 jours avec des notations quotidiennes, les observations ont porté sur le développement et l'extériorisation des symptômes typiques des fusarioses vasculaires étudiés (Figures 4.3 et 4.4) selon des échelles adoptées [106].

#### **Fusariose vasculaire de la tomate :**

0. pas de symptômes.
1. Jaunissement de quelques ou plusieurs feuilles.
2. Jaunissement généralisé.
3. Flétrissement latéral.
4. Mortalité du plant.



**Figure : 4.3 :** Symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate

#### **Fusariose vasculaire du lin :**

0. pas de symptômes.
1. Jaunissement de quelques feuilles.
2. Flétrissement du plant.
3. Dessèchement de la partie apicale.
4. Mortalité du plant.



**Figure 4.4 :** Déformation du lin en arc "Shepherd's crook" (Symptôme typique de la fusariose vasculaire du lin).

Le suivi de l'évolution de la maladie est basé sur deux paramètres :

Le taux d'infection (I %) qui correspond au pourcentage des plants malades.

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

I (%) : Taux d'infection (en pourcentage).

De plus la gravité de la maladie est prise comme critère pour évaluer la sévérité des attaques des pathogènes. Selon la formule décrite par Fuch *et al.*, [25], la gravité (S %) a été calculée comme suit :

$$S (\%) = \Sigma (E .a / N) 100.$$

S (%) : Sévérité de la maladie exprimée en pourcentage.

N : nombre total de plants observés.

T : valeur du degré le plus haut (4) de l'échelle.

E : classe de symptôme qui varie de 0 à 4 selon l'échelle.

A : nombre de plants malades à la classe considérée.

À la fin des notations, le poids frais et sec des parties aériennes ont été évalués après passage à l'étuve à 105 °C (48 à 36 h).

#### 4.4. Induction systémique de la résistance des plantes :

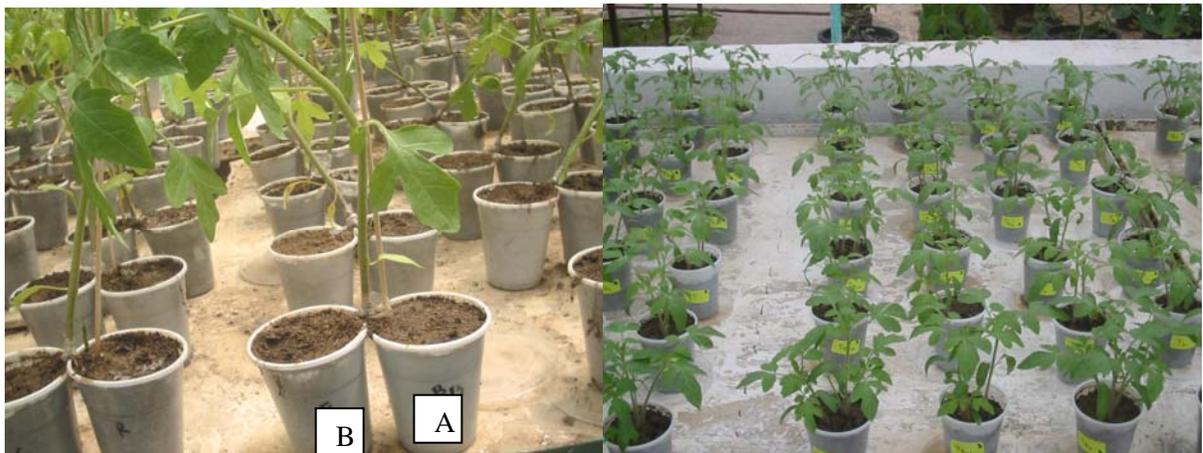
##### 4.4.1. Conduite des cultures :

Ces essais ont été réalisés selon le protocole expérimentale décrit par Liu *et al.*, [137] et Leeman *et al.*, [150] et adopté dans plusieurs travaux similaires [25, 95, 106, 236]. Ce dispositif consiste en la conduite des plants selon le système "split" dont le principe se base sur l'application séparée de l'antagoniste et du pathogène (pas de contact physique entre les deux protagonistes) (Figure 4. 5). Au stade plantule (30 jours après le semis), les plants sont déposés soigneusement; tout en éliminant le sol y adhérent, et une incision est pratiquée au niveau de la partie basale du collet à la jonction racinaire, pour obtenir deux blocs racinaires séparés; chaque partie est ainsi replantée dans un pot individuel. L'endroit de l'incision a été recouvert par un parafilm et les plants sont déposés sous serre en verre. Ce système split ne permet aucun contact physique entre l'antagoniste et le pathogène, alors que leurs actions respectives s'exercent sur le même plant. Afin de comparer les activités de nos microorganismes, nous

avons réalisés des essais similaires selon le système classique "non split" adopté précédemment dans les essais d'antagonisme *in situ* (cf.4.3.1).

#### 4.4.2. Inoculation des antagonistes et infestation du sol :

Les inoculum bactériens et fongiques ont été préparés selon les mêmes techniques utilisées (cf. 4.3). Dans le système split, l'inoculum du pathogène a été introduit 24 h après celui de l'antagoniste à la même densité ( $10^6$  cfu ou conidies /g de sol) dans les parties racinaires concernées, c'est-à-dire le pot A ou B (Figure 4.5). Dans le système classique, les inoculum ont été effectués simultanément sur le même plant. Les témoins ont été traités selon la même procédure avec de l'eau distillée stérile.



**Split**

**Non split**

**Figure 4.5 :** Conduite des plants de tomate en système Split ou non Split

#### 4.4.3. Dispositif expérimental :

Le dispositif expérimental adopté est un dispositif en trois blocs aléatoires complets, composé de huit traitements à raison de six plants par traitement et par bloc, soit 18 plants par traitement (Figure 4.6). Les traitements en question sont :

- T (-) : Témoin négatif (sain); plants inoculés avec l'eau distillée stérile.
- T (+) : Témoin positif (malade); plants inoculés avec le pathogène FOL (F).
- T1 : plants bactérisés avec la souche S20 et infestés avec le pathogène FOL (F).
- T2 : plants bactérisés avec la CHAO et infestés avec le pathogène FOL(F).
- T3 : plants inoculés avec la souche FO47 et infestés avec le pathogène FOL(F).
- T4 : plants bactérisés avec la souche S20 et inoculés avec l'eau distillée stérile
- T5 : plants bactérisés avec la souche CHAO et inoculés avec l'eau distillée stérile
- T6 : plants traités par la souche FO47 et inoculés avec l'eau distillée stérile



**Figure 4.6** : Dispositif expérimental de l'essai l'ISR

#### 4.4.4. Paramètres analysés :

##### 4.4.4.1. Evolution de la maladie :

Des observations quotidiennes des symptômes ont commencé après 24 h de l'application des inoculums pathogènes et antagonistes durant une période de deux mois. Les observations portent sur la notation des indices symptomatologiques définis au préalable (cf. 4.3.3) pour évaluer les taux d'infection et de sévérité selon les formules déjà utilisées.

##### 4.4.4.2. Paramètres de croissance :

Au terme de l'expérience, les plants sont dépotés, les racines sont lavées pour les débarrasser du substrat y adhérant afin de mesurer leur longueur. Le poids frais et le poids sec de la biomasse aérienne de chaque plant sont ensuite déterminés (cf.4.3.3).

##### 4.4.4.3. Dosage des protéines totales :

Dans les travaux relatifs à l'ISR, il a été souvent rapporté que les paramètres recherchés de cette activation du système de défense de la plante concernent les protéines totales et d'autres enzymes spécifiques [150]. A cet effet, nous avons procédé à l'évaluation du taux des protéines totales dans les extraits foliaires des plants traités. Le dosage des protéines totales a été réalisé selon la technique de Warburg et Christian [243] avec des extraits foliaires obtenus à partir de feuilles traitées 23 jours après leur inoculation. Des échantillons foliaires (1g) sont broyés à froid, sur un lit de glaçons, en présence d'une pincée de sable stérile additionné de 5 ml d'acétate d'éthyle. L'extrait foliaire a subi une centrifugation à (6000 tours / mn à 4 °C) pendant 20 mn. La lecture de l'absorbance a été réalisée avec les surnageants obtenus aux longueurs d'onde A280 et A260. La concentration des protéines est calculée comme suit :

$$\text{Protéines (mg /ml)} = 1.5 A_{280} - 0.76A_{260}.$$

##### 4.4.4.4. Vérification de la présence des agents microbiens :

A la fin de nos expérimentations, des prélèvements des parties racinaires ont été utilisés pour vérifier la présence des microorganismes appliqués (l'antagoniste et le pathogène). A cet effet, des parties racinaires prélevées et débaracées du sol adhérant, ont été

découpés à partir du collet et déposés sur les milieux nutritifs gélosés (PDA ou KB) et laissés en incubation à 25°C. Le développement des bactéries et des champignons a été observé après respectivement, 24 h et sept jours d'incubation.

#### 4.5. Réceptivité du sol à *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* FOL (F) :

Les essais de la réceptivité du sol à *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* consistent en la mise en évidence du développement de la tomate dans des conditions expérimentales variées. Les variations portent sur le type du sol (sol naturel et désinfecté), l'introduction de ou des antagoniste(s), et l'amendement du sol avec du glucose et ou de l'EDTA.

##### 4.5.1. Sol désinfecté :

Le sol provient de la station expérimentale de l'université de Blida, prélevé au niveau du verger agrumicole; sa désinfection a été réalisée par autoclavage (cf.4.1.4) pour éliminer l'effet de la microflore indigène.

##### 4.5.1.1. Essai de vérification de la réceptivité du sol :

Cet essai consiste à infester le sol désinfecté par des concentrations croissantes du pathogène  $10^3$ ,  $10^5$ ,  $10^7$  conidies /g de sol, pour évaluer son niveau de réceptivité au pathogène via l'expression de la maladie.

##### 4.5.1.2. Modulation de la réceptivité :

Pour évaluer le niveau de la réceptivité de ce sol à FOL(F) introduit initialement dans le sol, 24 h avant les antagonistes, nous avons effectué des modifications microbiologiques en inoculant le sol avec le ou les antagonistes (s) S20, CHAO et/ou l'isolat FO47 à la même concentration finale de  $10^7$  cfu ou conidies /g de sol.

##### 4.5.1.3. Amendement du sol en glucose et en EDTA :

Ce test consiste à étudier l'effet d'additif du glucose ou de l'EDTA sur la réceptivité du sol à FOL(F) en plus des apports microbiens (pathogène et/ou antagoniste), réalisés selon la même procédure précédente (c.f.4.4.2), des apports en glucose ou en EDTA ont été appliqués à la concentration de 50 µg /g de sol 24 h après l'inoculation des microorganismes. Le glucose,

source de carbone, stimule le pathogène alors que l'EDTA chélateur de fer, stimule l'activité bactérienne par le biais de la synthèse des siderophores.

#### 4.5.1.4. Semis :

Selon les traitements adoptés, décrits ci-dessous, le sol a été conditionné dans des bacs de 5 Kg dans lequel ont été semis 60 graines de tomate.

#### 4.5.1.5. Dispositifs expérimentaux :

Dans chaque essai, un dispositif en randomisation total a été adopté avec trois répétitions pour chaque traitement. Chaque traitement, représenté par 20 plants / répétition, soit 60 plants pour chaque traitement.

- Pour le 1<sup>er</sup> essai: interaction de deux facteurs
  - **Facteur 1:** concentration du pathogène avec trois niveaux
    - $10^3$  conidies /g de sol
    - $10^5$  conidies /g de sol
    - $10^7$  conidies /g de sol
  - **Facteur 2:** antagoniste avec sept niveaux
    - Souche S20 de *Pseudomonas fluorescens*.
    - Souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens*.
    - Souche FO47 de *Fusarium oxysporum*.
    - La combinaison S20 + CHAO.
    - La combinaison S20 + FO47
    - La combinaison FO47 + CHAO.
    - La combinaison S20 + CHAO + FO47.
- Pour le 2<sup>ème</sup> essai: amendement du sol en glucose ou en EDTA, composé de trois facteurs :
  - **Facteur 1:** concentration du pathogène selon trois niveaux
    - $10^3$  conidies /g de sol
    - $10^5$  conidies /g de sol

- $10^7$  conidies /g de sol
- **Facteur 2:** application des amendements
  - Glucose
  - EDTA
  - Sol non amendé
- **Facteur 3:** antagonistes
  - Souche S20 de *Pseudomonas fluorescens*.
  - Souche CHAO de *Pseudomonas fluorescens*.
  - Souche FO47 de *Fusarium oxysporum*.



**Figure 4.7 :** Dispositif expérimental de l'essai de réceptivité du sol à la fusariose

Les différents traitements étudiés ont été reportés selon un dispositif expérimental en trois blocs aléatoires avec 10 répétitions pour chaque traitement (Figure 5.7). L'essai représente la combinaison de quatre facteurs :

- **1<sup>er</sup> facteur** : Représenté par six niveaux correspondant à l'application des antagonistes individuellement ou en association.
- **2<sup>ème</sup> facteur** : les variations de ce facteur porte sur la concentration de l'inoculum fongique qui sont de 0,  $10^3$ ,  $10^5$ ,  $10^7$  conidies /g de sol.
- Dans le **3<sup>ème</sup>** et le **4<sup>ème</sup>** **facteurs** nous avons effectué des modifications dans les apports en fer et en glucose, selon deux niveaux pour chacun (absence ou présence a la concentration de 50 µg /g de sol).

#### 4.5.2. Sol naturel :

Ces essais ont été réalisés avec les sols provenant des régions de Chersell (C) et de Bouharoun (B) (cf.4.1.4 ).

##### 4.5.2.1. Confirmations de la réceptivité du sol :

Cet essai consiste à infester le sol naturel désinfecté par la souche pathogène FOL(F) ( $10^7$  conidies /g de sol) pour évaluer le niveau de la réceptivité au pathogène.

##### 4.5.2.2. Modulation de la réceptivité :

Pour évaluer le niveau de la réceptivité de ce sol à FOL(F), nous avons effectué des modifications microbiologiques en l'inoculant avec l'antagonistes C7R12 *Pseudomonas fluorescens* et/ou l'isolat FO47 à la même concentration finale de  $10^7$  cfu ou conidies /g de sol 24 h après son infestation par FOL(F).

##### 4.5.2.3. Dispositifs expérimentaux :

Dans chaque essai, un dispositif en randomisation totale a été adopté avec quatre répétitions pour chaque traitement. Chaque traitement est représenté par 15 plants / répétition, soit 60 plants au total. Les deux facteurs étudiés sont:

- **Facteur 1:** antagoniste avec trois niveaux
  - Souche C7R12 de *Pseudomonas fluorescens*.
  - Souche FO47 de *Fusarium oxysporum*.
  - Combinaison FO47 + C7R12.

- **Facteur 2:** type du sol avec deux niveaux
  - sol de Cherchell Sol (C)
  - sol de Bouharoun sol (B)

#### 4.5.3. Paramètres étudiés :

##### 4.5.3.1. Expression de la maladie :

Le développement de la maladie et l'observation des symptômes typiques ont été suivis quotidiennement durant toute la période d'expérimentation. En utilisant la même procédure pour les essais d'antagonisme *in situ*, par l'estimation des taux d'infection et de sévérité de la maladie (cf.4.3.3).

##### 4.5.3.2. Dynamique de la souche C7R12 :

L'évolution de la souche C7R12 a été estimée, par dénombrement de la population bactérienne sur le milieu KB suivant la technique des suspensions dilutions. La souche C7R12 a été marquée par sa résistance à la rifampicine et sa densité a été déterminée dans les temps suivants :

P0 : au moment de l'inoculation des sols ( $10^7$  cfu /g de sol).

P1 : 37 jours après l'inoculation des sols.

P2 : 48 jours après l'inoculation des sols.

##### 4.5.3.3. Taux d'humidité du sol :

Vu l'importance du taux d'humidité du sol sur l'activité microbienne, nous avons jugé utile d'évaluer le taux d'humidité de notre sol. A cet effet des échantillons de sol ont été pesés avant et après leur passage à l'étuve à 105° C pendant 24 heures.

##### 4.5.3.4. Présence des agents microbiens :

Dans le but de confirmer la présence de l'agent fongique pathogène au niveau du sol, nous avons effectué des isollements microbiens à partir des échantillons de sol. Les observations microscopiques et macroscopiques des colonies microbiennes ont été effectuées après une semaine d'incubation à 30°C sur le milieu PDA.

#### 4.5.3.5. Paramètres de croissance et des protéines totales :

Les paramètres de croissance des plants ainsi que le taux des protéines total au niveau des feuilles ont été déterminés en utilisant les mêmes procédures utilisés précédemment (cf.4.4.4.3).

#### 4.5.3.6. Dosage de la chlorophylle :

La chlorophylle totale a été dosée selon la technique décrite par Tahri *et al.*, [244]; à partir de jeunes feuilles prélevés sur les tiers médians, un échantillon de 0.2 g broyé dans 15 ml d'acétone, le broyage est répété plusieurs fois afin d'extraire la totalité des pigments chlorophylliens. L'extrait obtenu a été conservé à 4°C à l'abri de la lumière pendant 24 heures, avant sa centrifugation (2500 tours /mn) pendant 5 mn. La densité optique de la totalité des surnagent obtenus est mesuré à 646.8 nm et 663.2 nm (spectrophotomètre Perkin Elmer 5UV). Les concentrations en chlorophylle totale (C) (exprimée en mg /g MF) sont données par la formule suivante :

$$C = 7.15 \times DO_{663.2} + 18.71 \times DO_{646.8} \times V/M$$

V : le volume de l'extrait total en litre

M : la masse de la matière fraîche en grammes

#### 4.5.3.7. Détermination des matières azotées totales (MAT) :

La teneur en azote a été dosée par la méthode de Kjeldahl [245], son principe consiste à analyser et chauffer dans l'acide sulfurique concentré en présence de différents catalyseurs, jusqu'à décoloration complète de la liqueur, l'azote se transforme qualitativement en sulfate d'ammonium NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, puis on procède à une distillation après passage en milieu alcalin de l'ammoniaque NH<sub>3</sub>; le distillat est recueilli dans une solution acide dont l'excès est déterminé par titrimétrie. L'expression qui donne la teneur en azote est la suivante :

$$\% \text{ azote (g /100 g)} = (0.0014 \times V \times 100 \times 200) / m \times 50.$$

V : Volume d'acide sulfurique 0.2 N utilisé pour doser (ml).

M : Masse de l'échantillon en gramme.

50 : Correspondant au volume de la prise d'essai du minéralisât.

200 : Correspondant à l'eau distillée ajoutée au minéralisât.

Nom du document : CHAPITRE 4  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : CHAPITRE 4  
Sujet :  
Auteur : MESSAOUD  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 08/09/2006 16:15:00  
N° de révision : 2  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 16:15:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition :2 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:15:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 20  
Nombre de mots : 5 024 (approx.)  
Nombre de caractères : 27 637 (approx.)

## CHAPITRE 5

### RESULTATS ET DISCUSSION

#### 5.1. Antagonisme in vitro :

Les résultats des tests préliminaires concernant les activités antagonistes des deux souches bactériennes de *Pseudomonas fluorescens* (S20, CHAO) et de l'isolat F047 non pathogène de *Fusarium oxysporum*, montrent des activités inhibitrices appréciables sur les trois milieux de culture à l'égard des quatre souches fongiques phytopathogènes: *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* FOL(F), *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* FOL(B), *Fusarium oxysporum* f.sp *lini* Folin et *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Foal) (Tableau 5.1, Figure5.1).

Lors de l'estimation des taux d'inhibitions de la croissance mycélienne des agents phytopatogènes, il a été constaté des intensités inhibitrices variables selon les souches antagonistes et selon les milieux de culture (Tableau 5.2). Comparativement aux croissances mycéliennes des témoins, les diamètres des souches phytopathogènes témoins en l'absence des antagonistes, sur les trois milieux confondus, sont de  $3,70 \pm 0,94$  cm pour (Folin),  $3,93 \pm 0,13$  cm pour (Foal),  $4,17 \pm 0,19$  cm pour FOL (F) et de  $4,25$  cm pour FOL(B).

L'analyse statistique des taux d'inhibition de la croissance mycélienne, selon le test de Student ( $\alpha = 5\%$  et  $1\%$ ), a révélé des différences significatives avec les milieux de culture, avec les agents phytopatogènes et non pas avec les antagonistes. En présence des souches antagonistes, nous avons constaté des régressions en croissance mycélienne induisant des taux d'inhibition relativement élevés. A l'exception de l'interaction S20-FOL(B) sur le milieu KB où il n'y a pas d'effet inhibiteur, les autres interactions ont montré des taux d'inhibition dans les trois milieux de culture, allant de  $8,51 \pm 0,76$  à  $80,49 \pm 0,92\%$  (Tableau 5.2). Concernant l'effet des milieux de culture, il a été noté une

différence significative dont le milieu PDA semble le plus favorable à l'isolat antagoniste fongique Fo47, alors que le milieu KB est plus favorable aux antagonistes bactériens S20 et CHAO. Globalement, la souche bactérienne CHAO a provoqué des taux d'inhibition remarquables surtout sur le milieu KB, à l'exemple de ses interactions avec FOL(F), FOL(B) et Foal où les taux d'inhibition ont dépassé le seuil de 60 %. Les interactions de la souche S20 avec FOL(F), Foin, et (Foal) ont provoqué des taux d'inhibition allant de  $22,45 \% \pm 1,82$  à  $33,02 \pm 0,78 \%$ , et aucune inhibition avec FOL(B) (Tableau 5.2). Sur les deux autres milieux PDA et le milieu mixte (M), les effets provoqués étant moindres par rapport au premier milieu (KB), mais les taux d'inhibition restent appréciables. Dans le cas de la souche CHAO, sur le milieu PDA les taux d'inhibitions varient de 33,07 à 62,38 %. Sur ce même milieu, la souche S20 a provoqué des inhibitions allant de  $8,95 \pm 0,39$  à  $30,26 \pm 7,52 \%$ . Sur le milieu mixte (M) ces deux souches bactériennes (S20 et CHAO) ont provoqué, respectivement, des taux d'inhibition allant de 0 à 41,18 % et de  $11,68 \pm 1,38$  à  $61,28 \pm 1,41 \%$ . Quant à l'isolat non pathogène Fo47 de *Fusarium oxysporum*, ses meilleures performances ont été enregistrées surtout sur le milieu PDA où les taux d'inhibition sont de  $66,48 \pm 2,25$  à  $80,49 \pm 0,92 \%$  sur les milieux KB et mixtes. Même si le niveau d'inhibition a régressé, par rapport aux premiers résultats, l'activité antagoniste reste appréciable, à l'exemple de l'interaction Fo47 avec FOL(B) et FOL(F) (Tableau 5.2).



a : Inhibition de FOL(B) par les souches de *Pseudomonas fluorescens*



b : Inhibition par l'isolat FO47 non pathogène



c : Développement des pathogènes (Témoins )

**Figure 5.1** : Inhibition des agents pathogènes lors des tests préliminaires

**Tableau 5.1** : Activités antagonistes dans les trois milieux.

Interactions	Milieux	Répétitions			
		1	2	3	4
Témoin FOL(F)	KB	4.25*	4.25	4.25	4.25
	M	4.25	4.25	3.75	3.75
	PDA	4.25	4.25	4.25	4.25
S20-FOL(F)	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
CHAO-FOL(F)	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
FO47- FOL(F)	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
Témoin FOL(B)	KB	4.25	4.25	4.25	4.25
	M	4.25	4.25	4.25	4.25
	PDA	4.25	4.25	4.25	4.25
S20- FOL(B)	KB	-	-	-	-
	M	+	-	-	-
	PDA	+	+	+	+
CHAO- FOL(B)	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
FO47- FOL(B)	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
Témoin F.olin	KB	2.20	2.1	2.00	2.20
	M	2.50	1.70	2.50	2.50
	PDA	4.25	4.25	4.25	4.25
S20-F.olin	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
CHAO- F.olin	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
FO47- F.olin	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
Témoin F.oal	KB	4.1	4.1	4.1	4.1
	M	3.9	3.9	3.9	3.9
	PDA	3.8	3.8	3.8	3.8
S20- F.oal	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
CHAO- F.oal	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+
FO47- F.oal	KB	+	+	+	+
	M	+	+	+	+
	PDA	+	+	+	+

- : Absence d'inhibition.; +: Présence d'inhibition.; \* diametres des colonies (cm).

**Tableau 5.2** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne sur les trois milieux de culture.

Interactions Antagoniste - pathogène	Milieux de culture	Répétitions				Moyenne ± ET*
		1	2	3	4	
<b>S20- FOL (F)</b>	KB	32,01	18,15	40,79	41,14	33,02 ± 10,78
	M	41,18	41,18	41,18	41,18	41,18 ± 0,00
	PDA	24,71	31,77	34,12	27,06	29,42 ± 4,30
<b>CHAO-FOL(F)</b>	KB	60,02	60,35	63,12	61,62	61,28 ± 1,41
	M	60,02	60,35	63,12	61,62	61,28 ± 1,41
	PDA	62,36	62,36	62,39	62,39	62,38 ± 0,02
<b>FO47- FOL(F)</b>	KB	60,00	65,42	64,71	69,42	64,89 ± 3,86
	M	61,18	58,83	64,24	68,24	63,12 ± 4,07
	PDA	66,90	65,30	68,12	69,30	67,41 ± 1,71
<b>S20- FOL(B)</b>	KB	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
	M	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00
	PDA	8,50	9,20	9,33	8,75	8,95 ± 0,39
<b>CHAO- FOL(B)</b>	KB	59,70	60,51	60,24	61,12	60,39 ± 0,59
	M	60,45	65,33	58,62	59,20	60,90 ± 3,05
	PDA	50,60	41,30	51,20	50,60	48,43 ± 4,76
<b>FO47- FOL(B)</b>	KB	67,06	64,71	67,77	65,42	66,24 ± 1,42
	M	76,30	78,23	76,30	78,23	77,27 ± 1,11
	PDA	79,35	80,50	81,60	80,50	80,49 ± 0,92
<b>S20-(F.ol)</b>	KB	23,25	21,60	24,53	20,40	22,45 ± 1,82
	M	25,03	25,03	25,03	25,03	25,03 ± 0,00
	PDA	18,60	18,60	19,20	17,40	18,45 ± 0,75
<b>CHAO- (F.ol)</b>	KB	8,65	7,45	9,25	8,70	8,51 ± 0,76
	M	11,12	11,90	13,47	10,21	11,68 ± 1,38
	PDA	41,68	29,42	24,71	36,48	33,07 ± 7,50
<b>FO47- (F.ol)</b>	KB	40,00	30,24	16,28	20,94	26,87 ± 10,51
	M	22,45	30,62	21,64	25,72	25,11 ± 4,08
	PDA	64,71	74,71	69,42	64,06	68,23 ± 4,94
<b>S20-(F.ola)</b>	KB	26,30	26,30	27,40	25,20	26,30 ± 0,90
	M	25,01	24,30	24,90	25,01	24,81 ± 0,34
	PDA	39,48	21,06	30,28	30,20	30,26 ± 7,52
<b>CHAO- (F.ola)</b>	KB	66,88	56,20	67,12	65,20	63,85 ± 5,17
	M	47,10	46,85	39,12	44,95	44,51 ± 3,72
	PDA	35,20	35,40	34,71	34,75	35,02 ± 0,34
<b>FO47- (F.ola)</b>	KB	40,00	30,24	16,28	20,94	26,87 ± 10,51
	M	22,45	30,62	21,64	25,00	24,93 ± 4,06
	PDA	64,71	64,71	69,42	67,06	66,48 ± 2,25

KB : milieu B de King ; PDA: milieu potato-dextrose-agar; M : milieu mixte; \* : écart type.

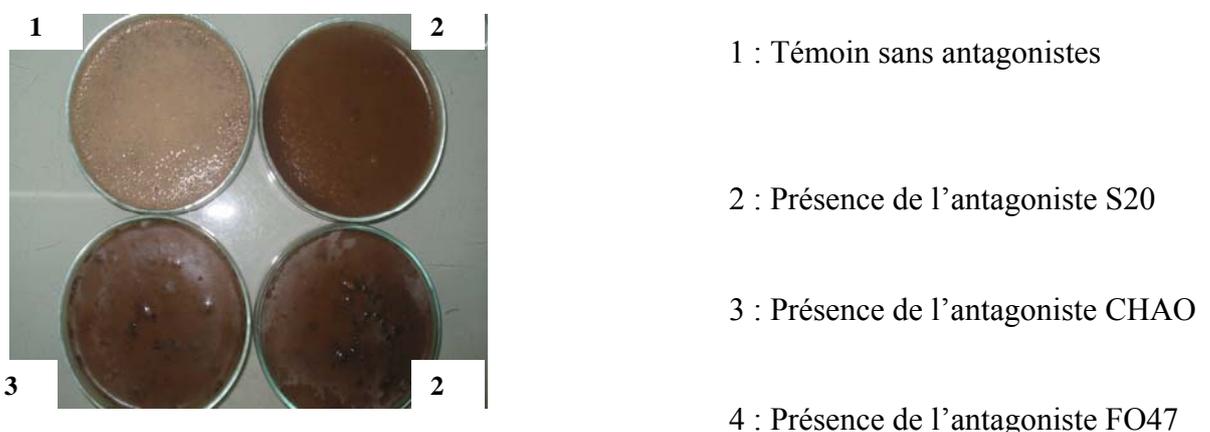
La comparaison des quatre agents phytopathogènes a montré une différence significative; il a été constaté moins de sensibilité avec l'isolat (Foln) par rapport aux trois autres agents phytopathogènes FOL(B), FOL(F) et (Fola). En comparant nos quatre agents phytopathogènes, hormis son interaction avec Fo47 sur le milieu PDA, l'agent phytopathogène (Foln) semble le plus sensible aux effets des agents antagonistes, en montrant des taux d'inhibition allant de  $18,45 \pm 0,75$  % à  $25,03$  % en présence de la

souche S20; de  $8,51 \pm 0,76$  à  $33,07 \pm 7,50$  % en présence de la souche CHAO et de  $25,11 \pm 4,08$  % à  $26,87 \pm 10,51$  % en présence de l'isolat Fo47.

L'interaction entre les différents niveaux des trois facteurs étudiés a révélé des différences significatives, notamment pour les interactions de Fo47 sur le milieu PDA, de CHAO sur le milieu KB et de S20 sur le milieu KB où il a été noté les taux d'inhibition les plus élevés.

Dans les sols inoculés uniquement avec les pathogènes, un développement mycélien abondant a été constaté après 10 jours de l'infestation des échantillons de sol. Contrairement, dans les sols où les antagonistes ont été inoculés, le développement mycélien était faible ou nul (Tableau 5.3 et Figure 5.2). Globalement dans les essais où un seul antagoniste ou une combinaison de deux ou de trois antagonistes ont été apportés 24 h, avant l'infestation du sol par le pathogène, il a été noté une meilleure activité inhibitrice allant jusqu'à l'inhibition totale du pathogène, par rapport aux essais où le ou les antagoniste (s) ont été apporté au même temps que les pathogènes (Tableau 5.3 et Tableau 5.4). A travers les résultats obtenus, il en ressort de meilleurs activités inhibitrices dans les situations où il y a combinaison de deux ou trois antagonistes, tels le cas de d'application simultanée de CHAO + FO47, S20 + FO47 et CHAO + S20 + FO47 (Tableau 5.4).

Les observations microscopiques ont révélé la présence de microconidies, surtout de macroconidies et parfois de chlamydozoospores, mais sans qu'il y est développement mycélien, comparativement aux témoins. Ces observations ont permis de constater que la densité des fructifications des isolats de *Fusarium oxysporum* est très faible comparativement aux témoins où la densité était très élevée (Figure 5.3).



**Figure 5. 2 :** Inhibition du pathogène dans le sol

**Tableau 5.3** : Effet des traitements sur le développement du pathogène dans le sol.

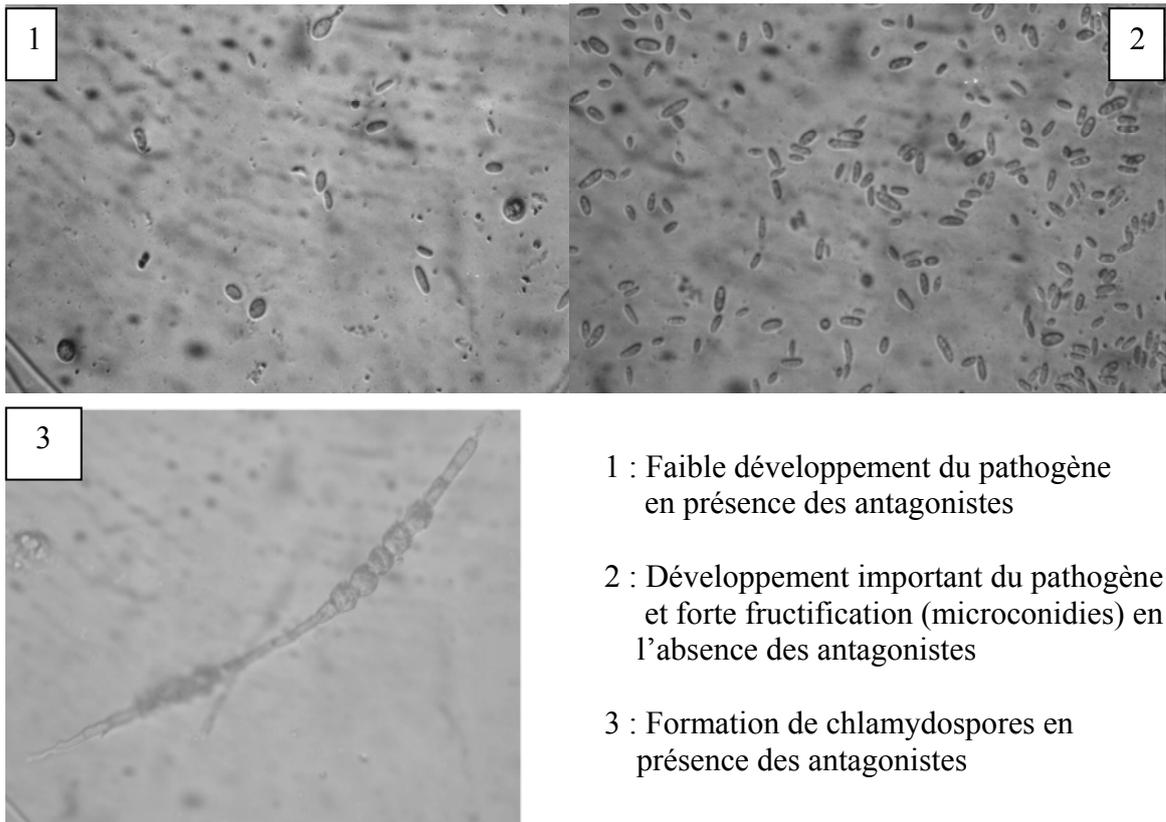
Traitements	Couleur	Texture de la colonie	Dvp
FO47 témoin	Violet	* Mycélium ras, semiaérien à la périphérie	-
S20, CHAO	Beige	Répartition d'une crème bactérienne	-
Foln témoin positif	Beige	Petites colonies de 3 mm de diamètre, a mycélium ras au centre et subaérien.	+++
Foln +FO47	Violet	Ressemble au témoin FO47	-
Foln + S20	Absence	*Ressemble au témoin S20	-
Foln + CHAO	Absence	Ressemble au témoin CHAO	-
FOL(F) témoin	Blanche	Mycélium ras au centre et aérien à la périphérie	+++
FOL(F) +FO47	Violet	Ressemble au témoin FO47	-
FOL(F) + S20	Absence	*Même texture de la colonie bactérienne S20	-
FOL(F) + CHAO	Absence	Même texture de la colonie bactérienne CHAO	-
FOL(B) témoin	Blanche	Mycélium ras au centre et moins abondant à la périphérie	+++
FOL(B) +FO47	Blanche	*Présence de très petites colonies fongiques	+
FOL(B) + S20	Blanche	*Présence de très petites colonies fongiques	+
FOL(B)+ CHAO	Blanche	Présence de très petites colonies fongiques	+
Foal témoin	beige rosâtre	Mycélium ras subaérien à la périphérie de la boîte	+++
Foal + FO47	Violet	Ressemble au témoin FO47	-
Foal + S20	Absence	Ressemble au témoin S20	-
Foal + CHAO	Absence	Ressemble au témoin CHAO	-

Couleur : Couleur de la colonie; \* : milieu riche en macro et en microconidies; - : pas de développement du pathogène ; + : léger développement; +++ : développement important.

**Tableau 5.4** : Effet des antagonistes sur le développement des champignons phytopathogènes dans le sol (24 heures d'intervalle).

Interactions	Dvp	Interactions	Dvp
Foln +FO47	-	FOL(B) + FO47	-
Foln + S20	-	FOL(B) + S20	-
Foln + CHAO	-	FOL(B) + CHAO	+
Foln +FO47+ S20	-	FOL(B) + FO47+ S20	-
Foln + CHAO+ S20	-	FOL(B) + CHAO+ S20	-
Foln +FO47+ CHAO	-	FOL(B) + FO47+ CHAO	-
Foln +FO47+ CHAO+ S20	-	FOL(B) + FO47 + CHAO+ S20	-
FOL[F] + FO47	-	Foal + FO47	-
FOL[F] + S20	-	Foal + S20	-
FOL[F] + CHAO	-	Foal + CHAO	-
FOL[F] + FO47+ S20	-	Foal + FO47+ S20	-
FOL[F] + CHAO+ S20	-	Foal + CHAO+ S20	-
FOL[F] + FO47+ CHAO	-	Foal + FO47+ CHAO	-
FOL[F] + FO47 + CHAO+ S20	-	Foal + FO47 + CHAO+ S20	-

Dvp : Développement du pathogène ; \* : léger développement mycélien.



**Figure 5.3 :** Développement et fructifications du pathogène dans le sol en présence des antagonistes (1 et 3) et seul (témoin) (2).  
(G : 10 x 1,25 x 8)

### 5.2. Interprétation des résultats :

Même si les résultats d'antagonisme *in vitro* ne sont pas forcément transposables aux potentialités réelles des agents antagonistes dans leur expression *in situ* et dans les conditions pratiques, néanmoins ces tests peuvent être utilisés comme indicateurs dans la sélection des souches bénéfiques. Les tests d'activités antagonistes *in vitro* ont permis de confirmer le potentiel inhibiteur des souches S20 et CHAO de *Pseudomonas fluorescens* et de l'isolat Fo47 non pathogène de *Fusarium oxysporum*.

Les essais d'antagonisme menés dans le sol ont révélé que les antagonistes inhibent fortement la croissance mycélienne de FOL(F), FOL(B) et de (Fol), et à un degré moindre l'isolat (Foln).

Même à des degrés variables, dans les trois milieux de cultures les antagonistes ont provoqué une nette réduction de la croissance des quatre souches phytopathogènes, et ce

malgré leurs compositions chimiques variées. Le milieu KB utilisé dans nos essais est un milieu carencé en fer, il est favorable à la synthèse de siderophores, contrairement au milieu PDA. Le fer est un facteur limitant pour le développement des microorganismes et leurs activités biologiques [171], il a un rôle important dans la régulation de plusieurs métabolites extracellulaires produits par les *Pseudomonas* spp. fluorescents, notamment les siderophores et les antibiotiques [118], autres métabolites fongistatiques [7] et des composés volatils (HCN) [246]. Plusieurs études ont montré qu'il y a une corrélation entre l'intensité de la synthèse de siderophores par les *Pseudomonas* spp. fluorescent *in vitro* et leur aptitude à réduire la germination des chlamydospores de *Fusarium* dans le sol [181, 247, 248, 249, 250]. Cette aptitude s'explique par la forte affinité des pyoverdines pour le fer ferrique ( $10^{24}$  à  $10^{32}$  moles /l) par rapport aux fusarinines, siderophores synthétisés par *Fusarium* [119, 175, 251], qui sont incapables de se procurer dans un milieu carencé en fer cet élément nécessaire à la germination des chlamydospores et à l'élongation des tubes germinatifs [247, 250]. Des essais réalisés *in vitro* ont mis en évidence l'importance des pyoverdines sur la réduction de la croissance de nombreux champignons telluriques, surtout les espèces du genre *Fusarium* et *Pythium* [186].

Nos résultats ont révélé des activités fortement inhibitrices, chez les antagonistes appliqués, dans les milieux PDA et mixtes qui ne sont pas favorables à la synthèse bactérienne de siderophores. Ceci indique l'implication d'autres mécanismes d'action, autres que les siderophores dans les inhibitions enregistrées.

Même lorsque la synthèse de siderophores est réprimée à la suite de l'enrichissement en fer du milieu de culture, certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents continuent à exercer leurs activités antagonistes à l'encontre de divers microorganismes [5]. Ceci s'expliquerait par l'aptitude des *Pseudomonas* à produire d'autres substances inhibitrices qui sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène. Ces substances peuvent être des antibiotiques [197, 224], des enzymes et des substances volatiles [23]. Dans ce même sens, plusieurs auteurs ont montré que la production de ces métabolites varie selon le milieu de culture [228].

Des mutants, de la souche CHAO, déficients en synthèse de siderophores ou d'antibiotiques phenaziniques, ont perdu leurs facultés inhibitrices dans des essais *in vitro* et *in situ*. Cette faculté d'antagonisme a pu être restaurée après insertion plasmidique des

séquences géniques codant pour ces métabolites [229]. Ce type d'inhibition a été réalisé également pour d'autres composés comme le 2.4-déacetylphloroglucinol, la pyrrolnitrine, la pyoluteorine et le HCN [246]. L'utilisation de mutants permet d'assurer de façon directe l'implication de tels ou de tel métabolites dans le processus de biocontrôle. Globalement le phénomène d'antibiose peut se manifester soit par une inhibition de la germination des spores des champignons (mycostase), soit par une lyse mycélienne (mycolyse) [116]. L'antibiose exercée par certains *Pseudomonas* spp. fluorescents a d'abord été mise en évidence *in vitro* et plusieurs études ont montré que le 2.4-déacetylphloroglucinol a des propriétés antifongiques [189]. De même Howell et Stipanovic [191], ont mis en évidence l'effet antagoniste de la pyrrolnitrine à l'encontre de *Rhizoctonia solani*. *In vitro* la production de PCN (phénazine-1-carboxamide) a un rôle dans la distorsion de la croissance polarisée des hyphes mycéliens en inhibant leur élongation et leur ramification [252]. La production d'acide cyanhydrique est également impliquée dans l'inhibition de la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes via son activité volatile.

La souche CHAO utilisée dans nos essais, est considérée comme étant souche modèle, connue par sa production de multiples métabolites secondaires impliqués directement dans les activités de biocontrôle; en plus des siderophones (pyoverdines, pyochelins et acide salicylique), elle produit aussi le 2.4-déacetylphloroglucinol, la pyoluteorine, et l'acide cyanhydrique [189, 197]. La souche S20 se caractérise par la production de métabolites antimicrobiens identifiés comme étant des dérivés phénaziniques [106].

L'action de l'isolat fongique non pathogène FO47 se résume essentiellement dans sa compétitivité pour l'espace et les éléments nutritifs. Dans les conditions expérimentales *in vitro*, il est difficile de vérifier ce genre de compétition et d'action. Même si les activités inhibitrices, induites par FO47 sont relativement faibles par rapport à celles induites par les antagonistes bactériens, néanmoins des réductions significatives ont été notées comparativement aux témoins dans les trois milieux testés. Dans les traitements où il y a combinaison de cet antagoniste fongique avec les antagonistes bactériens, les activités d'inhibition étaient nettement meilleures.

Nom du document : CHAPITRE 5. 1  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : CHAPITRE 5  
Sujet :  
Auteur : muss  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 13:21:00  
N° de révision : 3  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 13:17:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition : 10 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:18:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 9  
Nombre de mots : 2 791 (approx.)  
Nombre de caractères : 15 356 (approx.)

### 5.3. Antagonisme *in situ* :

#### 5.3.1. Fusariose vasculaire de la tomate :

Au cours de la période d'expérimentation correspondant à 73 jours de suivi, le matériel végétal inoculé avec *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* FOL (F) a montré des réactions variables se caractérisant avec des degrés d'attaque allant de 0 à 100 %. Il a été constaté nettement une régression de la maladie au niveau des plantes bactérisées et/ou inoculées par F047 par rapport au témoin malade (Figure 5.4 et Tableaux 5.5). Le descriptif symptomatologique a montré une variation selon les traitements; dans certains cas nous avons remarqué que les plants traités ayant un développement végétatif plus important ou montrant de légers jaunissements des feuilles basales et des premières feuilles et un système racinaire bien développé presque similaire à celui des plants témoins. Nous signalons aussi que la variété "riograndé" inoculée par FOL(F) a montré un niveau de maladie beaucoup plus élevé accompagné de flétrissements vasculaires caractéristique de la fusariose vasculaire de la tomate (Figure 5.4).



**Figure 5.4** : Evolution de la maladie sur les plants de tomate.

#### 5.3.1.1. Evolution de l'infection en sol naturel :

Les notations individuelles réalisées sur chaque plantule ont permis d'exprimer en pourcentage l'évolution de la maladie durant les 73 jours d'observation. L'inoculation des plants de tomate, conduite en sol naturel par la souche pathogène et l'antagoniste (s) n'a pas engendré de fortes attaques, en effet, le taux d'infection de ces plants n'a pas dépassé 40 % et aucun plant n'a atteint l'indice 3 de l'échelle symptomatologique

appliquée. Pour les plants inoculés uniquement par le pathogène (témoin malade), l'indice de l'ordre 3 a été observé sur la totalité des plants, parfois même l'indice 4 correspondant à la mortalité du plant.

Ces résultats suggèrent que l'apport des souches antagonistes retarde l'apparition de la maladie et réduit intensément la cinétique d'évolution des taux d'infection par rapport au témoin malade, dont l'évolution était très rapide avec un taux de 40 % au 57 jour et 93,33 % après 61<sup>ème</sup> jours et de 100 % au 70<sup>ème</sup> jour (Figure 5.5).

Bien que la maladie a commencé son apparition dès le 61<sup>ème</sup> jour chez les plants bacterisé avec la souche CHAO au taux de 13,13 % suivi par ceux traités par la souche S20 au taux de 6,6 %, alors que ceux traités par F047 ont atteint le taux de 13,13 % en fin d'expérimentation. L'ensemble de ces traitements, précédemment cités, ont atteint le seuil final de 40 %. L'association de l'isolat F047 avec la souche S20 ou la souche CHAO a permis d'obtenir un taux relativement faible de 13,33 % après 65 jours de l'inoculation et de 26,66 % en fin d'expérimentation. Il en ressort aussi que l'association des trois antagonistes (S20 + CHAO + FO47) a permis d'obtenir une forte inhibition de l'expression de la maladie qui n'atteint que 6,6 % comme valeur finale après 73 jours d'observation.

La gravité de l'infection a été jugée à travers la sévérité calculée sur la base de l'échelle symptomatologique; l'examen de la courbe traduisant l'évolution de cette sévérité en fonction du temps (Figure 5.6), indique que l'inoculation des plants avec les *Pseudomonas* et/ou l'isolat FO47 a permis de réduire significativement la gravité de la maladie, comparativement avec le témoin malade. En effet, la maladie a commencé son apparition après 33 jours chez le témoin positif, pour atteindre rapidement au bout de 59 jours après l'inoculation 71,66 %, contrairement aux autres plants traités avec l'un ou plusieurs antagonistes (s) dont les taux de sévérité sont moins accentués (48,33 et 58 %) (Figure 5.6).

#### 5.3.1.2 évolutions de l'infection en sol désinfecté :

Comparativement a l'essai précédent, réalisé en sol naturel, les résultats de l'évolution de la maladie en sol désinfecté est plus importante (Figure 5.5). Dans ces derniers, la fusariose de la tomate s'est déclarée dès le 44<sup>ème</sup> jour après l'inoculation des plants pour le témoin malade, en évoluant rapidement pour atteindre 100 % d'infection juste après 15 jours. Chez les plants traités avec l'un des antagonistes étudiés (CHAO, S20 ou FO47), les taux

d'infection n'ont commencé à être notables qu'après 63 jours de leur inoculation, montrant les niveaux les plus élevés de 66,66 %. L'association des antagonistes, en deux ou en trois, a permis une meilleure réduction de l'infection, d'ailleurs les taux obtenus en fin d'expérimentation varient de 41,18 à 51,27 % (Figure 5.5).

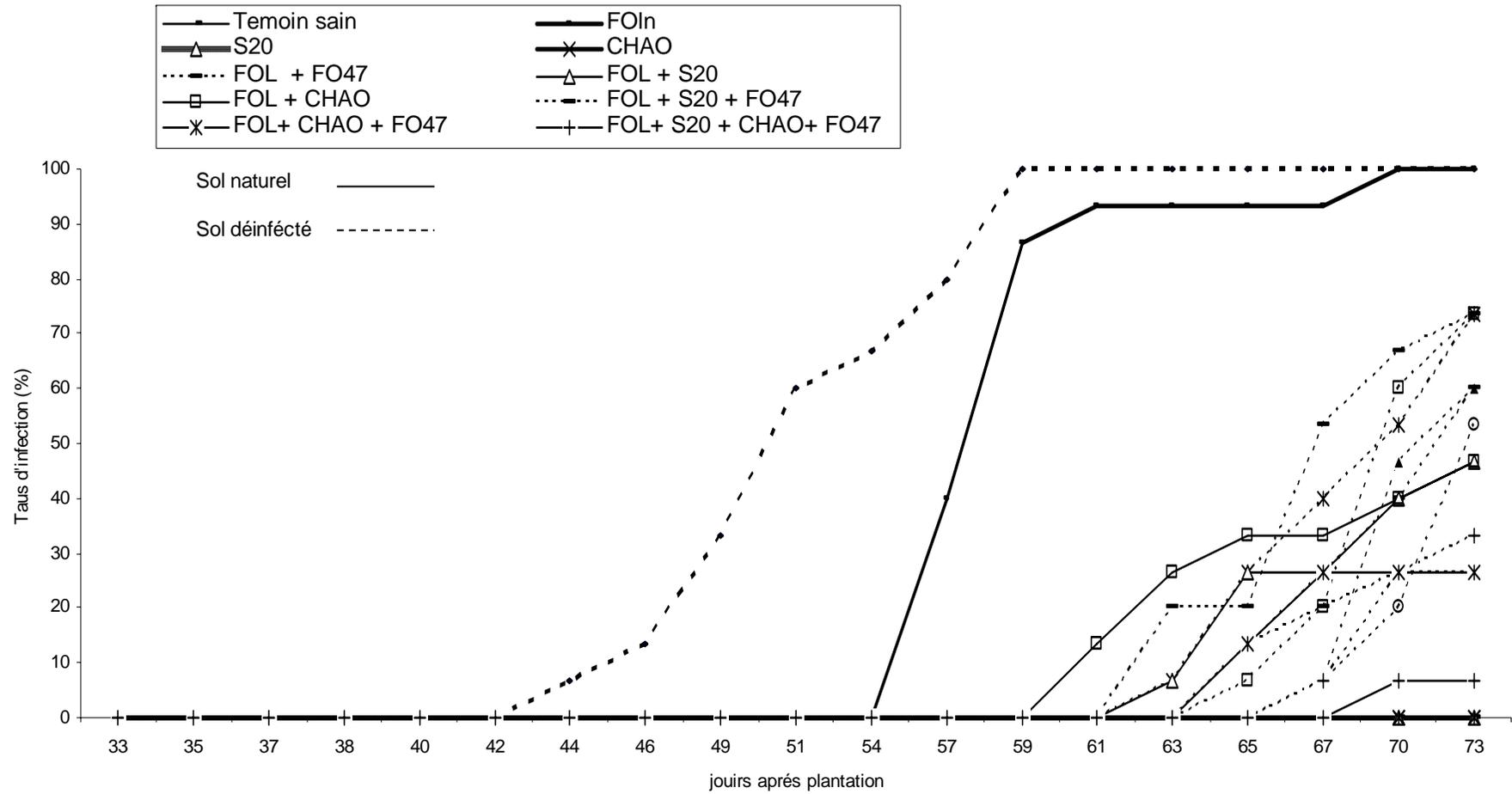
L'estimation de la sévérité des infections déclarées, sur la base de l'échelle symptomatologique adoptée a montré une diminution significative de la gravité de la fusariose où les antagonistes ont été appliqués individuellement ou en combinaison (Figure 5.6). La sévérité chez le témoin malade, dès le début de l'infection, était de 25 % et atteint rapidement le seuil de 60 % après 51 jours de l'inoculation et 95 % à la fin des notations. Chez les plants traités par *Pseudomonas* ou l'isolat F047 la maladie a commencé son apparition après 44 jours, pour atteindre des taux allant de 50 % au maximum qui est de 63 % en fin d'expérimentation (Figure 5.6).

En fin de notation, après 74 jours de végétation, il a été noté un meilleur développement végétatif dans la quasi-totalité des plants associés à un ou plusieurs antagoniste (s), en comparaison aux plants du témoin malade. En effet, chez ce dernier, les plants présentaient une moindre croissance, un rabougrissement et une végétation chétive, notamment dans les essais réalisés en sol désinfecté. Même en comparant les plants traités avec les antagonistes, leur végétation est parfois meilleure que celle du témoin sain; ceci indique une stimulation de la croissance végétale. En effet, les mensurations relatives aux poids frais et secs des plants montrent des gains allant jusqu'à 26,97 % (Figure 5.7).

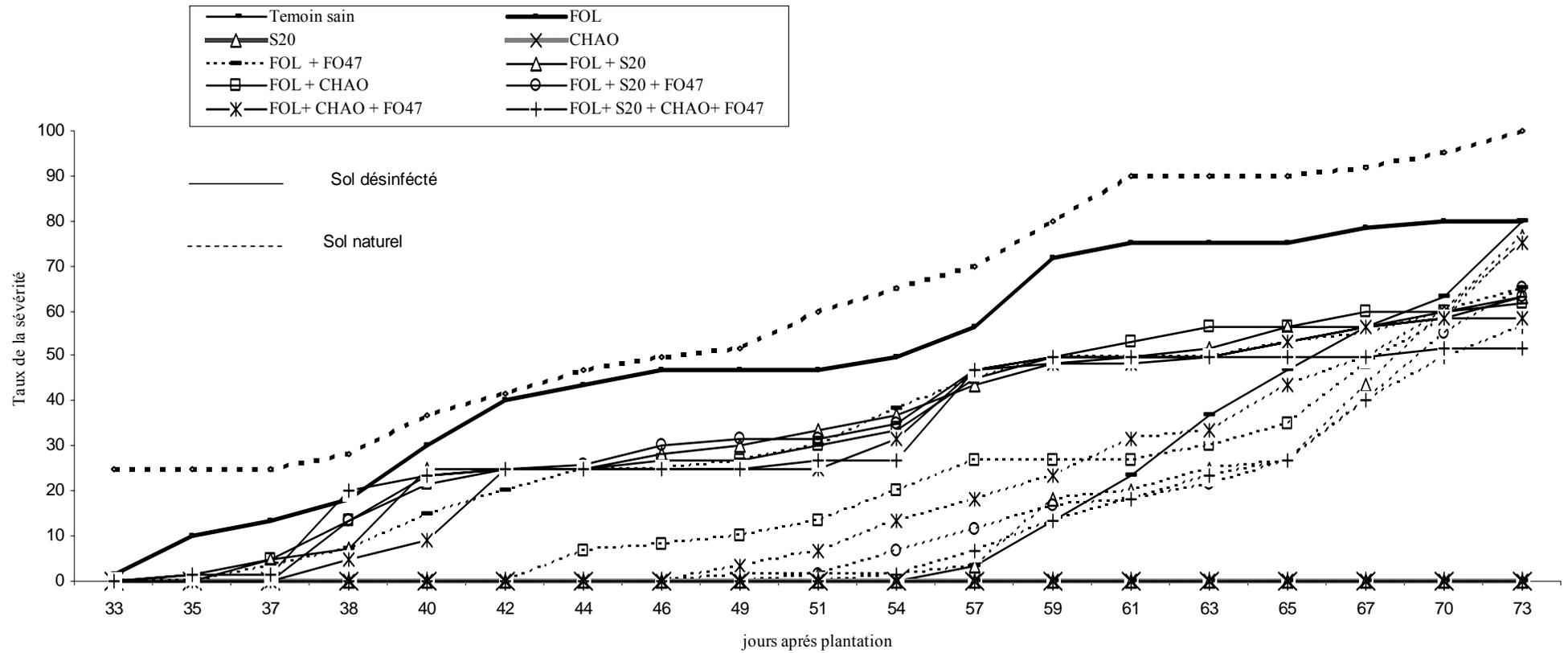
Traitements	Gains (%)	
	SD	SN
FOL + FO47	39,50	7,40
FOL + S20	16,02	11,38
FOL + CHAO	26,97	18,40
FOL + S20 + FO47	15,19	1,13
FOL+ CHAO + FO47	26,79	18,02
FOL+ S20 + CHAO + FO47	17,67	13,47



**Figure 5.7 :** Gains en croissance des plants (parties aériennes et racinaires)



**Figure 5.5** : Evolution de l'infection (%) de la fusariose vasculaire de la tomate



**Figure 5.6 :** Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate

### 5.3.2. Fusariose vasculaire du lin :

Les activités antagonistes *in situ* des souches S20, CHAO, F047 de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été testés vis-à-vis de (Foln) en interaction avec le lin. D'après les résultats obtenus (Figure 5.8), nous constatons que cette activité est variable selon le traitement (un seul ou plusieurs antagonistes) et le type de sol (naturel ou désinfecté).



**Figure 5.8** : Développement de la fusariose sur les plants de lin.

#### 5.3.2.1. Evolution de l'infection en sol naturel :

En comparant les plants du témoin malade par rapport à ceux traités par le ou les antagoniste (s), nous constatons une cinétique plus rapide et un taux d'infection plus élevé, un décalage dans la déclaration des premiers symptômes; chez le témoin malade après 44 jours de l'inoculation alors que chez les autres traitements dix jours après. Chez le témoin malade, en l'espace de 14 jours, entre le 59<sup>ième</sup> et le 73<sup>ième</sup> jour, le taux d'infection est passé de 20 % à plus de 86 %, alors que chez les plants traités par les souches antagonistes, une nette régression et le maximum n'a pas dépassé 33,33 % (Figure 5.9). Les plants traités avec les trois antagonistes à la fois (CHAO + S20 + FO47) n'ont montré aucune infection durant toute la période expérimentale, soit 73 jours après le traitement des plants.

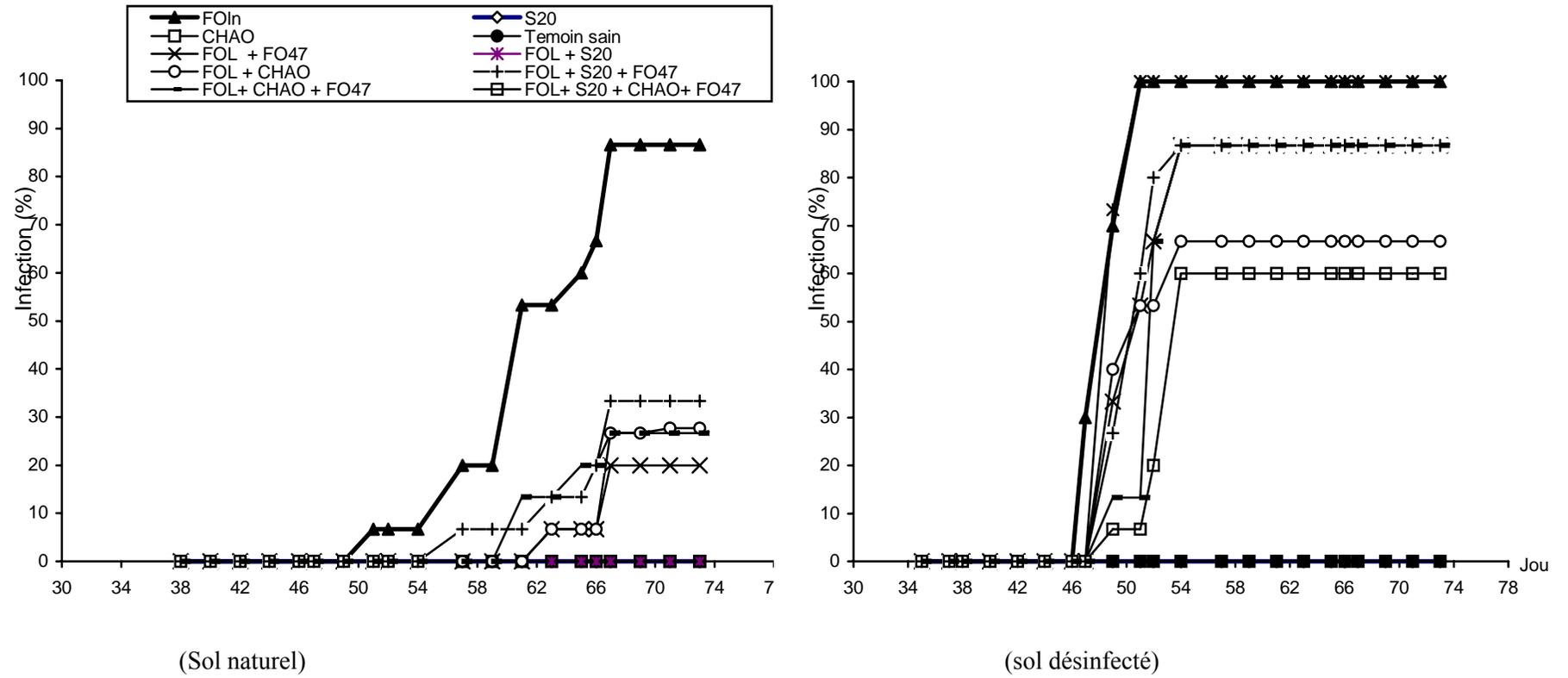
Concernant la sévérité notée, à travers la gravité des symptômes apparus selon l'échelle symptomatologique adoptée, il a été noté une similitude de cinétique et d'évolution par rapport à celle du taux d'infection, néanmoins les taux de sévérité sont inférieurs particulièrement chez les plants traités avec les antagonistes. En effet chez le témoin malade la gravité était à son maximum et de nombreux plants ont atteint l'indice

symptomatologique ultime, c'est à dire le flétrissement fusarien typique (Figure 5.10). Contrairement, chez les autres interactions associées aux antagonistes, même si les infections ont été déclarées mais les symptômes n'ont guère dépassé le deuxième indice symptomatologique et avec des taux finaux variant de 35 à 65,67 %. Le taux le plus élevé (98,33) a été constaté avec la souche S20, alors que le plus faible (66,67 %) a été enregistré avec l'interaction (S20 + CHAO + FO47) (Figure 5.10).

#### 5.3.2.2 Evolution de l'infection en sol désinfecté :

Dans les essais réalisés en sol désinfecté, il a été constaté par rapport aux essais précédents (sol naturel), que les taux d'infection et de sévérité sont plus élevés, leur cinétique d'évolution est plus rapide et les écarts entre les témoins malades et ceux associés aux antagonistes sont moindres (Figure 5.9). Même s'il a été obtenu une protection relative des plants, suite à l'application des antagonistes, néanmoins le niveau de protection reste assez moyen et voir faible pour certains interactions.

En observant le taux d'infection, chez le témoin malade et les plants traités avec la souche S20, il est de 100% après 51 jours de l'inoculation. Avec les autres interactions où il y a application d'antagonistes, les taux varient de 60 % à 83,33 %; de même pour la sévérité où des taux de l'ordre de 66,66 % à 98,33 % ont été notés. Ceci indique, d'une manière générale, une régression dans les activités de biocontrôle. En fin de la période de notation, soit 73 jours après l'inoculation, l'évolution de la sévérité de la fusariose du lin se présente d'une manière similaire chez le témoin malade et les traitements bactérisés et/ou inoculé par l'isolat FO47 (Figure 5.10). Le taux le plus élevé (98,33) a été noté avec la souche S20, alors que le taux le plus faible (66,67%) a été noté avec (S20+CHAO+FO47).



**Figure 5.9 :** Evolution de l'infection des plants de lin en sol naturel et en sol désinfecté

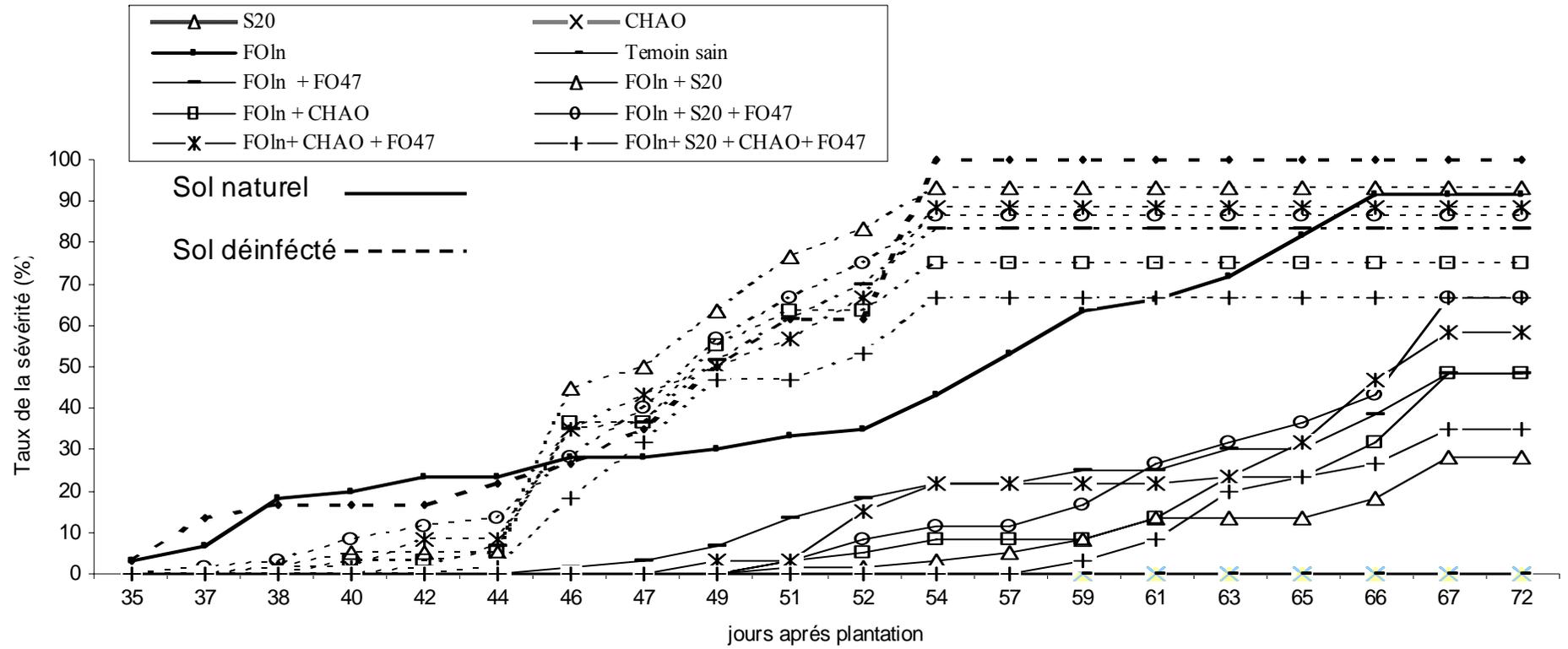


Figure 5.10 : Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire du lin.

### 5.3.3. Inhibition des fusarioses vasculaires :

L'inoculation des plants avec les souches S20, CHAO et/ou F047 a un effet bénéfique significatif sur l'inhibition de l'expression des fusarioses vasculaires du lin et de la tomate (Tableau 5.5, 5.6 et Figure 5.11, 5.12). L'analyse comparative des mêmes traitements, en sol naturel ou en sol désinfecté, montre à l'évidence que la bioprotection est plus accentuée dans le premier sol que ce soit pour la fusariose de la tomate ou celle du lin (Figure 5.11). Chez la tomate la maladie a été réduite avec des taux allant de 60 % à 93,33 % en sol naturel ; alors qu'en sol désinfecté, à l'exception du traitement (S20 + FO47), les niveaux d'inhibition sont de 33,33 % à 53,33%. Concernant la fusariose du lin, les taux d'inhibition en sol naturel étaient plus importants ayant une valeur minimale de 53,33% pour freiner totalement l'expression de la maladie, soit un taux d'inhibition de 100 %; en sol désinfecté, les niveaux d'inhibition n'ont pas dépassé le seuil de 33,33 % (Figure 5.12).

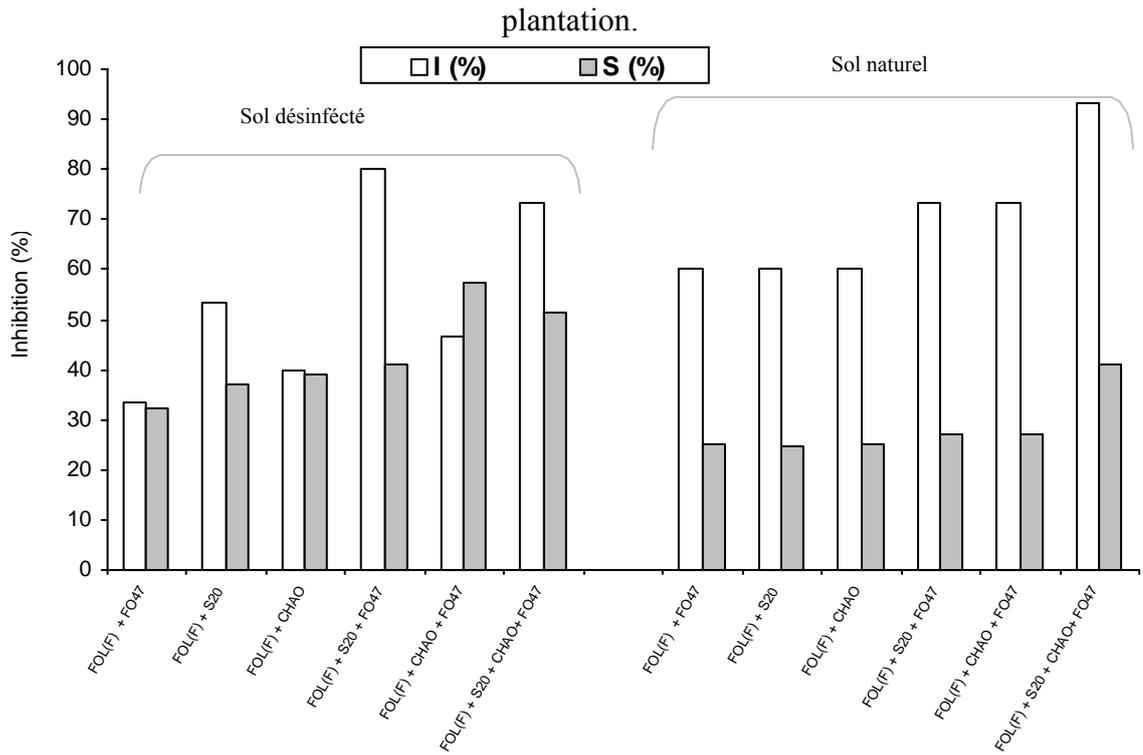
Concernant la gravité des deux maladies fusariennes, a été noté une meilleure inhibition avec la tomate qu'avec le lin, et en sol désinfecté qu'en sol naturel (Figure 5.12).

**Tableau 5.5:** Effet des traitements sur le développement de la fusariose de la tomate après 73 jours de plantation.

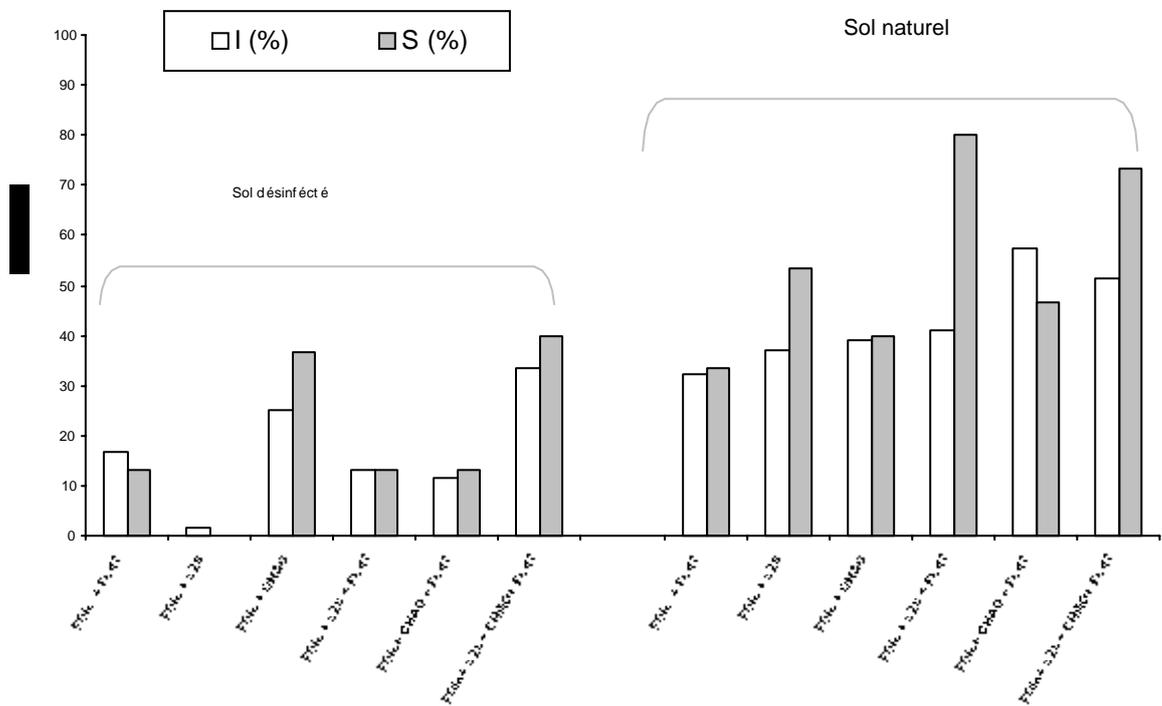
Traitements	Infection (%)	Sévérité (%)	Inhibition par rapport au témoin positif (%)	
			Infection (%)	Sévérité (%)
<b>Sol désinfecté</b>				
FOL	100	95,00 ± 8,66		
FOL + FO47	66,67 ± 57,74	63,33 ± 24,66	33,33 ± 57,74	32,26 ± 28,65
FOL + S20	46,67 ± 41,63	60,00 ± 10,00	53,33 ± 41,63	37,06 ± 6,14
FOL + CHAO	60,00 ± 40,00	58,33 ± 15,28	40,00 ± 40,00	39,02 ± 12,19
FOL + S20 + FO47	20,00 ± 20,00	55,00 ± 10,00	80,00 ± 20,00	41,18 ± 16,08
FOL+ CHAO + FO47	53,33 ± 30,55	60,00 ± 8,66	46,67 ± 30,55	57,45 ± 21,56
FOL+ S20 + CHAO + FO47	26,67 ± 11,55	50,00 ± 5,00	73,33 ± 11,55	51,27 ± 7,00
<b>Sol naturel</b>				
FOL	100,00 ± 0,00	80,00 ± 5,00		
FOL + FO47	40,00 ± 20,00	60,00 ± 5,00	60,00 ± 20,00	24,95 ± 5,54
FOL + S20	40,00 ± 20,00	60,00 ± 5,00	60,00 ± 20,00	24,67 ± 9,85
FOL + CHAO	40,00 ± 20,00	60,00 ± 5,00	60,00 ± 20,00	25,07 ± 1,57
FOL + S20 + FO47	26,67 ± 23,09	58,33 ± 7,64	73,33 ± 23,09	27,29 ± 5,29
FOL+ CHAO + FO47	26,67 ± 23,09	58,33 ± 7,64	73,33 ± 23,09	27,01 ± 9,25
FOL+ S20 + CHAO + FO47	6,67 ± 11,55	51,67 ± 2,89	93,33 ± 11,55	41,00 ± 16,36

**Tableau 5.6 :** Effet des traitements sur le développement de la fusariose du lin après 72 jours de

Traitements	Infection (%)	Sévérité (%)	Taux d'inhibition par rapport au témoin positif (%)	
			Infection (%)	Sévérité (%)
<b>Sol désinfecté</b>				
FOln	100	100		
FOln + FO47	86,67 ± 23,09	83,33 ± 7,64	16,67 ± 7,64	13,33 ± 23,09
FOln + S20	100,00 ± 0,00	98,33 ± 2,89	1,67 ± 2,89	0,00 ± 0,00
FOln + CHAO	66,67 ± 30,55	75,00 ± 10,00	25,00 ± 10,00	36,67 ± 25,17
FOln + S20 + FO47	86,67 ± 11,55	86,67 ± 2,89	13,33 ± 2,89	13,33 ± 11,55
FOln+ CHAO + FO47	86,67 ± 11,55	88,33 ± 2,89	11,67 ± 2,89	13,33 ± 11,55
FOln+ S20 + CHAO+ FO47	60,00 ± 34,64	66,67 ± 11,55	33,33 ± 11,55	40,00 ± 34,64
<b>Sol naturel</b>				
FOln	83,33 ± 20,82	91,67 ± 14,43		
FOln + FO47	20,00 ± 20,00	48,33 ± 20,82	75,56 ± 21,43	45,56 ± 25,84
FOln + S20	0,00 ± 0,00	65,00 ± 35,00	100,00 ± 0,00	26,11 ± 43,15
FOln + CHAO	26,67 ± 30,55	48,33 ± 12,58	60,00 ± 52,92	45,00 ± 22,91
FOln + S20 + FO47	33,33 ± 41,63	66,67 ± 20,21	53,33 ± 30,55	25,56 ± 25,84
FOln+ CHAO + FO47	26,67 ± 30,55	58,33 ± 15,28	73,33 ± 30,55	36,67 ± 10,41
FOln+ S20 + CHAO+ FO47	0,00 ± 0,00	35,00 ± 5,00	100,00 ± 0,00	61,11 ± 8,39



**Figure 5.11** : Inhibition de la fusariose vasculaire de la tomate.



**Figure 5. 12:** Inhibition de la fusariose vasculaire du lin.

### 5.3.5. Interprétation des résultats :

Les essais d'antagonisme *in situ* vis-à-vis des fusarioses vasculaires du lin et de la tomate ont mis en évidence des effets bénéfiques significatifs, de protection des plantes, suite à l'application des antagonistes S20 et CHAO de *Pseudomonas fluorescens* et F047 non pathogène de *Fusarium oxysporum*. Cette protection s'est traduite par une nette réduction de l'infection et de la sévérité des maladies et une stimulation de la biomasse végétale. La bioprotection obtenue présente des degrés d'efficacité variables selon les souches antagonistes et leur association, le pathogène et le type du sol.

Quelque soit le pathogène et la plante hôte, l'analyse des résultats montre que les pourcentages des plants malades ainsi que les sévérités de leurs symptômes sont plus élevés toujours dans le sol naturel par rapport aux conditions gnotobiotiques. En sol naturel, les trois souches antagonistes (S20, CHAO, F047) ont montré un effet inhibiteur élevé contre les deux pathogènes (Foln) et FOL (F) relative allant de 60 % à 100 %; par contre en sol désinfecté, il a été noté une régression dans les effets de biocontrôle. L'exemple le plus probant s'est traduit avec l'action inhibitrice de la souche S20 avec une efficacité de 100 % en sol naturel et un effet nul en sol désinfecté. Contrairement, avec la souche CHAO même en sol désinfecté a pu assurer une inhibition de la fusariose du lin avec un taux de 25 %. Avec l'application combinée de la souche S20 et FO47 en sol désinfecté, le taux d'inhibition a progressé au seuil de 13.33 %, dépassant l'action de l'association (FO47 + CHAO) (Figure 5.12).

Dans nos essais, il semble que le déséquilibre microbiologique provoqué par la désinfection du sol favorise l'inoculum pathogène introduit. La virulence de ces microorganismes phytopathogènes introduits dans le sol stérile est très sensiblement atténuée lorsqu'on inocule au même temps des microorganismes non pathogènes, par contre dans le sol naturel la gravité de la maladie reste inférieure à celle enregistrée dans le sol désinfecté.

Ces résultats acquis dans nos conditions expérimentales s'expliquent par l'existence ou le développement d'interactions de nature antagoniste entre la microflore tellurique et les microorganismes pathogènes. Plusieurs auteurs ont souligné que le succès de l'inoculation est considérablement influencé par le nombre des cellules viables dans le sol c'est-à-dire la densité de la biomasse microbienne totale [9, 69, 80, 92, 94, 172]. Il a été

vérifié que cette biomasse microbienne naturelle (indigène) stimule les communautés antagonistes et active leurs mécanismes d'action, avec pour conséquences des effets bénéfiques directs ou indirects sur la protection et la croissance végétale [106]. Dans le sol stérilisé où la compétition pour l'espace et les nutriments est pratiquement nulle, des mutants  $phz^-$  pouvaient coloniser la rhizosphère du blé aussi bien que les souches  $phz^+$ ; alors que dans le sol naturel, à forte compétition microbienne, les souches  $phz^-$  étaient largement déclassées par leurs homologues parentaux. Il semble aussi que cet avantage compétitif soit moins important lorsque les racines sont infectées par le pathogène [226]; cela peut expliquer en partie la faible compétence rhizosphérique de la souche S20 dans un sol désinfecté et en interaction avec (Foln).

Globalement les effets de bioprotection étaient meilleurs vis-à-vis de la fusariose de la tomate que vis-à-vis de la fusariose du lin. il est à noter que le lin est utilisé souvent comme modèle dans l'étude des fusarioses vasculaires vue sa haute sensibilité. La plante via son architecture racinaire et ses exsudats rhizosphériques influence sur l'activité microbienne [106, 253]. Dans les études d'application de ce genre d'antagonistes microbiens, souvent il a été soulevé le problème de non reproductibilité de l'efficacité d'un essai à l'autre (dans le temps), la variabilité de l'efficacité selon les maladies et les plantes hôtes. En plus de ces considérations dans la totalité des travaux de recherche, il a été mentionné l'effet variable et la spécificité de certaines souches vis-à-vis d'un nombre limité d'agents pathogènes. [7, 82, 95, 113, 253].

L'analyse de telles situations suggère la relation entre les potentialités antagonistes de chaque souche, en fonction de la diversité de ses mécanismes d'action, la susceptibilité ainsi que les mécanismes d'action du pathogène [247]. Ce dernier selon ses formes végétatives, ses formes de conservation et ses capacités infectieuses peut influencer les moyens développés par les antagonistes en question.

La réduction de la sévérité de la maladie, réalisée par la souche CHAO, peut s'expliquer par ses divers mécanismes connus, tels que la synthèse des siderophores (pyocheline et pyoverdine) et d'antibiotiques.

La croissance de divers champignons, en présence de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, a été réduite à cause des carences en fer constatés. Ainsi l'introduction de la

souche WCS358 dans le sol provoque une diminution du taux de germination de chlamydozoospores de plusieurs espèces des *Fusarium* par la synthèse des sidérophores [163, 167, 250]. L'activité antagoniste exercée par la pyoverdine est effectivement liée à la compétition pour le fer, puisqu'elle est annulée lors de son apport [3, 186]. A l'inverse, l'activité antagoniste des *Pseudomonas* spp fluorescents a été plus importante en abaissant la concentration en fer disponible, à la suite de l'introduction d'un puissant ligand du fer : (EDDHA) éthylène, diamine [(o-hydroxyphényl), acide acétique] [119, 187].

La compétition pour le fer n'est cependant pas le seul mode d'action chez ces rhizobactéries; même lorsque la synthèse de sidérophores est réprimée chez la souche CK400 (=CHAO, sid<sup>-</sup>) déficiente en synthèse de sidérophores, son antagonisme reste appréciable à l'encontre de divers pathogènes telluriques. D'après Defago *et al.*, (197), cette souche synthétise également des composés antibiotiques, tels que le 2,4 - diacétylphloroglucinol et la pyolutéorine souvent associés à la bioprotection exercée par cette bactérie [189]. Le 2,4 - diacétylphloroglucinol synthétisé par la souche CHAO est en partie responsable de son activité antagoniste à l'encontre de *Geaumanomyces graminis* var. *tritici*. La production de pyrrolnitrine par *P. fluorescens* est impliquée dans le contrôle de certains agents pathogènes racinaires comme *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Geaumanomyces graminis* et *Fusarium oxysporum* [191, 254]; d'ailleurs un dérivé de cette molécule a été développé comme fongicide agricole (fludioxonil). En outre, la pyolutéorine est produite par plusieurs espèces de *Pseudomonas* mais son rôle dans la suppression des agents phytopathogènes a été étudié surtout chez les souches CHAO et p f-5 de *P. fluorescens*. D'après les travaux de Thomashow *et al.*, [11] la tropolone produite par les *Pseudomonas* manifeste des propriétés antagonistes à l'encontre de plusieurs champignons des genres *Alternaria*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Pythium*, *Rhizoctonia* et *Pyricularia*. Enfin la production de l'acide cyanhydrique (HCN) par la souche CHAO est responsable de l'inhibition des maladies causées par *P. ultimum* et *Thielaviopsis basicolae* [197], il agit directement sur les cellules de l'agent pathogène en bloquant les cytochromes oxydases dans la chaîne respiratoire [246].

L'implication de certains métabolites secondaires confère également une meilleure adaptation écologique à la bactérie [92, 226], Ainsi au niveau de la rhizosphère, la production d'HCN peut être avantageuse, du fait que cet élément cause une augmentation de l'exsudation racinaire. Ce métabolite peut aussi contribuer dans l'acquisition de

quelques ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci. L'avantage de la production de phénazines pour la colonisation et la survie dans la rhizosphère a également été démontré en comparant le comportement des souches parentales et des souches mutantes [11].

La bioprotection assurée par l'isolat fongique non pathogène FO47, en quantité reste assez proche de celle des antagonistes bactériens, mais en qualité peut être différente. Cette différence réside dans la nature des modes d'action développés par ce champignon antagoniste. Globalement les effets bénéfiques réalisés chez cet isolat impliqué dans le biocontrôle des fusarioses vasculaires s'expliquent selon trois mécanismes majeurs : Compétition pour les nutriments [202, 213], et les sites d'infection et la colonisation des racines [24, 153] et induction de la résistance systémique [25]. De nombreux travaux ont utilisé cet isolat, FO47, dans des essais réalisés sous serre ou en plein champs ont montré son efficacité antagoniste vis-à-vis de plusieurs formes spéciales de *F. oxysporum* [70, 199]. Des études génotypiques de FO47 ont montré qu'il contient moins d'éléments transposables par rapport à d'autres souches de la même espèce; Ce qui suggère sa stabilité phénotypique qui peut être avantageuse dans la colonisation rhizosphérique (24, 82, 202).

Les protocoles adoptés, lors de nos expérimentations, ont permis d'évaluer les effets de nos antagonistes, individuellement et même en combinaison; globalement les résultats mettent en évidence que les associations d'antagonistes procurent une meilleure protection, en effet les niveaux les plus élevés ont été enregistrés avec la combinaison (S20 + CHAO + F047), quelque soit la plante (lin ou tomate) et quelque soit le type de sol (désinfecté ou naturel). Dans les essais de combinaison de FO47 avec la souche S20 ou la souche CHAO, nous avons constaté des situations différentielles.

Ces résultats concordent avec ceux déjà obtenus [135, 198, 213] en montrant que la protection de la tomate contre la fusariose vasculaire assurée par une co-inoculation, à base d'une souche non pathogène de *Fusarium oxysporum* et d'une souche de *Pseudomonas fluorescens*, est plus efficace qu'une inoculation de l'un des deux microorganismes antagonistes. Ces faits s'expliquent par l'effet synergique de la co-inoculation de la souche F047 avec les *Pseudomonas*. Cette hypothèse s'accorde avec d'autres déductions similaires [7, 22, 69, 104, 163] qui ont observé que l'effet synergique résultant entre la souche WCS358 de *P. putida* et de F047 de *Fusarium* est due principalement aux compétitions

pour le carbone réalisé par l'isolat fongique et pour le fer réalisé par la souche bactérienne [162, 171]. La suppression de la fusariose vasculaire du lin, suite à l'association de ces deux types d'antagonistes, a assuré une bioprotection sous l'effet des pyoverdines bactériennes et de la réduction de la densité et de l'activité des agents phytopathogènes rhizosphériques [162].

Compte tenu de la diversité et de la complexité des interactions entre la microflore, le sol et la plante, plus les mécanismes mis en œuvre seront variés plus l'efficacité de l'inoculation microbienne sera meilleure [7]. Dans le but d'atteindre cet objectif, il est intéressant d'utiliser en association des souches qui se caractérisent par des mécanismes différents et complémentaires [216].

#### **5.4. Induction systémique de la résistance chez la tomate (ISR)**

##### **5.4.1. Evolution de la maladie en systèmes split et non split**

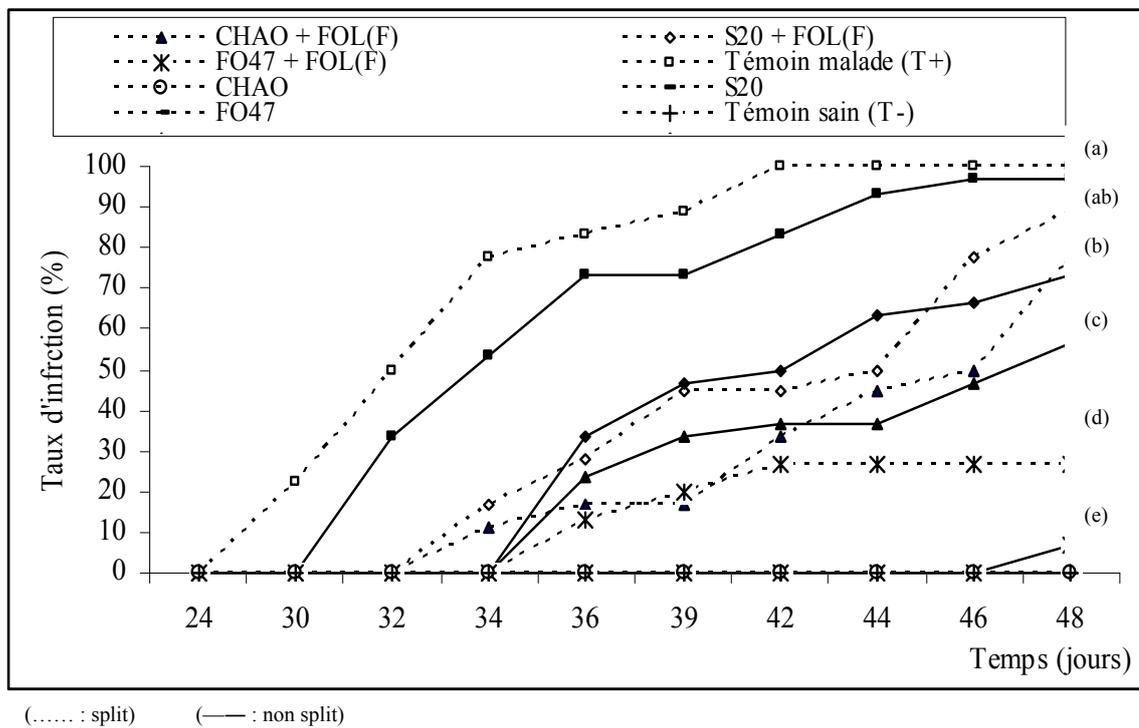
Dans les essais d'induction systémique de la résistance chez la tomate (ISR), les cinétiques d'évolution de la fusariose ont été relativement analogues chez les plants conduits en conditions classiques (non split) et ceux conduits en système split (ISR) (Figure 5.13, 5.14). La protection des plants par les souches de *Pseudomonas fluorescens* S20 et CHAO de et par l'isolat FO47 s'est traduite par un ralentissement dans l'apparition et l'expression des symptômes; par conséquent la réduction des taux finaux d'infestation. Les plants sains (témoin) et les plants inoculés par les antagonistes n'ont montré aucune manifestation symptomatologique révélatrice de la fusariose de la tomate (Figure.5.13).

Dans les essais conduits en système split, la maladie a été initiée chez le témoin positif à partir du 30<sup>ième</sup> jours avec un taux d'infection de 22,22 %, pour une infection totale après 10 jours, soit 42 jours de l'inoculation, accompagné d'une sévérité de 74,44 %. Comparativement à ce témoin, la maladie a été contrôlée significativement par l'isolat FO47 où le taux d'infection n'a pas dépassé le seuil de 26,66 %. L'application des souches bactériennes n'a pas induit autant de protection que l'isolat Fo47, même si les taux d'infection enregistrés restent inférieurs à ceux enregistrés chez le témoin malade (Figure 5.15).



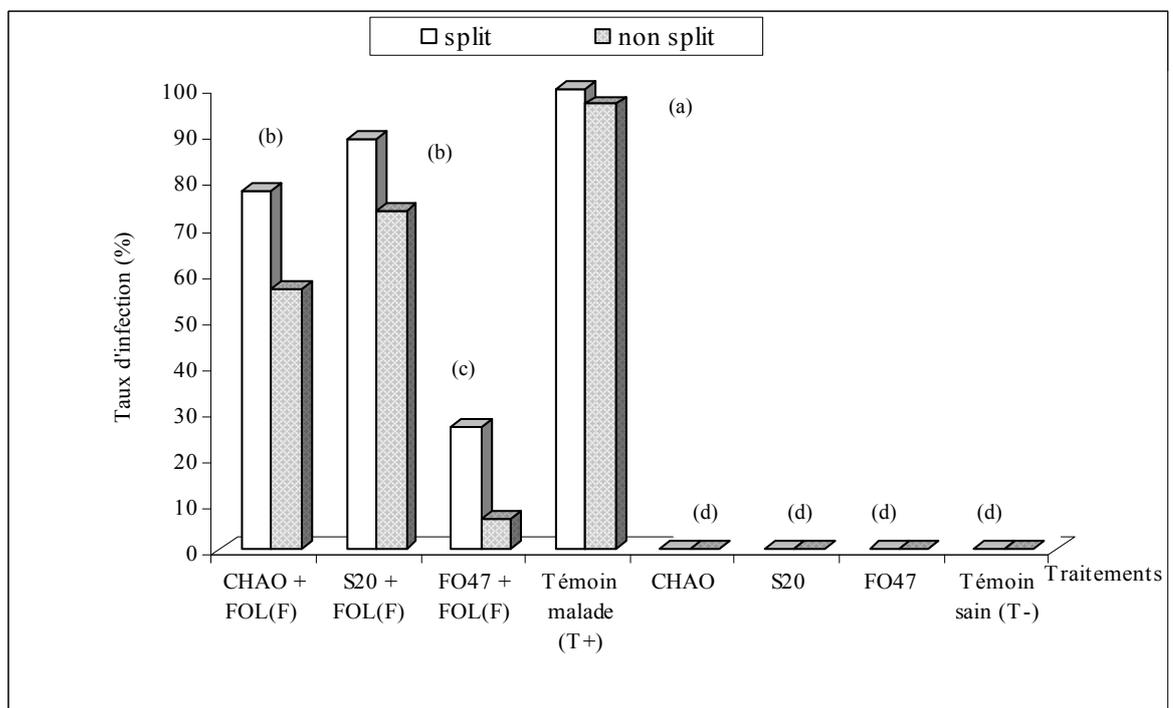
Plants non malades

non malade malade

**Figure 5.13** : Plants conduits en système split.**Figure 5.14** : Evolution des taux d'infection de la fusariose.

Nom du document : Chapitre 5.2  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : 5  
Sujet :  
Auteur : muss  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 14:09:00  
N° de révision : 7  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 16:55:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition : 18 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:16:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 18  
Nombre de mots : 4 171 (approx.)  
Nombre de caractères : 22 945 (approx.)

Dans les essais conduits en système classique (non split), les constats sont globalement similaires aux précédents. L'activité de l'isolat FO47 est nettement plus importante par rapport aux souches bactériennes. La fusariose de la tomate a été contrôlée significativement avec l'isolat FO47 où la maladie ne s'est déclenchée qu'après 48 jours de l'inoculation avec les taux de 6,67 % d'infection et de 36 % de sévérité. Dans le cas de la bactérisation, la maladie s'est exprimée au 36<sup>ème</sup> jour de l'inoculation; les taux d'infection à la fin de notre expérimentation étaient, respectivement de 73,33 % et de 56,66 % avec les souches S20 et CHAO (Figure 5.15).



Les traitements ayant la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le teste de Newman-Keuls " PPAS = plus petite amplitude significative" avec  $\alpha = 5\%$  .

**Figure 5.15:** Les taux d'infection enregistrés dans les systèmes split et non split.

#### 5.4.2. Inhibition de la maladie :

Même si l'inhibition de la fusariose a été obtenue dans les deux types de conduites des essais, il apparaît clairement que le niveau de biocontrôle est plus élevé dans le système classique (non split) (Tableau 5.7).

**Tableau 5.7:** Effet des antagonistes sur l'inhibition de la maladie en système split et non split

Traitements	Inhibition de l'infection (%)		Inhibition de la sévérité (%)	
	split	non split	split	non split
S20	11,12 (c)	24,14 (c)	07,47 (c)	09,16 (c)
CHAO	22,23 (b)	41,38 (b)	10,45 (b)	22,02 (b)
FO47	73,34 (a)	93,09 (a)	23,88 (a)	50,45 (a)

Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le teste de Newman-Keuls " PPAS = plus petite amplitude significative".

La comparaison des taux d'infection en fin des notations (48 jours) a permis de dégager trois groupes de réponses, en se basant sur la plus petite amplitude significative (PPAS) du test Newman – Keuls :

- Le groupe (a) avec les taux d'inhibition les plus élevés, il regroupe les plants inoculés avec l'isolat FO47.
- Le groupe (b) représenté par les plants bactérisés avec la souche CHAO.
- Le groupe (c) correspondant à la bactérisation des plants avec la souche S20.

Ce classement montre que la protection assurée par l'isolat FO47 varie de 73,34 % (split) à 93,09 % (non split), dépassant largement celle assurée par les bactéries dont le maximum avec 22,23 % (split) a été enregistré chez la souche CHAO et 41,38 % (non split) (Tableau 5.7). Les observations relatives à la sévérité de la fusariose, montrent aussi une meilleure inhibition après l'application de FO47 atteignant 50,45 % en système split.

#### 5.4.3. Effet des traitements sur la phytostimulation :

Suite à l'application des agents antagonistes, nous avons constaté une biostimulation de la croissance des plantes, notamment ceux traités avec les souches bactériennes. Ces effets ont été exprimés sommairement à travers la phytomasse aérienne et l'élongation du système racinaire (Tableau 5.8).

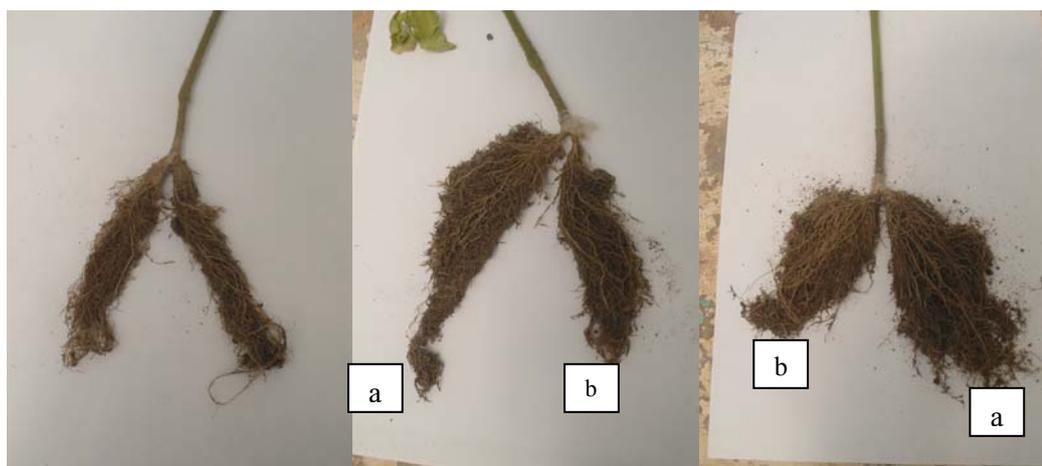
En plus des meilleures performances des plants bactérisés par rapport aux plants du témoin malade, il a été enregistré des augmentations significatives même par rapport aux témoins sains. Les effets de biostimulation sont aussi notables chez les plants traités uniquement avec les antagonistes (Tableau 5.8). Dans ces interactions des plants avec les microorganismes antagonistes et/ou le pathogène, les performances les plus élevées ont été

enregistrées surtout avec l'application des souches bactériennes seules, suivies de leurs interactions avec le pathogène, et enfin loin de témoin malade (Tableau 5.8).

**Tableau 5.8 :** Effet des traitements sur la phytostimulation des plants de tomate (gains en %).

traitements	Poids frais / poids sec (g)		Elongation du système racinaire (cm)		Taux de protéines totales (mg /ml)
	split	non split	split	non split	Split
S20	6,31	7,65	20	20,33	1,50 ± 0,40
CHAO	6,49	7,75	21	22	1,92 ± 0,97
FO47	4,90	6,23	18,52	19,20	1,82 ± 0,51
S20+FOL(F)	5,54	6,57	18	18,90	1,45 ± 0,83
CHAO+FOL(F)	5,74	6,88	20	20,3	1,80 ± 0,44
FO47+(FOL(F)	4,20	6,22	17,75	18,20	0,75 ± 0,08
Témoin +	3,70	4,12	16,48	16,28	1,06 ± 0,10
Témoin -	4,50	6,12	16,56	17,26	1,64 ± 0,20

Les effets de biostimulation ont été exprimés en terme de gains par rapport aux témoins, les gains réalisés en phytomasse aérienne ont atteint 70,54 % dans le cas de l'application du système split. De même pour l'élongation du système racinaire dont les gains varient en système split de 07.18 à 26,81 %. Evidemment, ces gains sont plus importants en comparant ces paramètres de croissance chez le témoin malade dont les taux obtenus varient de 5,44 à 26,81 % (Figure 5.16). En fin d'expérimentation, sur les racines analysées la colonisation bactérienne a été très intense (Figure 5.18 ).

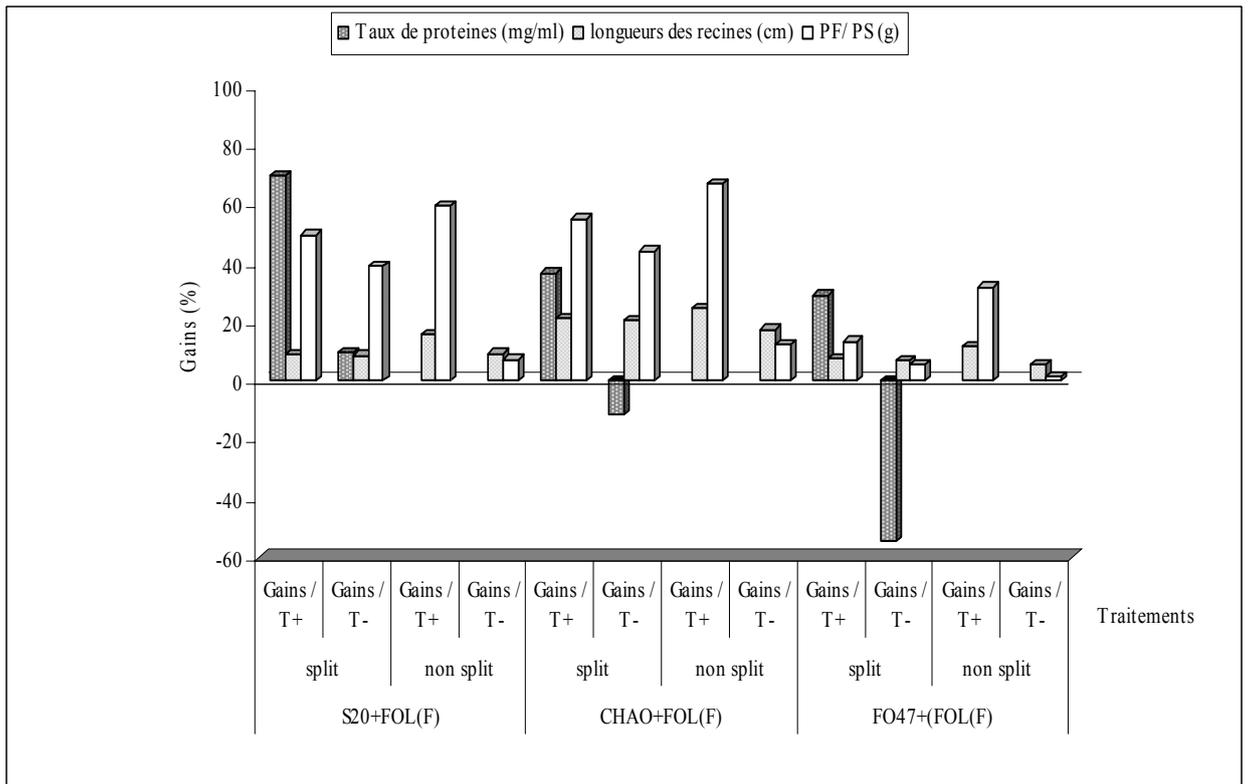


(témoin sans antagonistes)

(a) : antagoniste

(b) : pathogène

**Figure 5.16 :** Gains en en élongation des systèmes racinaires



**Figure 5.17 :** Effet des traitements sur la phytostimulation.



**Figure 5.18 :** Colonisation racinaire par *Pseudomonas fluorescens*

L'analyse des protéines totales foliaires a montré une variabilité selon les traitements appliqués (Tableau 5.8). Comparativement au témoin malade, à l'exception de l'interaction FO47-FOL(F), les autres traitements se sont montrés supérieurs. Même en comparant ces traitements au témoin sain, nous constatons des gains significatifs,

particulièrement chez les plants bactérisés avec la souche S20 où les gains sont de 17,07 % (Figure 5.17) synonyme d'une stimulation du métabolisme général de la plante.

#### 5.4.4. Interprétation des résultats :

Nos expérimentations ont mis en évidence une induction de la résistance systémique chez la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* FOL (F). Afin de définir si la protection des plantes par ces antagonistes est le résultat d'une action directe sur le pathogène ou d'une induction de la résistance de la plante, les inoculum antagonistes ont été introduits dans le même compartiment hébergeant le pathogène. Les résultats de cette étude ont montré que la réduction de la maladie dans le cas des interactions des souches antagonistes avec l'isolat FOL(F) est plus forte de celle obtenue chez les plants conduits en système split. Globalement, en se basant sur les taux d'infection des plants de tomate par la fusariose vasculaire et sa sévérité, il en ressort que l'inhibition de la maladie est plus importante dans le système split que le système classique (non split). En effet l'application de l'isolat FO47 montre une différence de bioprotection entre ces deux systèmes de conduite de 19,75 %. De même pour les souches bactériennes CHAO et S20 dont les différences sont respectivement de 19,15 % et de 13,02 %. Des différences similaires ont été enregistrées en terme de sévérité de la maladie allant de 1,69 % à 26,57 %. Des travaux sur la résistance chez les plants, bactérisés avec des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents réalisés dans des conditions expérimentales analogues, ont souligné l'importance de la bioprotection dans les systèmes classiques par rapport au système split [95, 106, 253]. Ceci peut s'expliquer par le fait que dans le premier système il peut y avoir conjugaison des effets d'antagonisme directe (compétition et antibiose) et de ceux de l'activation des mécanismes de défense de la plante, alors que dans le second système seul le dernier mécanisme est mis en œuvre.

D'après nos résultats, il en ressort que la réduction de la maladie a été souvent plus importante avec la souche CHAO, connue comme souche modèle dans les expérimentation de la lutte microbiologique, elle produit une gamme assez variée de métabolites secondaires impliqués directement dans ses performances antagonistes vis à vis de nombreux agents phytopathogènes, tels que *Thilaviopsis basicola*, *Gaeumanomyces graminis* var. *tritici*, *Phytium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, et *Fusarium oxysporum* [23, 153, 167]. Defago *et al.*, [197], Maurhofer *et al.*, [138], suggèrent que la

production de siderophores et d'HCN chez cette souche provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de sa résistance naturelle. Concernant la souche S20, ses performances antagonistes ont été aussi rapportées vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*. Cette souche s'est révélée productrice de phenazines en plus des siderophores pyoverdiniques [106, 236]. Les *Pseudomonas* spp. fluorescent peuvent provoquer une très intense stimulation des voies métaboliques secondaires conduisant notamment à la production de quantités importantes en composés protéiques liés aux mécanismes de défense de la plante hôte [23, 151, 160], notamment la production de l'acide salicylique [19, 174, 182, 219] de jasmonate [143, 151] et de l'éthylène [255].

Comparativement à ces deux antagonistes bactériens, l'isolat fongique FO47 a procuré une meilleure bioprotection dépassant le seuil de 51 % en taux d'infection et de 13 % en sévérité de la fusariose dans les deux systèmes de conduites. En appliquant nos antagonistes, même si la maladie n'a pas été totalement supprimée, les symptômes ont été significativement atténués ne laissant développer que des altérations ayant des indices des niveaux 1 et 2, contrairement au témoin où les indices symptomatologiques étaient au niveau maximal de 4. Ces résultats s'accordent avec la déduction de Sémal [57], qui a signalé que la résistance induite ne s'exprime pas par une immunité absolue mais par une diminution des symptômes, ralentissement de la croissance du pathogène et de sa sporulation [247, 250]. D'autres travaux sur l'implication de FO47, suite à l'induction de la résistance systémique de la plante, ont mis en évidence le rôle des produits de gènes de défense relatifs à la synthèse des chitinases, glucanases  $\beta$ 1-3, glucosidases  $\beta$ 1-4, les protéines PR-1 et les peroxydases [23, 25, 164, 204]. Dans les travaux ayant utilisé l'isolat FO47, en qualité d'agent antagoniste, il a été mis en évidence l'importance de ces actions sur la compétition trophique, par rapport aux *Fusarium oxysporum* pathogènes, notamment pour le carbone et la colonisation des sites racinaires susceptibles à l'infection [202, 213].

A travers nos résultats, il a été souligné des activités de biostimulation de phytomasse aérienne ainsi que de l'élongation du système racinaire, notamment chez les plants conduits en système classique. L'activité des bactéries est nettement supérieure par rapport aux effets phytostimulateurs de l'isolat FO47. Les performances trophiques des antagonistes, particulièrement en fer pour les *Pseudomonas* et en carbone pour FO47,

peuvent accroître la biodisponibilité de ces éléments au niveau de la rhizosphère, ainsi les plants peuvent en tirer profit. Comme il a été aussi suggéré que cet accroissement en nutriments peut être dû à l'exclusion du pathogène [9, 14, 119, 162]. Différents mécanismes ont été avancés pour expliquer la promotion de la croissance végétale, notamment par la synthèse des phytohormones et de leurs précurseurs et l'amélioration de la disponibilité des nutriments dans le sol [126, 162].

Le dosage des protéines totales a montré des concentrations plus importantes dans les extraits foliaires des plantes traitées par les antagonistes appliqués, ce qui suggère la présence des métabolites protéiques associés aux mécanismes de défense de la plante. L'accumulation de produits d'origine protéique a été associée à l'activation des systèmes de défense suite à la bactériation des plants par les *Pseudomonas* spp. fluorescents du pois contre la fusariose vasculaire sous forme de protéines PR, de glucanases  $\beta$ 1-3 et des endochitinases [157, 159]. En effet les familles des glucanases  $\beta$ 1-3 et des chitinases semblent agir en synergie, pour une meilleure efficacité de leur potentiel destructeur de l'agresseur [216].

Dans d'autres essais portant sur l'ISR, il a été révélé l'implication de phénylalanine ammonialyase (PAL) [106], polyphénol oxydase et/ou les chalcones syntases [142, 148, 256]. L'activité PAL est directement liée au processus de lignification [257], puisque un traitement des plants d'*Arabidopsis thaliana* par un inhibiteur de PAL, l'enzyme clé du métabolisme des phénylpropanoïdes, provoque une réaction de type compatible avec diminution de la lignification, après inoculation avec l'oomycète avirulent *Phytophthora infestans* [23, 165, 191, 220]. L'inhibiteur de la PAL a des conséquences sur de nombreuses voies biosynthétiques (acide salicylique, phytoalexines, flavonoïdes, anthocyanines). En outre il a été rapporté que l'application de *Pseudomonas fluorescens* sur des plants de la tomate a entraîné un meilleur développement des plants traités par rapport aux plants non traités expliqué par une activation du système de défense de la plante par dépôts des composés phénoliques et formation de callose, induisant ainsi une résistance systémique chez la plante [157]. Anderson et Guerra [258] ont montré aussi que l'induction de la résistance chez le haricot vis-à-vis de *Fusarium solani* par *P. putida* est associée à l'accumulation de la lignine. Ces dépôts polymériques fortement réticulés vont conférer à la matrice extracellulaire une très grande résistance aux enzymes microbiennes, elles s'accumulent lors de l'infection parallèlement à l'augmentation de la résistance [159].

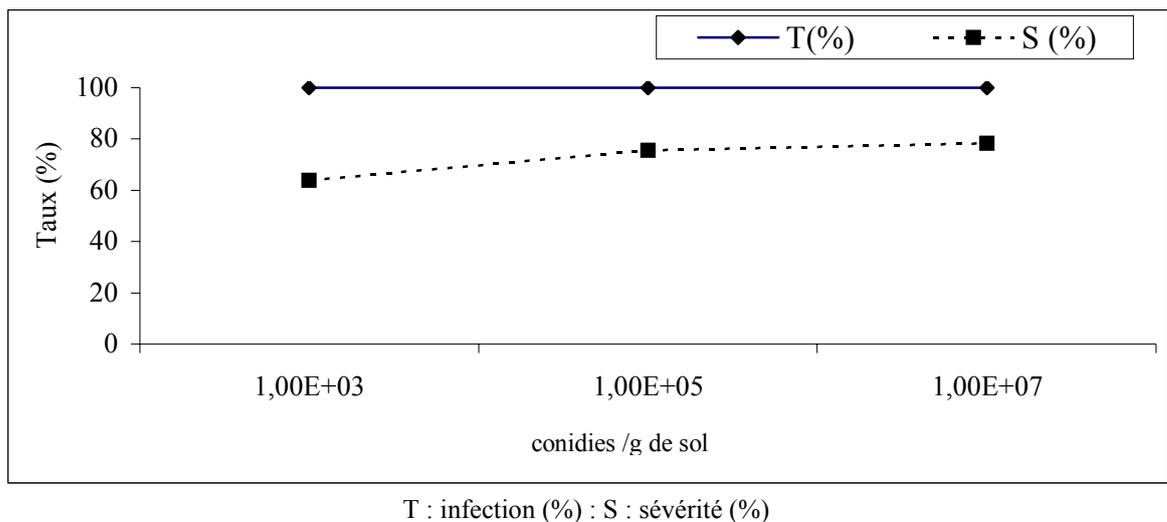
Chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents nous citons entre autre, que la flagelline, les lipopolysaccharides membranaires , les siderophores [10, 94, 140, 144, 151, 152, 154,163 ] et l'acide cyanhydrique qu'elles secrètent [259] sont responsables de l'activation des systèmes de défenses systémiques chez les plantes.

## 5.5. Réceptivité des sols a la fusariose vasculaire de la tomate :

### 5.5.1. Sol désinfecté :

#### 5.5.1.1 Effet de la concentration fongique :

Dans les essais de réceptivité en sol désinfecté à *F.o.f.sp. lycopersici*, il a été constaté même avec la plus faible concentration utilisée ( $10^3$  conidies /g de sol), la maladie s'est développée sur la totalité des plants, de même pour le cas des concentrations  $10^5$  et  $10^7$  conidies /g de sol. En effet les plants ont exprimé des symptômes de la fusariose vasculaire, souvent de type jaunissement total associé au rabougrissement et parfois à des flétrissements latéraux. Ces symptômes correspondent à des sévérités en moyenne, de 63,98 % avec la concentration fongique de  $10^3$  conidies /g de sol. Ce développement de la fusariose indique la bonne réceptivité de ce sol à *F.o.f.sp. lycopersici*, se traduisant par l'installation du pathogène, son développement et l'expression de son pouvoir pathogène aux contacts des plants de tomate (Figure 5.19).



**Figure 5.19** : Effet de la concentration du pathogène sur l'infection (%).

Nom du document : Chapitre 5.3  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : 3  
Sujet :  
Auteur : Admin  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 14:17:00  
N° de révision : 3  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 13:36:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition : 11 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:17:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 8  
Nombre de mots : 2 289 (approx.)  
Nombre de caractères : 12 593 (approx.)

### 5.5.1.2. Modulation de la réceptivité

- Apport des inoculums antagonistes

Dans cette étape, la réceptivité du sol a été analysée suite à l'apport des antagonistes, individuellement ou en combinaison, en comparaison avec le témoin correspondant au pathogène seul à la densité de  $10^3$  conidies /g de sol. L'introduction des antagonistes n'a pas provoqué une régression considérable de la maladie; d'ailleurs les traitements CHAO, FO47, S20 + FO47 et la combinaison de ces trois antagonistes n'ont pas montré de différences significatives entre eux, ils sont classés dans le même groupe homogène (a) avec le témoin malade. Les autres traitements ont provoqué une légère régression dans le développement de la maladie, où le minimum d'infection a été observé suite à l'application de la souche S20 qui a induit une protection de l'ordre de 38,95% (Tableau 5.9 et Figure 5.20).

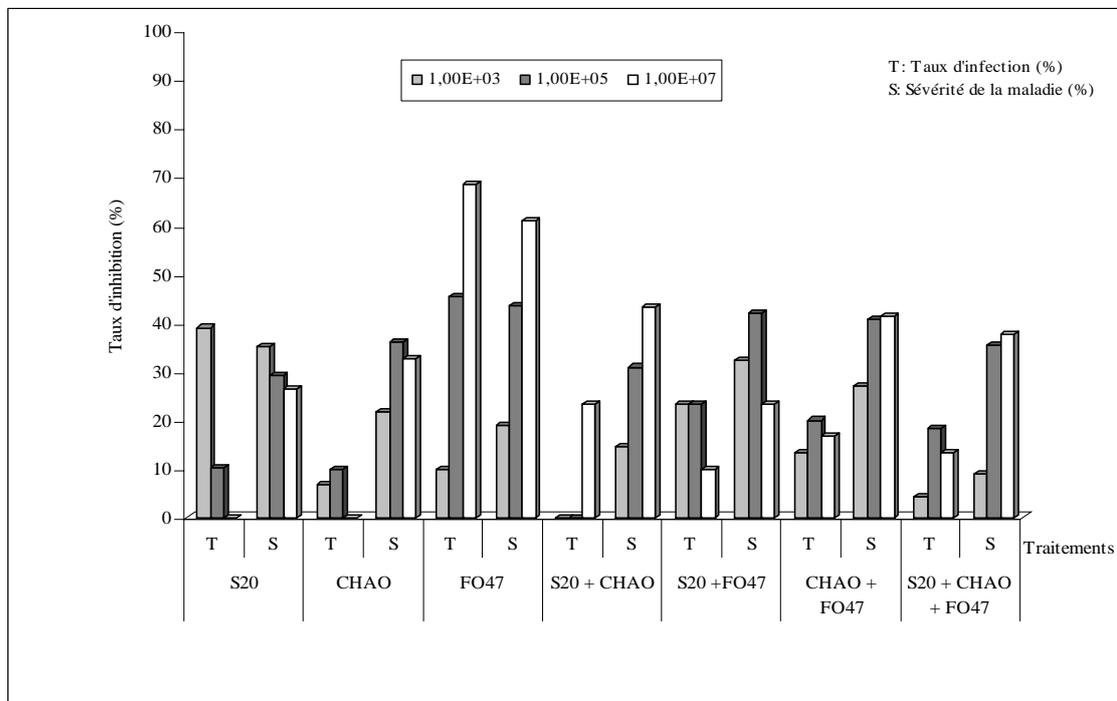
Avec l'augmentation de la concentration du pathogène à  $10^5$  conidies / g de sol, la maladie s'est accrue et la présence d'antagonistes n'a permis de réduire la maladie que faiblement où l'isolat fongique a été associé avec l'une des bactéries où les deux en provoquant des taux d'inhibition allant de 18,33 % à 23,33 %. L'application de l'isolat FO47 seul a montré une meilleure protection et le taux d'infection enregistré n'a pas dépassé 54,6 %, soit une inhibition de la maladie de 45,33 % (Tableau 5.9 et Figure 5.20). Lors de l'infestation du sol avec le pathogène à la concentration de  $10^7$  conidies /g de sol, un constat similaire au précédent a été noté avec plus de progression à la maladie, à l'exception du traitement où l'isolat FO47 à été appliqué seul en induisant une protection appréciable de l'ordre 68,33 % (Figure 5.9, Tableau 5.20).

Globalement quelque soit la concentration du pathogène, même si les taux d'infection étaient relativement élevés, néanmoins la sévérité a été nettement réduite et dans la quasi-totalité des traitements les symptômes observés sont de l'indice 2. Ceci est illustré par les taux de sévérité enregistrés qui étaient nettement inférieurs par rapport au témoin qui a dépassé 78 % (Tableau 5.9 et Figure 5.20).

**Tableau 5.9** : Effet de l'apport des inoculum antagonistes sur la maladie.

Traitements	Concentration de FOL(F)						
	$10^3$		$10^5$		$10^7$		
<b>S20</b>	(T)	61,05 ± 40,75	(d)	90 ± 10,33	(a)	100	(a)
	(S)	41,19 ± 11,21		53,42 ± 3,58		57,64 ± 8,42	
<b>CHAO</b>	(T)	93,33 ± 11,55	(a)	96,67 ± 5,77	(a)	100	(a)
	(S)	50,09 ± 4,41		48,42 ± 5,31		52,71 ± 2,53	
<b>FO47</b>	(T)	90	(a)	54,66 ± 50,65	(c)	31,67 ± 38,84	(c)
	(S)	51,67 ± 2,89		42,77 ± 6,74		31 ± 12,53	
<b>S20 + CHAO</b>	(T)	100	(a)	100	(a)	76,66 ± 25,17	(ad)
	(S)	53,57 ± 3,57		52,5 ± 4,33		44,17 ± 6,29	
<b>S20 + FO47</b>	(T)	76,67 ± 5,77	(c)	76,67 ± 40,41	(b)	90,00 ± 10,00	(a)
	(S)	46,67 ± ,82		45,00 ± 05,00		45,83 ± 1,44	
<b>CHAO + FO47</b>	(T)	86,67 ± 15,28	(b)	80,00 ± 20,00	(b)	83,33 ± 5,77	(b)
	(S)	46,67 ± 3,82		45,00 ± 5,00		45,83 ± 1,44	
<b>S20 + CHAO + FO47</b>	(T)	95,83 ± 7,22	(a)	81,67 ± 16,07	(b)	86,67 ± 11,55	(ab)
	(S)	58,21 ± 14,62		48,78 ± 5,77		45,00 ± 2,50	
<b>Témoin</b>	(T)	100	(a)	100	(a)	100	(a)
	(S)	63,89 ± 2,40		75,68 ± 3,57		78,33 ± 5,20	

(T) : taux d'infection ; (S) : sévérité de la maladie ; Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le teste de Newman- Keuls « PPAS = plus petite amplitude significative ». La comparaison des traitements a été réalisée indépendamment, pour chaque concentration du pathogène ( $10^3$  ou  $10^5$ , ou  $10^7$  conidies / g de sol).

**Figure 5.20** : Inhibition (%) de la réceptivité du sol vis-à-vis de FOL(F).

- Apport du glucose et d'EDTA :

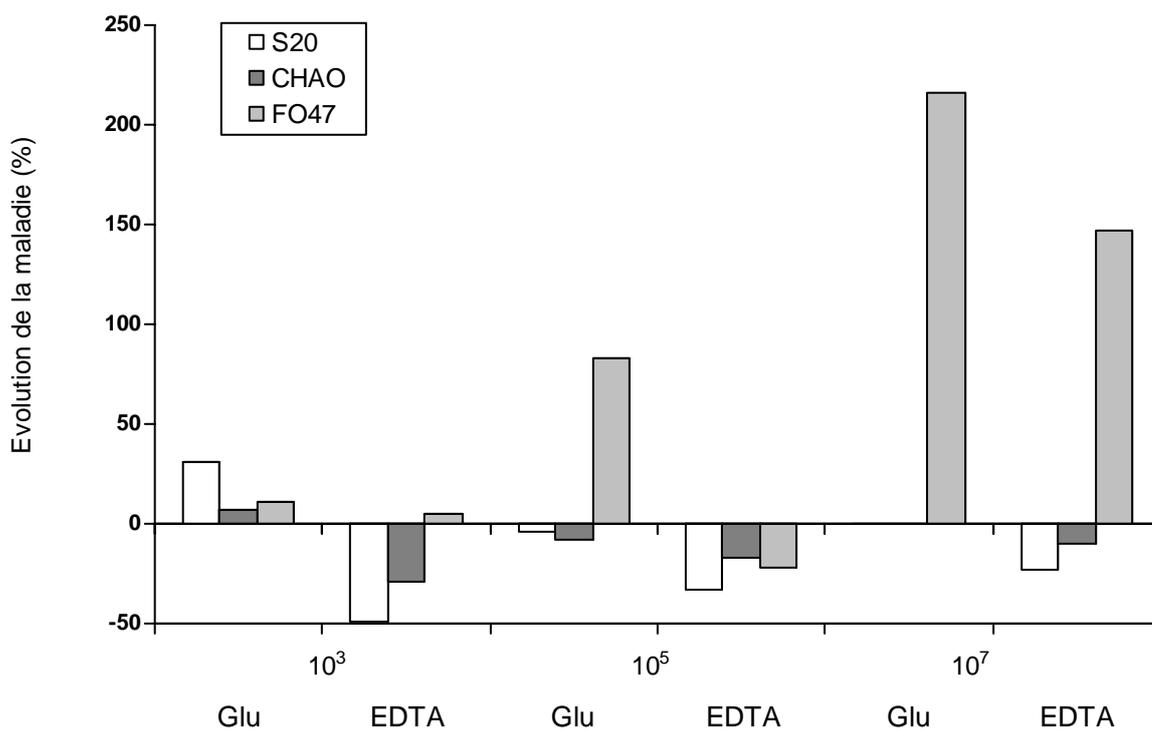
Les amendements en glucose ont provoqué sensiblement une augmentation des taux et des sévérités de la maladie, par rapport aux témoins, même en présence des souches antagonistes. L'incorporation du glucose a influencé positivement la maladie, en effet dans la plupart des interactions la maladie s'est aggravée par rapport au témoin, donc l'activité antagoniste n'a pas été exprimée. Contrairement si avec les antagonistes bactériens, la variation de la maladie n'a pas subi de différences notables, avec l'isolat FO47 les variations étaient très importantes, notamment quand le pathogène a été appliqué aux concentrations de  $10^5$  et de  $10^7$  conidies /g de sol (Tableau 5.10 et Figure 5.21).

L'addition de l'EDTA a montré l'effet inverse que le glucose, en stimulant plus l'activité antagoniste bactérienne. Les résultats montrent une diminution de l'infection proportionnelle à la diminution de la concentration du pathogène. Avec l'isolat FO47, l'apport de cet élément chélateur de fer (EDTA) a aggravé la maladie (Tableau 5.10 et Figure 5.21).

**Tableau 5.10** : Effet de l'apport du glucose et d'EDTA sur la maladie

FOL(F) <sup>(a)</sup>	Amendements	Antagonistes		
		S20	CHAO	FO47
$10^3$	Témoin	61,05 ± 40,75 <sup>(b)</sup>	93,33 ± 11,55	90
	EDTA	31,25 ± 16,54 (-48,81)*	66,67 ± 5,77 (-28,57)	94,44 ± 9,62 (4,93)
	Glucose	80,00 ± 34,64 (31,04)	100 ( 7,15 )	100 (11,11)
$10^5$	Témoin	90	96,67 ± 5,77	54,66 ± 50,65
	EDTA	60,47 ± 16,50 (-32,81)	80 (-17,24)	42,46 ± 43,94 (-22,32)
	Glucose	86,67 ± 23,09 (-3,70)	88,89 ± 19,25 (-8,05)	100 (82,95)
$10^7$	Témoin	100	100	31,67 ± 38,84
	EDTA	76,67 ± 40,41 (0,00)	100 (-10,00)	78,33 ± 20,21 (147,33)
	Glucose	100 (-23,33)	90,00 ( 0,00)	83,33 (215,76)

\* : évolution de la maladie ( + : augmentation de la réceptivité ; - : diminution de la réceptivité ) ; EDTA : éthylène diamine tetraacetate ; <sup>(a)</sup> : concentration de FOL(F) ( $10^3$ ,  $10^5$ ,  $10^7$  conidies /g de sol) ; <sup>(b)</sup> : Ecart type de 60 répétitions



Glu : glucose ; EDTA : éthylène diamine tetraacetate ; 10<sup>3</sup>, 10<sup>5</sup>, 10<sup>7</sup> : concentration de FOL(F) (conidies /g de sol)

**Figure 5.21** : Effet des amendements (EDTA et glucose) sur la réceptivité du sol à FOL(F).

### 5.5.2 Sol naturel :

Que ce soit dans le sol B (Bouharoun) ou le sol C (Cherchell), nous avons noté une variation quantitative de l'expression de la fusariose sur les plants de tomate, estimée à travers le pourcentage des plants ayants atteints l'indice symptomatologique 4, correspondant au flétrissement généralisé irréversible. Dans le sol C, l'apport des antagonistes C7R12 ou FO47, séparément, n'a pas montré d'effet significatif sur la réduction de la réceptivité de ce sol à la maladie. Contrairement l'association de ces deux antagonistes a provoqué une nette régression dans l'expression de la fusariose vasculaire de la tomate, en induisant une inhibition dépassant 71 %. Dans le sol B, il n'apparaît pas d'effet très notable, suite à l'incorporation des deux antagonistes, sur la régression de la maladie, que ce soit séparément ou en association; les taux d'inhibition enregistrés varient de 10 à 21 % (Tableau 5.11 et Figure 5.22).

La sévérité de la maladie a été plus grave dans le sol B que dans le sol C (Figure 5.23), ceci a été jugé à travers l'intensité des symptômes où aucun plant n'a atteint

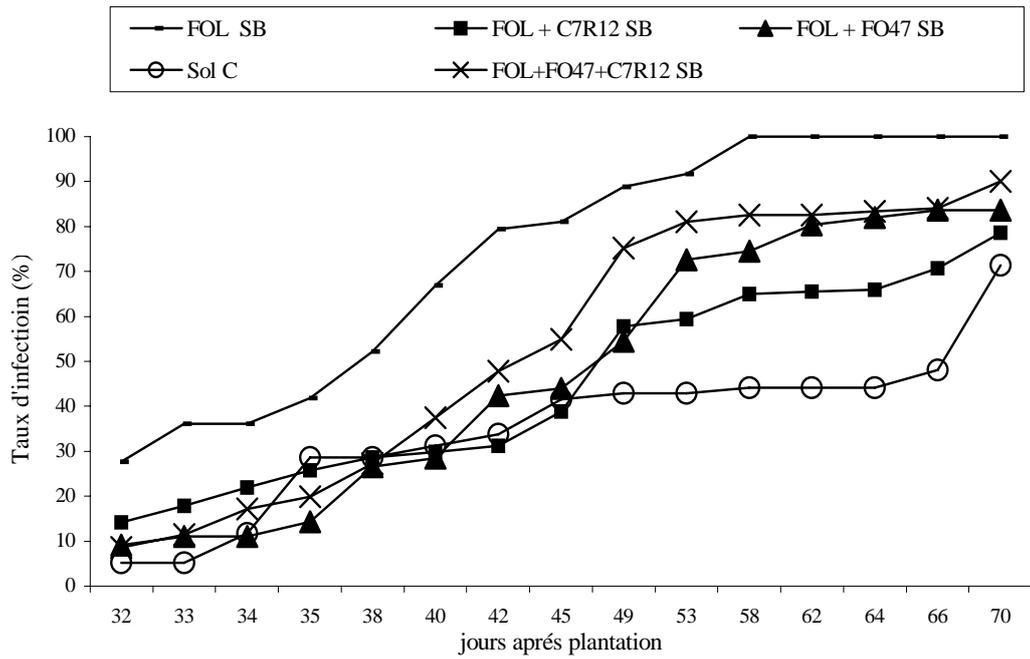
le stade ultime de la maladie, c'est-à-dire l'indice 4 correspondant à la mortalité totale du plant. Avec les plants traités par la combinaison des deux antagonistes (C7R12 + FO47) aucun plant n'a atteint l'indice symptomatologique 4 dans le sol C, par contre avec cette même combinaison dans le sol B il a été enregistré plus de 58 % de mortalité (Figure 5.24 et 5.25).

Dans les sols B et C, l'addition du pathogène a provoqué des mortalités importantes passant respectivement de 51 % à 94 % dans le premier et un effet moindre de 35 % à 37 % dans le second. La protection assurée par l'isolat FO47 est importante en sol B qu'en sol C, cependant en terme de sévérité l'effet inhibiteur est beaucoup mieux important en sol C (2,78 % de mortalité) qu'en sol B (75,55 % de mortalité). Avec des taux de mortalité assez élevés (51,65 % en sol B) et de (55,90 % en sol C) l'antagoniste bactérien C7R12 n'a pas montré de différence significative dans les deux types du sol (Figure 5.22 et 5.23).

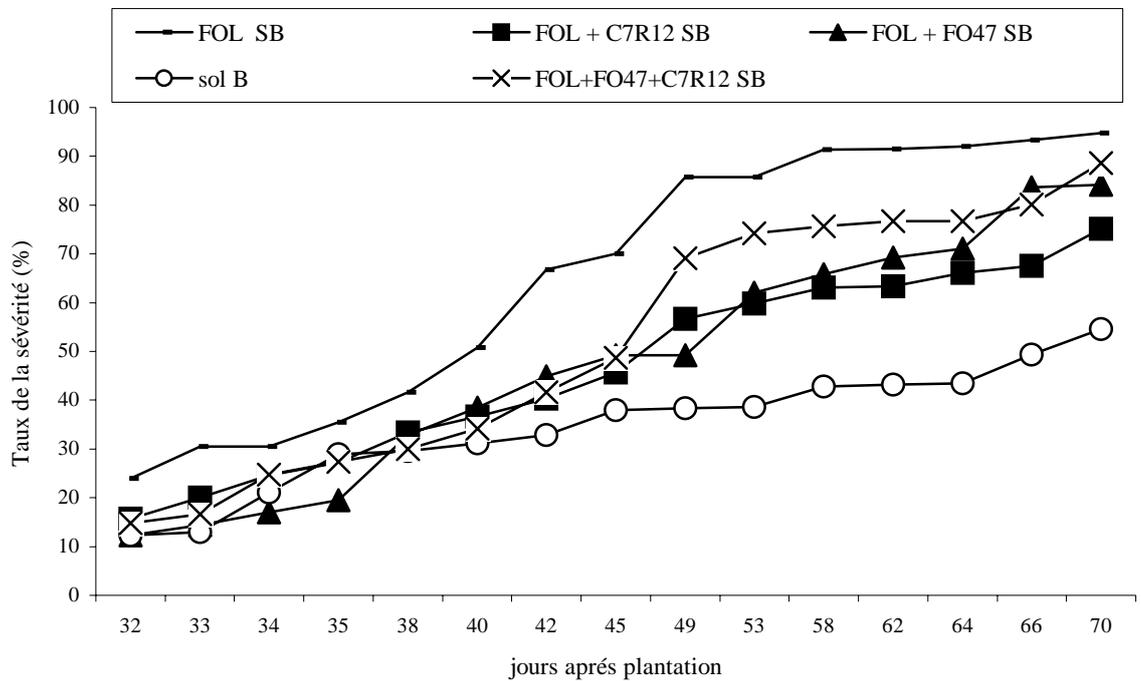
**Tableau 5.11** : Effet de l'apport des inoculums antagonistes sur l'infection (%).

Traitements	Taux d'infection (%)	Taux d'inhibition (%)	
sol C	70,37 ± 5.6		
sol B	71,42 ± 4.30		
FOL(F)- FO47 B	83,70 ± 21,84	16,30 ± 21,84	(b)
FOL(F)- FO47 C	92,73 ± 11,15	- 7,92 ± 25,57	(b)
FOL(F) B	100,00 ± 0,00		
FOL(F) C	82,98 ± 11,53		
FOL(F)- FO47 – C7R12 B	100,00 ± 0,00	10,00 ± 0,00	(b)
FOL(F)- FO47 – C7R12 C	24,09 ± 12,98	71,91 ± 11,05	(b)
FOL(F)- C7R12 B	78,65 ± 5,44	21,36 ± 5,44	(b)
FOL(F)- C7R12 C	69,34 ± 12,34	16,95 ± 41,45	(b)

- : aggravation de l'infection ; + : inhibition de l'infection; Les valeurs suivies de la même lettre ne présentent pas une différence significative selon le teste de Newman- Keuls « PPAS = plus petite amplitude significative »

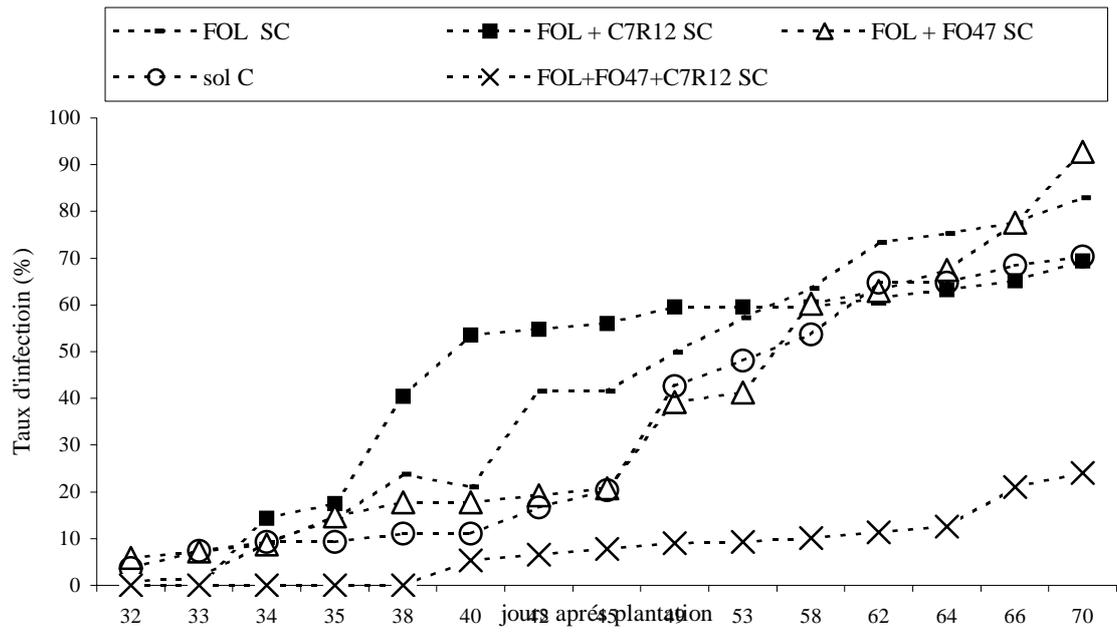


(a) : taux d'infection

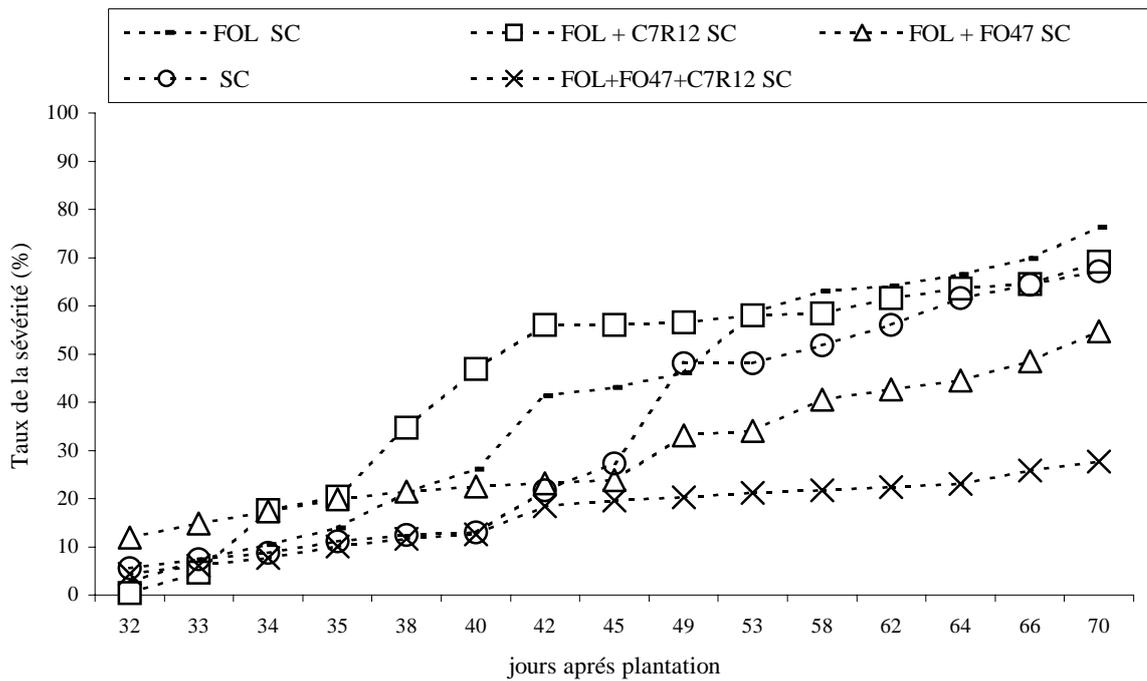


(b) : taux de la sévérité

**Figure 5.22:** Evolution des taux d'infection (a) et de sévérité (b) dans le sol (B) « Sol de Bouharoun »

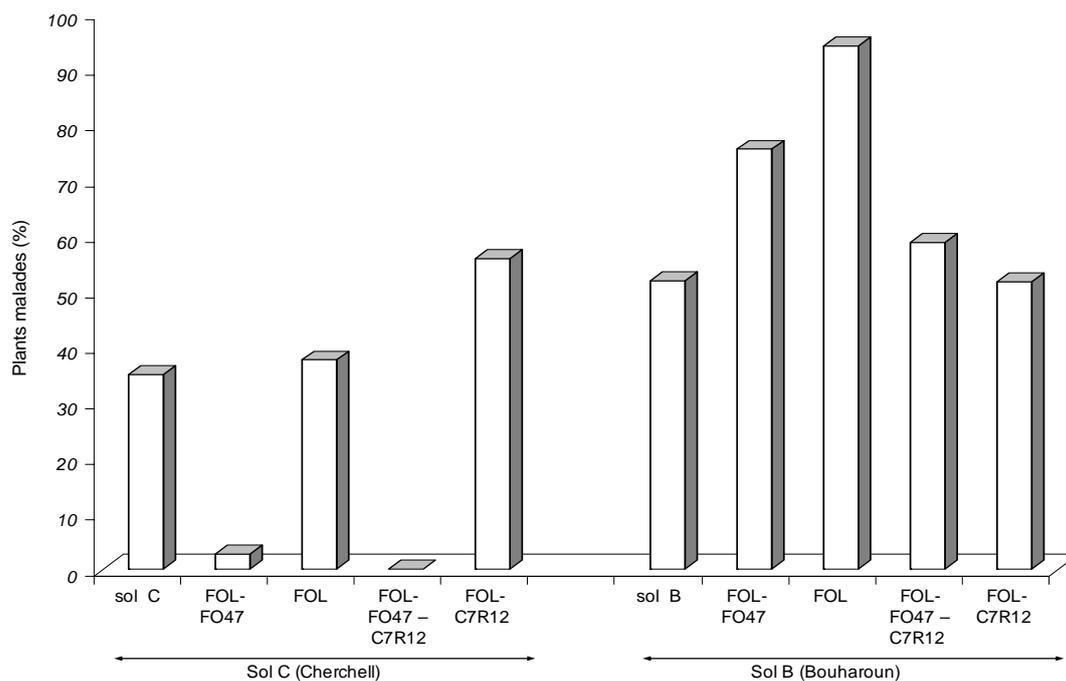


(a): taux d'infection



(b): taux de la sévérité

**Figure 5.23:** Evolution des taux d'infection (a) et de sévérité (b) dans le sol (C) « Sol de Cherchell »



**Figure 5.24 :** Effet de FOL (F) sur la mortalité des plants (%).

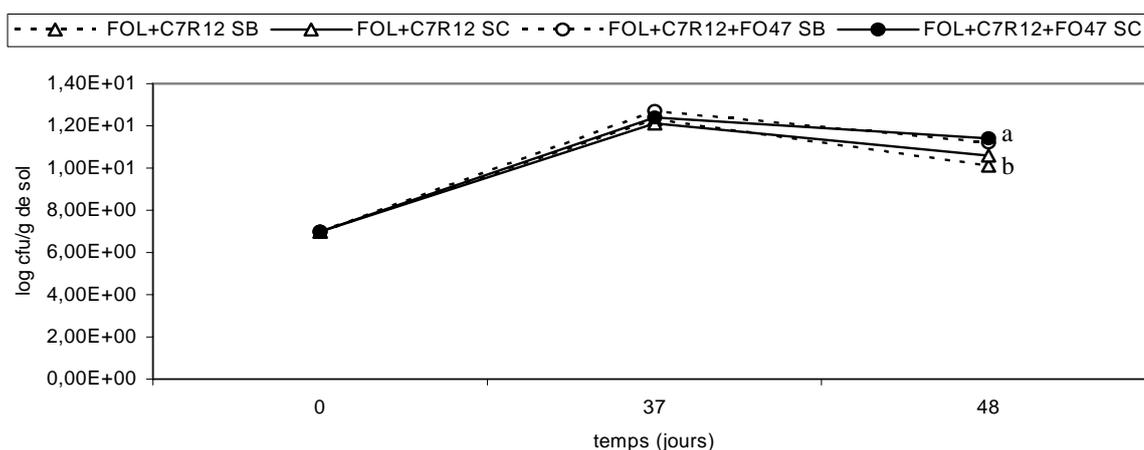


1 : Sol (C) de Cherchell ; 2, 3 et 4 : sol (B) de Bouharoun  
1 : Fol + FO47 ; 2 : C7R12 + Fol ; 3 : FO47 + Fol ; 4 : Fol (Témoin)

**Figure 5.25 :** Comportement des plants dans les sols infesté et inoculés par les antagonistes.

Le dénombrement effectué dans les traitements associés à la souche C7R12, apportée initialement à la densité de  $10^7$  cfu /g de sol, fait apparaître une évolution assez importante de cette souche. Durant la première période, la distribution de C7R12 s'est montrée très élevée et homogène pour l'ensemble des traitements, atteignant une densité de  $10^{12}$  cfu /g de sol. Pour la seconde période, après 48 jours de la bactérisation des plants, les densités les plus élevées ont été enregistrées avec l'interaction C7R12+ FO47 a une concentration de  $10^{11}$  cfu /g de sol. Il est à noter que la colonisation bactérienne a été relativement plus importante dans le sol (C) que dans le sol (B) (Figure 5.26).

De même, des vérifications sur des échantillons de sols, aléatoirement prélevés, des différents traitements, ont montré que les agents fongiques sont toujours actifs et présentent un développement important (Tableau 5.12).



**Figure 5.26 :** Evolution des populations bactériennes (C7R12) dans le sol.

**Tableau 5.12 :** Evolution des populations fongiques dans le sol.

Traitements	Observation macroscopique	Observation macroscopique
FOL C	-	+++
FOL B	+++	+++
sol C	-	+
sol B	-	+++
FOL - R7B12 C	-	+
FOL - R7B12 B	+++	+++
FOL - R7B12 -FO47C	++	+++
FOL - R7B12 -FO47B	++	++
FOL - FO47 C	-	+++
FOL - FO47 B	+++	+++

- : absence du développement fongique ; + : faible développement ; ++ : léger développement ; +++ : développement important

### 5.5.3. Biostimulation de la physiologie des plants :

Lors de la réalisation des expériences de cette dernière partie, nous avons constaté que les effets de bioprotection, assurés par les antagonistes appliqués, procurent aux plants de tomate une activation physiologiques. Cette phytostimulation s'est traduite à travers les accroissements enregistrés, par rapport aux témoins, notamment en terme de gains en biomasse aérienne (poids frais et sec), en amélioration de l'alimentation azoté (Teneur en azote) et la stimulation de l'activité chlorophyllienne (chlorophylle A et B) (APPENDICE C). Ces activités physiologiques stimulées peuvent être le fruit de la régression ou de l'élimination du symptôme, tout en activant la physiologie générale de la plante et son métabolisme.

### 5.5.4. Interprétation des résultats :

L'évaluation de la réceptivité des sols, à travers le taux d'infection sur la plante hôte sensible (tomate) dans des conditions d'environnement favorables et avec un sol connu, a montré que la souche phytopathogène FOL(F) influence directement le degré de sévérité des dommages. En effet, à n'importe quelle densité de départ du pathogène, les taux d'infections enregistrés ont montré qu'il y a une infection de la totalité des plants (témoin). La gravité de la maladie a augmenté rapidement avec l'accroissement de la concentration du pathogène, traduisant une forte réceptivité de ces sols à la fusariose vasculaire de la tomate. L'inoculation du sol avec les antagonistes microbiens S20, CHAO et FO47, a permis de constater une régression relative de la maladie selon leur application individuelle ou en combinaison. Globalement, l'antagoniste fongique FO47 a assuré une meilleure protection des plants, par rapport aux antagonistes bactériens, en induisant des inhibitions même avec l'augmentation de la densité du pathogène. Dans ces mêmes conditions, la comparaison entre les effets des antagonistes bactériens montre que la souche S20, isolée localement, est plus performante que la souche modèle CHAO. En observant les résultats obtenus dans le sol désinfecté, nous constatons que la co-inoculation de ces microorganismes (combinaison de deux ou trois antagonistes) a un effet meilleur sur l'amélioration du niveau de protection, notamment par l'association *Pseudomonas fluorescens* et l'isolat FO47 de *Fusarium oxysporum* non pathogène.

Dans nos conditions expérimentales, l'apport du glucose et de l'EDTA dans le sol a induit un effet direct sur l'incidence de la maladie. L'addition du chélateur du fer (EDTA)

diminue la gravité de la maladie chez les témoins et les plants inoculés par les souches bactériennes alors qu'il l'a accentué dans le sol inoculé avec l'isolat FO47. De même pour le glucose, son addition dans le sol accroît l'activité du pathogène. Avec l'introduction de un ou plusieurs antagonistes, à l'exception de l'interaction FO47 + FOL(F) à  $10^3$  conidies /g de sol, l'addition du glucose a affecté positivement la maladie.

Il en ressort que la réceptivité de nos sols peut être régulée principalement par le type de l'agent antagoniste et secondairement par les apports trophiques, notamment l'EDTA. Scher et Baker, [119] ont pu augmenter le niveau de la résistance de certains sols, soit par apport de chélates de synthèse, soit par introduction de ce type de bactéries. La régression de l'infection peut être attribuée au rôle de la microflore antagoniste dans l'augmentation de la résistance du sol. Le rôle de ces deux types de microorganismes a été associé directement à la spécificité de la résistance naturelle du sol de Châteaurenard (France) à la fusariose vasculaire [22]. Ainsi le contrôle plus intégré de la fusariose vasculaire par l'utilisation des *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Fusarium oxysporum* non pathogène est démontré dans plusieurs travaux (25, 56, 69, 78, 131, 144).

Même dans un sol résistant, le pathogène introduit conserve ses potentialités pathogéniques; il se trouve que la résistance ne détermine pas la destruction du pathogène, mais elle dépend des mécanismes de régulation des populations microbiennes dans le sol. Il a été démontré particulièrement, que la compétition nutritive pour le fer et le carbone conditionne le niveau de la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire [69, 78, 232].

Dans les conditions de carence en fer, la germination et/ou l'élongation des tubes germinatifs des chlamydospores de *F. oxysporum* est très faible en présence de certaines souches de *Pseudomonas* et de leurs pseudobactines purifiées ou de l'EDDHA (éthylène, diamine o-hydroxyphényl, acide acétique). L'ion  $Fe^{3+}$  est donc un facteur limitant pour le développement de *Fusarium oxysporum* et des *Pseudomonas* spp. fluorescents; ces dernières sont les plus compétitifs [21, 56, 60, 69, 85, 93].

Le manque de fer, nécessaire aux cytochromes de la chaîne respiratoire, pourrait entraîner l'utilisation d'autres voies d'oxydations des hydrates de carbone moins efficaces que la voie normale. Les plantes peuvent utiliser le complexe fer-sidérophores, elles se développent normalement à une concentration beaucoup plus faible en fer ( $10^{-3}M$ ), que

celle exigée par les bactéries ( $10^{-6}$ M), qui s'explique par les mécanismes de stockage élevé du fer dans les organismes supérieurs, et l'efficacité avec laquelle les plantes peuvent acquérir cet élément [180, 213].

La compétition pour le fer rentrait ainsi encore plus ardue la compétition pour le carbone, particulièrement pour les formes pathogènes, qui y paraissent plus sensibles que les saprophytes. En effet, l'activité de l'isolat F047 est due principalement à sa forte densité dans le sol [20, 232]. Les amendements du sol en carbone, cultivé en tomate et bactérisés par la souche *P. Putida* Pp G7, augmente la densité de la population bactérienne de 26 à 29 fois, respectivement en sol non rhizosphérique et en sol rhizosphérique [238]. L'apport du glucose a provoqué une activation de 3 à 4 fois plus des fonctions respiratoires chez les rhizobactéries [28]. Il a fallu ajouter 5 à 10 fois plus de glucose au sol résistant qu'au sol sensible pour obtenir des taux de germination équivalents et un développement comparable des populations microbiennes. Ceci confirme que le pouvoir fongistatique est beaucoup plus élevé dans le sol résistant que dans le sol sensible [202, 213, 214, 227, 259].

La transmission de la résistance ayant d'abord fait l'objet de nombreux essais en conditions expérimentales étroitement contrôlées, à cet effet nous avons voulu tester la validité de nos résultats en sol anciennement cultivé en tomate, naturellement contaminé par la fusariose vasculaire. Les résultats obtenus montrent que l'application de *Pseudomonas fluorescens* C7R12 et de l'isolat non pathogène F047 de *Fusarium oxysporum* induit des effets significatifs sur l'inhibition de la fusariose vasculaire de la tomate.

Afin d'expliquer l'effet de la compétition énergétique sur le comportement du pathogène, nous avons pensé qu'il serait intéressant de voir s'il existe une relation entre l'inhibition de l'infection et la colonisation racinaire des plantules de tomate. Même si la technique appliquée pour le dénombrement bactérien ne reflète pas la biomasse microbienne réelle [126, 185], elle peut permettre cependant des comparaisons entre nos traitements expérimentaux. Dans la première période, (37 jours après bactérisation), nous avons enregistré un accroissement des populations bactériennes allant jusqu'à plus de  $10^{12}$  cfu /g de sol et entre  $10^{10}$  –  $10^{11}$  cfu /g de sol après 49 jours de la bactérisation. D'ailleurs cette souche, C7R12, est utilisée dans de nombreuses études relatives à la compétence rhizosphérique. Selon Raaij-makers *et al.*, [167], une bonne colonisation rhizosphérique se

traduit par une densité de  $10^5$  cfu /g de sol; donc nous pouvons confirmer que cette souche colonise efficacement les sols expérimentés B et C (Bouharoun et Cherchell) et ceci en présence du pathogène.

A l'issue de ces résultats, le suivi de la dynamique des populations de la souche C7R12 et la présence de l'isolat F047 dans les deux types du sol a permettent de dire que nos antagonistes s'installent et s'adaptent dans les deux types de sols sol (B) ou sol (C), qui sont deux sols cultivés intensément en tomate et réceptifs à la fusariose vasculaire. Nos résultats confirment, aussi que ces antagonistes ont l'aptitude de se développer dans des environnements telluriques différents.

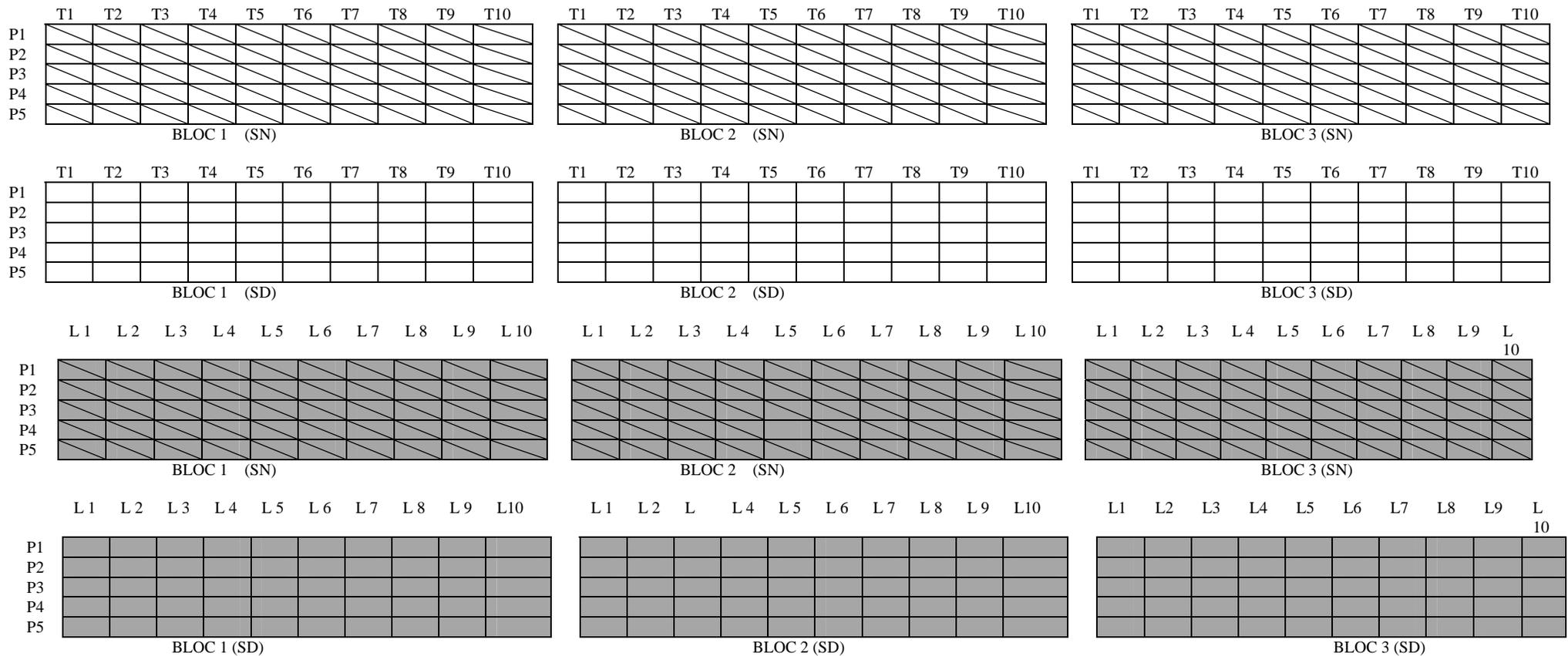
Généralement, les travaux consacrés aux mécanismes de résistance des sols aux maladies, considèrent la dynamique d'une souche particulière de *Pseudomonas* au niveau du sol ou de la rhizosphère comme l'un des principaux critères de sélection des souches antagonistes bénéfiques [106, 119, 206]. En effet la colonisation des racines d'une plante hôte par une souche ou un mélange de plusieurs souches dépendrait de la nature des microorganismes et de leurs activités métabolique en interaction avec la plante hôte [28]. Ceci suggère penser qu'une flore composée de champignon (s) et de bactéries (s) procurer plus d'aptitude pour occuper le maximum de site colonisables au niveau de la plante hôte, par conséquent d'empêcher l'initiation des infection racinaires. Ceci encourage de penser à utiliser dans ce contexte de lutte microbiologique une combinaison de plusieurs types de microorganismes puisque une bonne compatibilité a été notée entre nos antagonistes.

Les taux de mortalité enregistrés dans le sol B, malgré la stabilité de la densité de l'inoculum bactérien, peut être expliqué par l'effet du milieu édaphique sur l'activité antagoniste qui intervient grandement dans la colonisation. Il a été mi en évidence que la production de sidérophores pourrait être réduite ou inhibée, de même pour d'autres activités métabolique bactériennes qui dépendent de l'azote, de la texture et de la concentration en CO<sub>2</sub> du sol [238].

La balance microbienne tellurique est contrôlée par les propriétés physicochimiques du sol [166, 233]. La faible efficacité de nos souches dans le sol (B) comparativement au sol (C) peut s'expliquer par ses propriétés physicochimiques notamment par la teneur en eau de ces sols (APPENDICE C). De nombreux travaux

insistent sur le rôle déterminant de l'humidité et de l'aération du sol sur le développement de la microflore tellurique [5, 110, 120, 165, 215, 226]. En ce qui concerne les *Pseudomonas*, Dupler et Baker, [206] ont montré que la colonisation du sol est proportionnelle à sa forte humidité qui conditionne l'établissement, la délivrance et la dynamique des populations rhizobactériennes, entourant la semence ou au niveau de la rhizosphère [121].

Nom du document : Chapitre 5.4  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : 5  
Sujet :  
Auteur : MESSAOUD  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 14:27:00  
N° de révision : 3  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 13:44:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition :17 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:17:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 14  
Nombre de mots : 3 383 (approx.)  
Nombre de caractères : 18 607 (approx.)



**Tomate**

- T1 : T- = témoin sain
- T2 : S20
- T3 : CHAO
- T4 : T+ = FOL
- T5 : S20+ FOL
- T6 : CHAO + FOL
- T7 : Fo47+ FOL
- T8 : CHAO + FO47 + FOL
- T9 : S20 + FO47 + FOL
- T10 : S20 + CHAO + FO47 + FOL

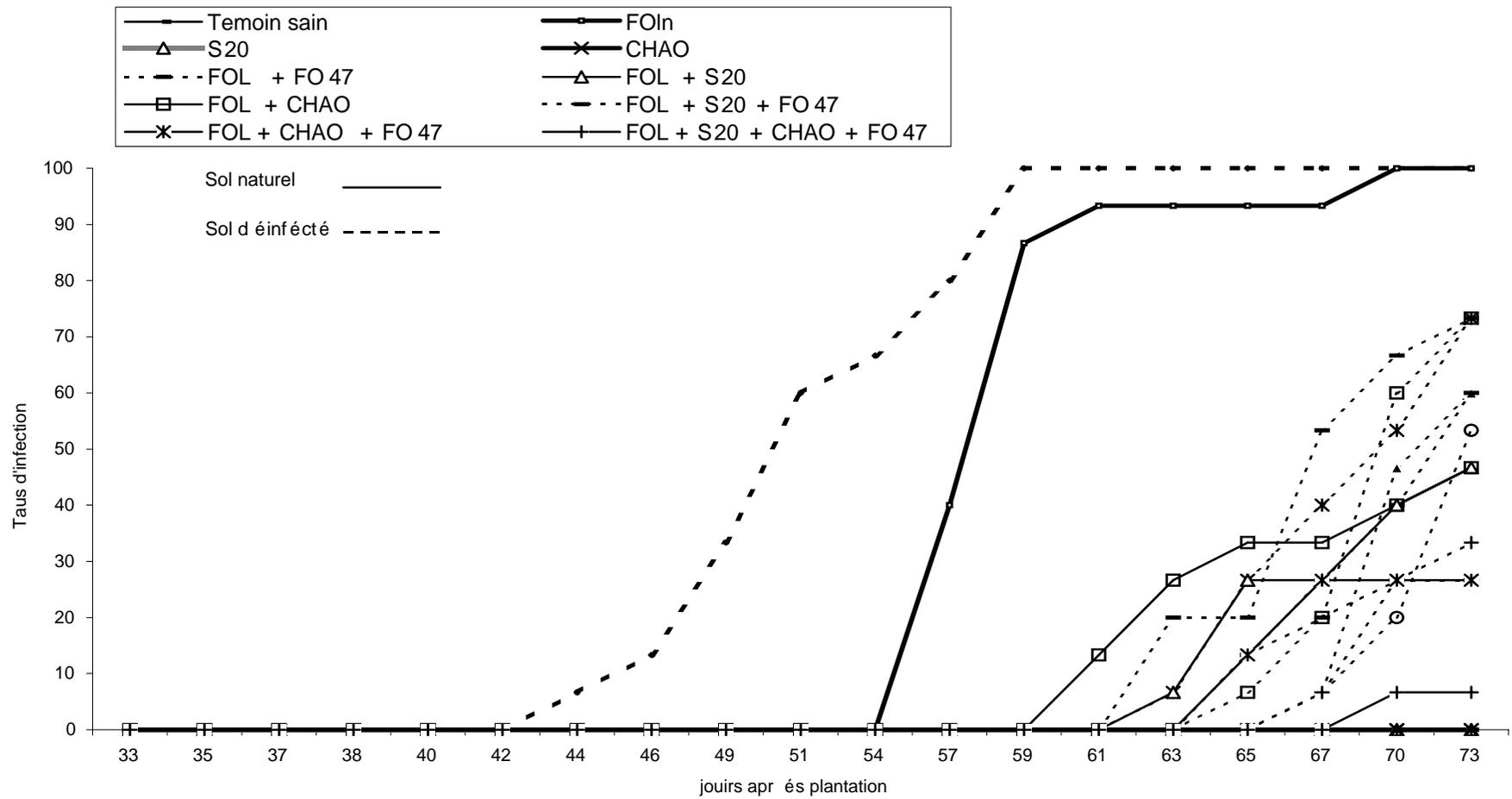
**Lin**

- L1 : T0 = témoin sain
- L2 : S20
- L3 : CHAO (F)
- L4 : T+ = FOIn
- L5 : S20+ FOIn
- L6 : CHAO + FOIn
- L7 : Fo47+ FOIn
- L8 : CHAO + FO47 + FOIn
- L9 : S20 + FO47 + FOIn
- L10 : S20 + CHAO + FO47 + FOIn

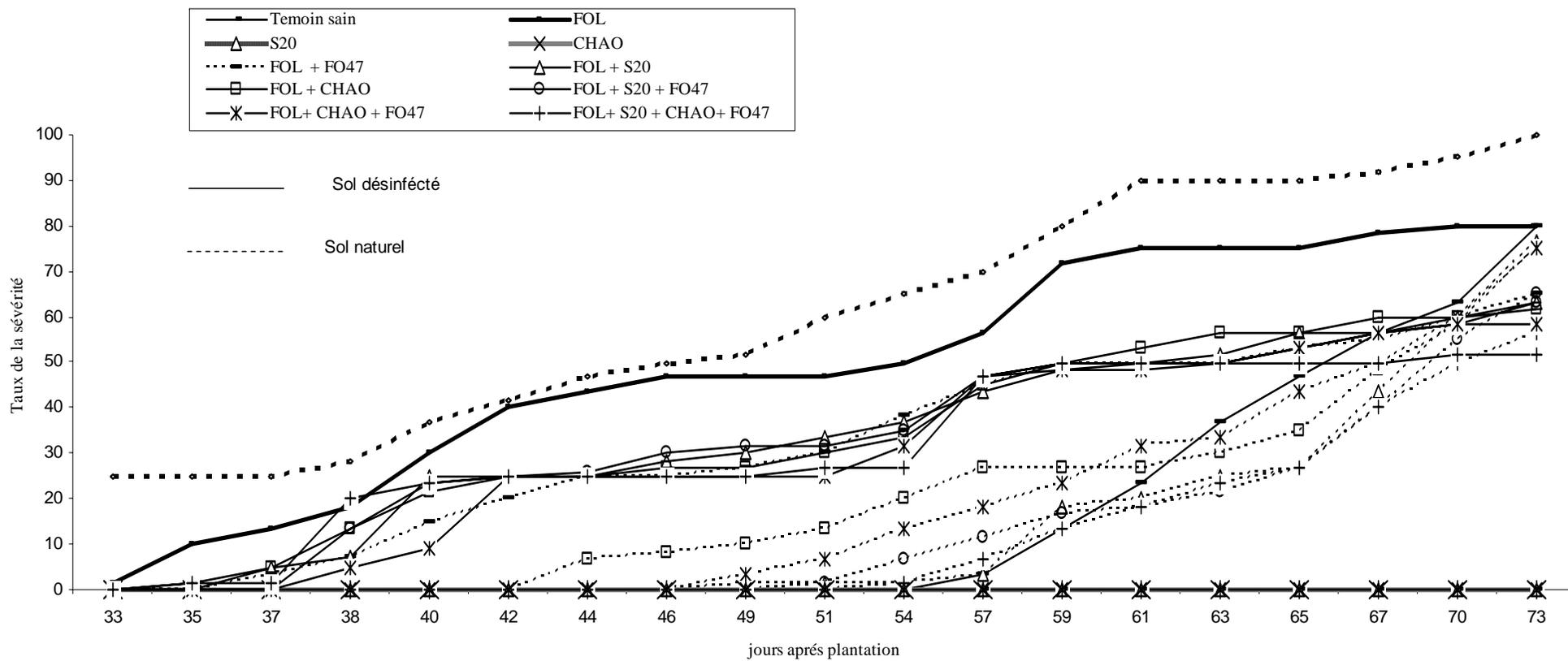
**Figure 4. 2:** Dispositifs expérimentaux des essais d'antagonisme *in situ* (essais de lin, de tomate, en sol naturel et en sol désinfecté). (SN = sol naturel; SD= sol désinfecté)



Nom du document : Figure 4.2  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : T1  
Sujet :  
Auteur : Poste7  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 08/09/2006 16:47:00  
N° de révision : 2  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 16:47:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition :4 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:19:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 2  
Nombre de mots : 341 (approx.)  
Nombre de caractères : 1 877 (approx.)



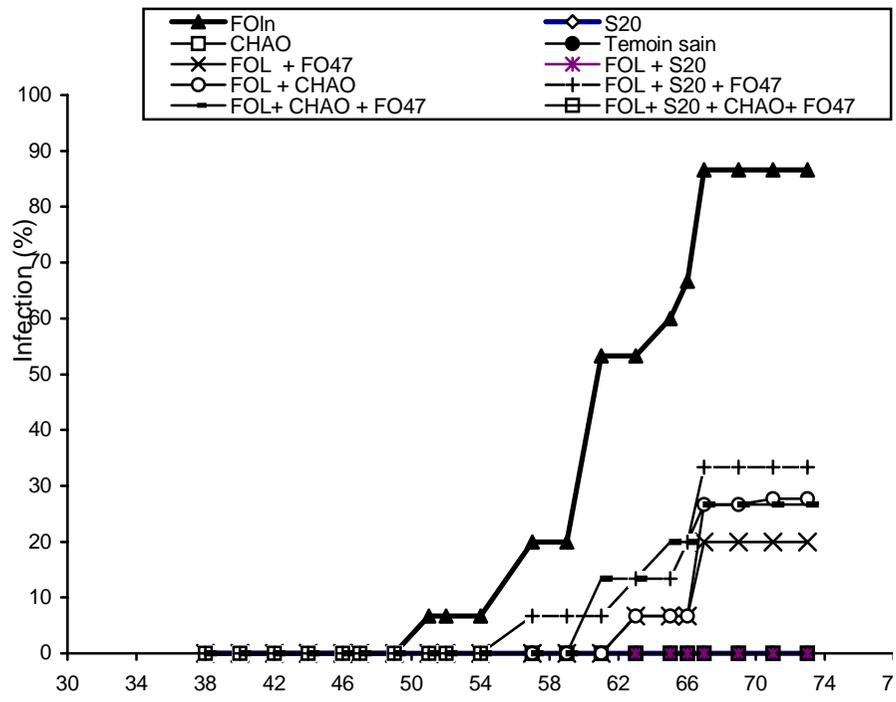
**Figure 5.5 :** Evolution de l'infection (%) de la fusariose vasculaire de la tomate



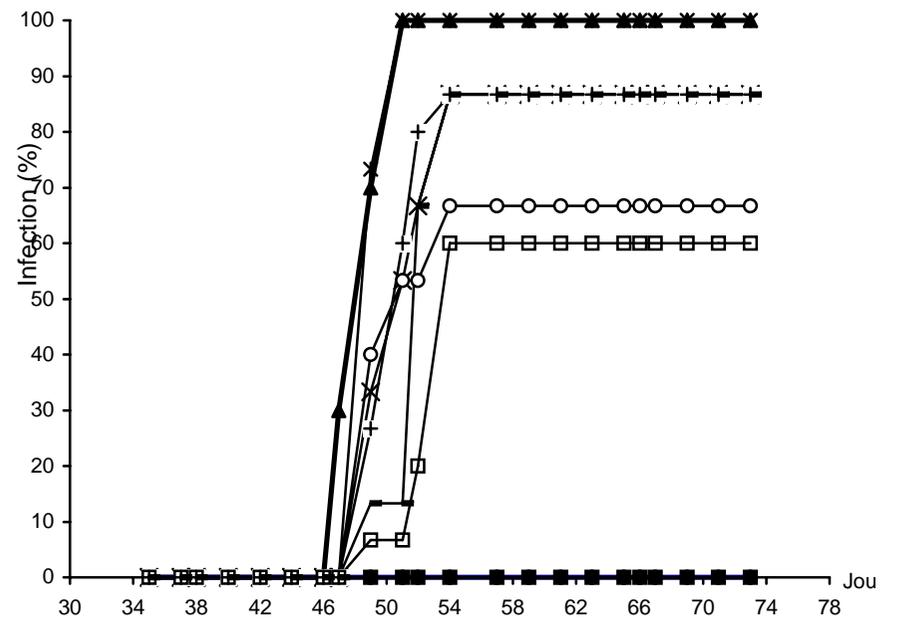
**Figure 5.6 :** Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate



Nom du document : Figure 5.5, 5.6  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre :  
Sujet :  
Auteur : Poste7  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 13:27:00  
N° de révision : 2  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 13:22:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition :6 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:20:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 3  
Nombre de mots : 35 (approx.)  
Nombre de caractères : 196 (approx.)



(Sol naturel)



(sol désinfecté)

**Figure 5.9 :** Evolution de l'infection des plants de lin en sol naturel et en sol désinfecté

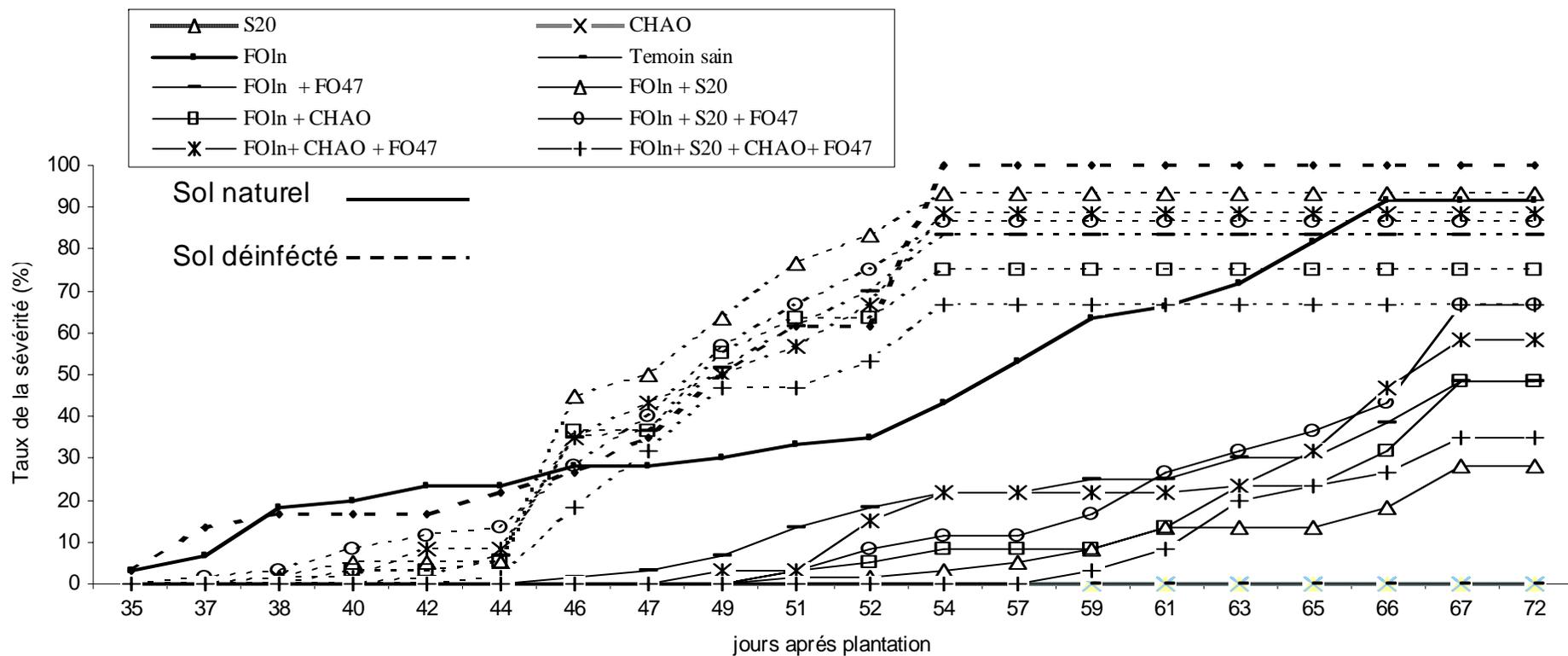


Figure 5.10 : Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire du lin.

Nom du document : Figure 5.9\_ 5.10  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre :  
Sujet :  
Auteur : Poste7  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 13:42:00  
N° de révision : 5  
Dernier enregistr. le : 08/09/2006 16:54:00  
Dernier enregistrement par : mscom  
Temps total d'édition :6 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:19:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 3  
Nombre de mots : 46 (approx.)  
Nombre de caractères : 254 (approx.)

## CONCLUSION

L'application de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (CHAO et S20) et de l'isolat fongique non pathogène (Fo47) de *Fusarium oxysporum*, dans des études sur les activités antagonistes microbiennes à l'encontre de deux formes spéciales de *Fusarium oxysporum*, à savoir *lini* et *lycopersici*, a permis de mettre en évidence leur potentialités de biocontrôle. Ces activités antagonistes ont été constatées à travers les interactions antagonistes – pathogènes. En premier lieu, les essais réalisés *in vitro* ont permis d'inhiber le développement et la croissance des agents fongiques phytopathogènes en inhibant la formation et la structure mycélienne, en second lieu en réduisant nettement le potentiel germinatif des structures conidiennes ainsi que de l'élongation des tubes germinatifs.

En effet, les taux d'inhibition des paramètres fongiques cités ci-dessus, ont atteint parfois des seuils dépassant 70 %, ce qui confirme le potentiel antagoniste des microorganismes testés. Il a été constaté que ce pouvoir antagoniste est fluctuant selon la variabilité des milieux de culture et selon la souche antagoniste. Globalement, les souches bactériennes sont plus actives que l'isolat fongique. La variabilité de la composition des milieux de culture, laisse supposer que les mécanismes d'action inhibiteurs sont variables. Dans ce sens, si les activités antagonistes enregistrées sur le milieu KB peuvent être attribuées au processus de synthèse de siderophores, les actions obtenues sur les deux autres milieux (PDA et mixte) ne favorisant pas la synthèse de ce métabolite, suggèrent l'implication d'autres mécanismes d'action notamment ceux relatifs à l'antibiose (synthèse de métabolites à effet antibiotique), du fait que la compétition trophique est exclue préalablement dans ces milieux qui sont très favorables au développement des phytopathogènes, d'ailleurs les résultats comparatifs obtenus chez les témoins sont largement meilleurs.

Les essais réalisés *in situ*, en interaction avec les plantes hôtes respectives, à savoir le lin pour (*F. o. f.p. lini*) et la tomate pour (*F. o. f.sp. lycopersici*), ont montré la possibilité de bioprotection de ces espèces végétales vis-à-vis des fusarioses vasculaires étudiées.

Cette bioprotection s'est exprimée à travers l'inhibition des maladies, en inhibant le processus infectieux quantitativement et qualitativement. L'aspect quantitatif a été marqué par une réduction notable du nombre de plants atteints, après leur inoculation par les pathogènes concernés; en effet la réduction de l'infection, tous traitements confondus, a atteint des seuils dépassant les 80 %, voire même une inhibition totale dans le cas de la fusariose du lin. Concernant l'aspect qualitatif, il a été exprimé à travers la réduction de la sévérité des deux maladies où la gravité symptomatologique a été nettement atténuée comparativement aux témoins respectifs.

La deuxième partie de notre expérimentation relative à la mise en évidence des activités de souches bactériennes S20 et CHAO et l'isolat fongique FO47 sur l'induction de la résistance systémique chez la tomate vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* a permis de constater que cette fois-ci la bioprotection n'est pas corrélée aux effets précédemment cités, du fait que il n'y pas de contact direct (Physique), entre l'antagoniste et le pathogène (système Split). Ce genre de bioprotection suggère l'activation des systèmes de défense de la plante (ISR) de façon systémique suite à la présence des antagonistes. Les essais comparatifs conduits selon le système classique, contact direct entre les antagonistes et le pathogène, ont montré des taux de bioprotection souvent plus élevés, traduisant un effet cumulatif de l'ensemble des mécanismes (antibiose + compétition trophique + ISR).

Dans la troisième partie de notre travail expérimental, concernant la réceptivité du sol à la fusariose vasculaire de la tomate, nous avons pu établir la notion de modulation de l'expression de la maladie à travers la variabilité microbiologique et les paramètres trophiques. L'équilibre entre la pathogène et les antagonistes a été expliqué à travers les concentrations croissantes du pathogène où il a été enregistré une nette régression du taux d'infection, même au niveau des plants atteints la maladie était de moindre gravité (jaunissement total mais pas de flétrissement et/ou de mortalité). La présence des antagonistes provoque des effets notables sur la contamination et l'infection des plants de tomate, donc il y a impact sur l'équilibre microbien dans le sol en faveur de la plante par inhibition soit de la croissance du pathogène ou en altérant ses capacités phytopathologiques.

Dans cette dernière partie, les apports en fer et en carbone ont permis d'observer des fluctuations des pouvoirs antagonistes, s'exprimant à travers la quantité et la qualité de la maladie, marquant ainsi l'effet positif de l'addition du glucose favorisant plus le pathogène, alors que l'incorporation de l'EDTA réprime le pathogène par le biais de la stimulation de l'activité bactérienne notamment en synthèse de sidérophores. Il est à signaler que plusieurs auteurs ont rapporté l'importance des mécanismes d'action qui sont variables mais demeurent sous la dépendance du métabolisme primaire microbien.

Relativement à la différence microbiologique entre nos trois antagonistes (origine fongique ou bactérienne), il a été constaté une meilleure intensité dans l'action de protection des plantes dans les traitements assurés avec l'association de deux et/ou des trois antagonistes. Ceci s'explique par la variabilité des mécanismes d'action connus chez des antagonistes, donc cette co-inoculation procure un effet synergétique qui peut conjuguer les effets d'antibiose (origine bactérienne) et les effets de compétition pour le carbone et les sites infectieux (origine fongique).

Cette étude souligne la diversité des mécanismes d'actions qui peuvent être exploités chez ce genre de microorganismes antagonistes, surtout pour lutter contre de telles pathogènes dont l'origine tellurique, l'action systémique et les potentialités de conservation et de transmission ne font qu'aggraver et de rendre même impossible l'efficacité de méthodes de lutte classique. Il faut aussi souligner l'importance des effets de bioprotection obtenus suite à l'association de plusieurs antagonistes, même s'il s'agit de deux types différents (champignon et bactéries). Cette association peut procurer d'une part une complémentarité dans les effets, en plus du cumul, voire même des actions synergiques pour de meilleures actions de biocontrôle.

Il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations relatives à la mise en œuvre des mécanismes antagonistes, en prospectant mieux les aspects microbiologiques (trophiques et adaptatifs dans le sol), sans omettre les possibilités de formulation et de conception des inoculums microbiens destinés à l'emploi pratique. Les inoculums microbiens bénéfiques peuvent apporter un plus aux méthodes classiques, diminuer le recours systématique aux pesticides chimiques et même participer activement dans la restauration de la fertilité des sols.

Nom du document : Conclusion  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : Conclusion  
Sujet :  
Auteur : microsot  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 06/09/2006 14:33:00  
N° de révision : 3  
Dernier enregistr. le : 07/09/2006 13:48:00  
Dernier enregistrement par : Poste7  
Temps total d'édition :4 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:19:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 3  
Nombre de mots : 1 105 (approx.)  
Nombre de caractères : 6 079 (approx.)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Conrath, U., Pieterse, C.M.J. and Mauch-Mani, B., "Priming in plant-pathogen interactions", *Trends Plant Sci.* 7, (2002), 210-216.
2. Kokalis-Burelle, N. J.W., Kloepper, M.S., Reddy, M.S., "Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms", *Applied Soil Ecology*, (2006), 91-100.
3. Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M.N., "Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria", *Nature*, (1980), 885-886.
4. Suslow, T.V., "Role of root colonizing bacteria in plant growth", *Phytopathogenic prokaryotes*, MS Mount, GH Lacy, eds. Acad Press, Londres, (1982), 187-223.
5. Weller, D.M, Howie, W.J, Cook R.J., "Relationships between *in vitro* inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and suppression of take ail wheat by fluorescent pseudomonads", *Phytopathology*, (1988), 1094-1100.
6. Reddy, M.S., "Biological control of plant diseases ESSO Ag biologicals", Innovation Blvd. Saskatoon, Saskatchewan S7N in press, (1992), 402-415.
7. Lemanceau, P., "Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : Exemples des *Pseudomonas* spp. Fluorescents", *Agronomie*, (1992), 413-437.
8. Benizri, E., Boudoin, E., Guckert, A., "Root colonisation by Plant Growth Promoting Rhizobacteria", *Biocontrol science and technology*, 5(11), (2001), 557-574.
9. Bakker, P.A.H.M et Pieterse, C.M.J., "Induction and expression of PGPR-mediated induced resistance against pathogens", *Molecular Approaches to Biological Control* (B.K. Duffy, U. Rosenberger and G. Défago, eds), IOBC/wprs Bulletin, 21 (9), (1998), 103-110.
10. Van Loon, L.C., "Occurrence and properties of plant pathogenesis-related proteins", *Pathogenesis-Related Proteins in Plants* (S.K. Datta and S. Muthukrishnan, eds), CRC Press, Boca Raton, FL, (1999), 1-19.
11. Thomashow, L.S., Bonsall, R.F., et Welter, D.M., "Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes *in situ*", *Manual of environmental microbiology*, Hurst, C.J., Washington, D.C, (1997), 493-500.
12. Gray, E.J., Smith, D.L. "Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes", *Soil Biology and Biochemistry*, (2005), 395-412.
13. Guo, J., Qi, H., Guo, Y., Ge, H., Gong, L., Zhang, L., Sund, P., "Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria", *Biological Control*, 29, (2004), 66-72.
14. Spadaro, D., Gullino, M.L., "Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens" *Crop Protection*, 24, (2005), 601-613.
15. Bais, H.P., Park, S. W et Weir, T. L., Callaway, R. M and. Vivanco, J.M., "How plants communicate using the underground information superhighway", *Trends Plant Science*, 9 (1), (2004), 26-32.
16. Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., El Mahjoub, M., "Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicalycopersici*", *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 9 (3), (2005), 163-171.
17. Ozbay, N and Steven, E., "Fusarium Crown and Root Rot of Tomato and Control Methods", *Plant Pathology Journal*, 3 (1), (2004), 9-18.
18. Kloepper, J.W., Tuzun, S., and Kuc, J.A., "Proposed definition related to induced disease resistance", *Biocontrol Science and Technology*, 2, (1992), 349 -351.
19. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Hoffland, E., Van Pelt, J.A. and Van Loon, L.C., "Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression", *Plant Cell*, 8, (1996), 1225-1237.

20. Alabouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P and Bakker, P.A.H.M., "Biological control of fusarium wilts: towards development of commercial products", *Plant-Microbe Interactions and Biological Control* (G.J. Boland and L.D. Kuykendall, eds), (1998), 15-36.
21. Couteaudier, Y., Alabouvette, C., "Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation to carbon utilization", *FEMS Microbiol.Ecol.*, 74, (1990), 261-67
22. Lemanceau, P., Alabouvette, C., "Suppression of Fusarium wilts by fluorescent Pseudomonads: mechanism and applications", *Biocontrol sciences and Technology*, (1993), 219-234.
23. Benhamou, N., Rey, P., Chérif, M., Hockenhull, J and Tirilly, Y., "Treatment with the mycoparasite, *Pythium oligandrum*, triggers the induction of defense-related reactions in tomato roots upon challenge with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*", *Phytopathology*, 87, (1997), 108-122.
24. Olivain, C., Trouvelot S., Binet M., Cordier, C., Pugin, A., and Alabouvette C., "Colonization of Flax Roots and Early Physiological Responses of Flax Cells Inoculated with Pathogenic and Nonpathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*", *Applied and environmental microbiology*, 69(9), (2003), 5453-5462.
25. Fuchs, J.G., Moëgne-Loccoz, Y and Défago, G., "Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato", *Plant Dis.*, (1997), 492-496.
26. Oliveira, E, Sieverding, E, Toros, D., "Interaction between three species of VAM fungi and an isolate of *Pseudomonas putida* on cassava", *Sylvia*, D.M., Hung, L.L, Graham, J.H, eds. Univ Florida, Gainesville, (1987), 216p.
27. Laterot , H., Rouxel, F., Davet, P., Mirleau, P., "Rieuf, Présence de la race 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dans les cultures de tomate au maroc", *Premier congrée de l'union phytologique méditerranéen pathogène*, 421-433.
27. Nelson, P.E., Dignani, M.C., Anaissie, E.J., "Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species", *Clin Microbiol*, (1994), 479-504.
28. Davet, P., "Vie microbienne duo I et production végétale", INR, Paris, 383 p.
29. Armstrong, G.M. and Armstrong, J.K., "Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases", in: Nelson, P.E., Toussoun, T.A.. and Cook, R.J. (Eds.) *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*, The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA. (1981) 391-399.
30. Groenewald, S.D., Vanden Berga, N., Walter, F.O. Marasas, B., Viljoen, A., "The application of high-throughput AFLP's in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* mycolog" research, in press, (2006), 1 - 9.
31. Kistler, H.C. "Genetic diversity in the plant pathogenic fungus, *Fusarium oxysporum*", *Phytopathology*, 87, (1997), 474-479.
32. Kistler, H.C., Alabouvette, C., Baayen, R.P., Bentley, S., Brayford, D., Coddington, A., Correll, J., Daboussi, M.J., Elias, K., Fernandez, D., Gordon, T.R., Katan, T., Kim, H.G., Leslie, J.F., Martyn, R.D., Migheli, Q., Moore, N.Y., O'Donnell, K., Ploetz, R.C., Rutherford, M.A., Summerell, B., Waalwijk, C. and Woo, S., "Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*", *Phytopathology*, 88, (1998), 30-32.
33. Katan, T., and Di Primo, P., Katan, T. and Di Primo, P. "Current status of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*: Supplement", *Phytoparasitica*, 27, (1999), 273-277.
34. Go´me, G.E ., Ruiz-Rolda, M. C., Di Pietro A., Roncero, M. I. G and Hera, C "Role in Pathogenesis of Two Endo-β-1,4-xylanase Genes from the Vascular Wilt Fungus *Fusarium oxysporum* Fungal" *Genetics and Biology*, 35, (2002), 213-222.
35. Bouhot, D., Rouxel, F., et Louvet, J., "Première observation de la fusariose vasculaire de la tomate en France", *Ann. Phytopathologie*, 412, (1972), 187-191.
36. Ito, S, Nagata A., Kai, T., Takahara H., Tanaka, S., "Symptomless infection of tomato plants by tomatinase producing *Fusarium oxysporum* formae speciales nonpathogenic on tomato plants", *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 66, (2005), 183-191.

- 37 Chang-Senk, P., Paulitz, T.C., and Beker., R, “Biocontrol of Fusarium wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*”, *Phytopathology*, 78, (1988), 190-194.
38. Kern, H., “Phytotoxins produced by fusaria. In *Phytotoxins in plant diseases*”, Edited by R.K.S. Wood, A. Ballio, and A. Graniti. Academic Press Inc., New York, N.Y., (1972)35-44.
39. Roger, L., “*Phytopathologie des pays chauds*”, Tome II. Paul Le chevalier, Paris, France. (1953), 1130-2256.
40. Baayen, R. P., “reponses to lignification intervascular periderm”, Formation in carnation and resistant to fusarium wilt carnation *journal of Botany*, 66, (1988), 784-792.
41. Gianni, P., Christakopoulos, P., Olsson, L., “influence of different cultivation conditions on the metabolome of *Fusarium oxysporum*”, *Journal of Biotechnology*, 118, (2005), 304–315.
42. Turlier., M. F., Eparvier, A., and Alabouvette, C., “Early dynamic interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. lini and the roots of *Linum usitatissimum* as revealed by transgenic GUS-marked hyphae”, *Can. J. Bot.* 72, (1994), 1605-1612.
43. Louvet, J., Rouxel, F., Alabouvette, C., “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”, *Microbiol.*, (1976), 107,319 -328.
44. Walker, J. C., “*plant pathologie*”, 3rd edit, (1961). 819p.
45. Jones, J. P., Engelhard, A. W., Woltz. S.S., “Management of Fusarium wilt of vegetables and ornamentals by macro-and microelement nutrition”, In *soil borne plant pathogens. Management of diseases with macro and microelements*, A. W., Engelhard Ed, Am Phytopathol-soc., Saint Paul, Minnesota, (1985), 18-32.
46. Pecault, P., Latterot, H., “perspectives sur la sélection de variétés de tomate résistantes aux maladies”, *Genetica Agraria*, 20, (1966), 110- 120.
47. Agrios, G., “*Plant Pathology*”, 4<sup>ième</sup>, Academic Press, New York, (1997), 635p.
48. Alexander, D.B and Zuberer, D.A., “Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria”, *Biol. Fertil. Soils*, 12, (1991), 39-45.
49. Ailton, R., Costa, H., Leonardo, Boiteux, S., Carlos, A., “Lopes First Report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 on Tomato in Brazil *Fitopatol*”, *Bras*, 30(4), (2005), 426- 428.
50. Bentley, S., Pegg, K.G., Moore, N.Y., Davis, R.D. and Buddehagen, I.W. “Genetic variation among vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* analyzed by DNA fingerprinting”, *Phytopathology*, 88, 293-1293.
51. Elias, K.S., and Schneider, R.W., “Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*”, *Phytopathology*, 81, (1991), 159-162.
52. Marlatt, M. L. Correll, J.C., and Kaufmann, P., “Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 3 in the United States”, *Plant Dis.*, 80, (1996), 1336-1342.
53. Toussoun, T.A., “Fusarium-suppressive soils”, See Ref. 31, 145p.
54. Beckman, C.H., “Colonization of the system of plants by fungal with pathogens: a basis of modelling the interactions between host and parasite in time and space, in vascular wilt diseases of plants”, (Tjamos, E. C. and Beckman, GH, Edsl. *Spinger-verlag, Heidelberg, Berlin.*, (1989), 19-32.
55. Gindrat, D., “La fusariose vasculaire de la tomate de plein champ en Suisse”, *Rev. Suisse. Vitic, Arboric. Hortic*, (1975), 69-72.
56. Couteandier Y., “Competition for carbon in soil and rhizosphere, a mechanism involved in biological control of Fusarium wilts”, ùIn Tjamos EC, Papavizas AC, Cook RJ, Eds, *Biological control of plant disease*, (1992), 99-104.
57. Semal, J., “*Traité de pathologie végétale*”, Gembloux Belgique; Presses agronomiques de Gembloux, (1989), 621p.

58. Anchisi, M., Genanari, M., Matta, A., "Retardation of Fusarium Wilt symptom in tomato by pre- and post- inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot water", *physiological plant pathology*, 26, (1985), 175-183.
59. Beliaro, A., Luong, L., Balma, V., Pezza, L., orazza, L., "Fusarium wilt of inter meon", *Plnt. Pathol.*, (1998), 80:252.
60. Powell, J.f., Vargas, J.M, Nair, M.G, Detweiler, A.R, Chandra ,A., " Management of dollar spot on creeping bentgrass with metabolites of *Pseudomonas aureofaciens* (TX-1)", *Plant Disease* 84, (2000),19-24.
61. Nelson, L. M., "Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants", Online. *Crop Management* doi:10.1094/CM-2004-0301-05-RV (2004).
62. Schroth, M.N., Hildenbrand, D.C., "Influence of plant exsudates on root-infecting fungi", *Annu Rev Phytopathol* 2, (1964), 101-132.
63. Delorme, S., Lemanceau, P., Christen, R., Coberand,T., Meyer, J.M., Gardan, L., "*Pseudomonas lini* sp.nov,a novel species from bulk and rhizospheric soils", *Int.j.syst. Bacteriol.*, (2002), 513-523.
64. El Modafar, C., Tantaoui, A., El Boustani, E., "Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase activity in date palm roots in response to inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* and to elicitation with fungal wall elicitor", *Plant Physiol*, 158, (2001), 715-722.
65. Brochard, P., Dubost, D., "Progression du bayoud dans la palmeraie d'In-Salah (Tidikelt, Algérie) ", *Al Awamia*, (1970),143-153.
66. Bounaga, N., "Germination de microconidies et macroconidies de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*", *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord*, (1975), 39-44.
67. Bulit, J., Bouhot, D., Louvet, J., Toutain, G., "Recherches sur les fusarioses. I. Travaux sur le bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier en Afrique du Nord", *Annales des Epiphyties*, 18, (1967), 213-239.
68. El Chorfi, A., El Idrissi., M.A., "Etude du comportement du herni *Lawsonia inermis* et de la luzerne *Medicago sativa* et quelques espèces de palmacées vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*, agent causal du Bayoud" , *Annales de l'institut national de la recherche agronomique de Tunisie*, (1985), 58 , 1-91.
69. Alabouvette, C., Lemanceau, P., "Natural suppressiveness of soils in management of fusarium wilts", R. Utkhede and V. K. Gupta .Eds., *Management of soil-borne diseases*, Ludhiana, Inde., (1996), 301-322.
70. Rouxel, F., Alabouvette, C. et Louvet, J., "Recherches sur la résistance des sols aux maladies. II - Incidence de traitements thermiques sur la résistance microbiologique d'un sol à la Fusariose vasculaire du melon", *Ann Phytopathol.*, (1979), 183-192.
71. Barna, B., A., Sarhan., R.T., Kiraly, Z., "The influence of nitrogen nutrition on the sensitivity of tomato plants to culture filtrates of *Fusarium* and to fusaric acid", *Physiological Plant pathology*, 23, (1983), 257-263.
72. Scott, I.T., "The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of *Fusarium lycopersici* and on tomato wilt", *Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin*, 64, (1923).
73. Song, W., Zhou, L., Yang, C., Cao, X., Zhang L., Liu, X., "Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies", *Ahydroponic system Crop Protection*, 23, (2004), 243-247.
74. Aao J.R., Fenton M. et Jarvis B.D.W., "Symbiotic plasmid transfer in rhizobium leguminosarium biovar trifolii and competition between the inoculant strain (CMP 2163 and transfigant soil bacteria", *Soit biol. Biochem.*, 26, (1994), 339-351.
75. Maraitre, H., Meyer, J.A., et al, " la fusariose de la tomate. Symptôme race physiologique, lutte chimique et résistance variétale ", *Ann. Phytopathol.*, 52, (1973), 187- 202.
76. Maureau, C., " *Larousse des champignons*", ('Ed.) Flammarion, (1978) 327p.
77. Anchisi, M., Gennari, M., Matta, A., "Retardation of Fusarium wilt symptoms in tomato by pre- and post- inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot water", *Physiological Plant Pathology*, 26, (1985), 175-183.

78. Louvet J. Toutain, G., “ Recherche sur les fusarioses VII Nouvelles observations sur la fusariose du palmier dattier et précisions concernant la lutte”, Ann phytopathol, (1973), 35-52.
79. Bloemberg, G.V., Lugtenberg, B.J., “Molecular basis of plant growth promotion; and biocontrol by rhizobacteria”, Curr Opin plant soil, 4, (2001), 343-350.
80. Smith, S. N., Snyder, W. C., “Relationships of density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato”, Phytopathology, 61, (1971), 1049 – 1051.
81. Digat, B., “Contrôle biologique et stimulation de la germination par la bactérisation. *Phytoma*”. Défense des végétaux, 441, (1992), 34-38.
82. Alabouvette, C., “*Fusarium* wilt suppressive soils from châteaurenard region: review of a 10 years study”, Agronomie, 6(3), (1986), 273 -284.
83. Essalmani, H.H., Lahlou, M., “Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*”, Biologies, 326, (2003), 1163-1173.
84. Johansena, A., Knudsenb., M.B., Svend, Binnerupa, J., Windinga A., Johansena, J.E., Jensenc, L.E., Andersena, K. S., Svenningd, M.M., Torben, A., “BondeaNon-target effects of the microbial control agents *Pseudomonas fluorescens* DR54 and *Clonostachys rosea* IK726 in soils cropped with barley followed by sugar beet: a greenhouse assessment”, Soil Biology et Biochemistry, 37, (2005), 2225-2239.
85. Campbell, P. J., Kloepper, J.W ., Jones, J.B, Suslow, T.V, Wilson, M., “Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under Weld conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria”, Biological Control, 36, (2006), 358-367.
86. Percival, G.C., “Induction of systemic acquired disease resistance in plants:potential implications for disease management in urban forestry”, Journal of Arboriculture, 27(4), (2001).
87. Hervás, A., Landa, B., Datnoff, L.E., Jiménez-Díaz, R.M., “Effects of commercial and indigenous microorganisms on *Fusarium* wilt development in chickpea”, Biological Control, 13, (1998), 166-176.
88. Huang, Y., Wong, PTW., “effet of *Burkholderia* (*Pseudomonas*) *cepecia* and soil type on the controle of crown rot in wheat”, Plant and soil, 203, (1998), 103-108.
89. Hebbar, K.P., Martel, M.H., Heulin, T., “Suppression of pre- and post-emergence damping-off in corn by *Burkholderia cepacia*”, European Journal of Plant Pathology, 104, (1998), 29-36.
90. Singh, P.P.S., Shin Y.C., Parc, C.S, Chung,YR., “biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolotique bacteria”, Phytopathology, 89, (1999), 92-99.
91. Chérif, M., and Benhamou, N., “Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*”, Phytopathology, 80, (1990), 1406-1414
92. Chin-A-Woeng, T., Bloemberg, G.V., Van der Bij, A., Van der Drift, K.M.G.M., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R.J., Keel, C., Bakker, P.A.H.M., Tichy, H.V., De Bruijn, F.J., Thomas-Oates, J.E. and Lugtenberg, B.J.J., “Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*”, Mol. Plant-Microbe Interact, 11, (1998), 1069-1077.
93. Hoefnagels, M.H et Linderman, RG., “Biological suppression of seed-borne *Fusarium* spp. During cold stratification of Douglas fir seeds”, Plante diseases, 83, (1999), 845-852.
94. De Boer, M, van der Sluis, I, Van Loon, L.C, Bakker, P.A.H.M., “Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of *Fusarium* wilt of radish”, European Journal of Plant Pathology 105, (1999), 201–210.
95. Duijff, B. J., Poulain, D., Olivain, C., Lemanceau, P., “Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and by non pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47”, Eur. J. Plant Pathol. , (1998), 903-910.
96. Larkin, R.P., Hopkins, DL., Martin, FN., “Ecology of *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* wilt of watermelon”, Phytopathology, 83, (1993 ),1105-1116.

97. Polonenko, D.R., Scher, F.M., Kloepper, J.W., Singleton, C.A., Laliberté, E.M., Zaleska, I., "Effects of root colonizing bacteria on nodulation of soybean mofs by *Bradyrhizobium japonicum*", *Can J Microb*, 33, (1987), 498-503
98. Larkin, R.P., Fravel, D.R., "Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of fusarium wilt of tomatoes", *Plant Dis*, 82, (1998), 1022-1028.
99. St-Arnaud, M., Hamel, C., Vimard, B., Caron LM, Fortin, J.A., "Inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in the non-VAM species *Dianthus caryophyllus* by co-culture with *Tagetes patula* companion plants colonized by *Glomus intraradices*", *Canadian Journal of Botany*, 75, (1997), 998-1005.
100. de Cal, A., Garcia-Lepe, R., Pascual, S., Melgarejo, P., "Effects of timing and method of application of *Penicillium oxalicum* on efficacy and duration of control of Fusarium wilt of tomato", *Plant Pathology* 48, (1999), 260-266.
101. Davanlou, M., Madsen, A.M., Madsen, C.H., Hockenhull, J., "parasitism of macroconidia, chlamydospores and hyphae of *Fusarium culmorum* by mycoparasitism *Pythium* species", *Plant pathology*, 48, (1999), 352-359.
102. Mao, W, Lewis, J.A, Hebbar, K.P, Lumsden, D., "Seed treatment with a fungal or a bacterial antagonist for reducing corn damping-off caused by species of *Pythium* and *Fusarium*", *Plant Disease*, 81, (1997), 450-454.
103. Walsh, U., Morrissey, J.P., O'Gara, F., "*Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to commercial exploitation", *Current Opinion in Biotechnology*, 12, (2001) 289-295.
104. Gamalero, E., Lingua, G., Berta, G., Lemanceau, P., "Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria", *Agronomie*, 23, (2003), 407-418.
105. Voisard, C., Bull, C., Keel, C., Laville, J., Maurhofer, M., Schnider, U., Défago, G., Haas, D., "Biocontrol of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: current concepts and experimental approaches", In: *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms*. F O'Gara, D Dowling, B Boesten. eds., VCH, Weinheim, (1994), 67-89.
106. Benchabane, M., "Caractérisation des effets d'antagonisme Microbienne et De promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents", Thèse Doctorat d'état, FSB-UTHB, Alger, (2005), 235p.
107. Rovira, A.D., "Interactions between plant roots and soil microorganisms", *Annu RevMicrobiol*, 19 , (1965), 241-266.
108. Rovira, A.D., Davey, C.B., "Biology of the rhizosphere", *The plant root and ils environment* .EW Carson, ed, Univ Press Virginia, Charlottesville, (1971), 153-204.
109. Höfte, M., Buysens, S., Koedam, N., Cornelis, P., "Zinc effects siderophore-mediated high affinity iron uptake systems in the rhizosphere *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2", *Bio / metals*, (1993), 85-91.
110. Howie, W.J, Cook, R.J, Weller, D.M., "Effects of soil matric potential and cell mobility on wheat root colonization by fluorescent pseudomonads suppressive to take-all", *Phytopathology*, 77, (1987), 286-292.
111. Lugtenberg,B.J.J.,Dekkers,L.,Bloemberg,V.G.. Molecular determinants of rhizosphe colonization by *Pseudomonas*. *Ann .Rev .Phytopathol.*, (2001), 461-49 1.
112. Lynch, J.M., Whipps. J.M., "substrate flowin the rhizosphere. In the rhizosphere and plant grow" (Keister D.L., and Gregan B., eds.) Beltsville sympos" In *Agric Res* 14, Kluwer, Dodrecht. The Netherlands, (1976), 15-24.
113. Weller, D.M., "Effects of wheat genotype on root colonization by a take-all suppressive strain of *Pseudomonas fluorescens*", *Phytopathology*, 76, (1986).
114. Palleroni, N.J., "Gram-negative aerobic rods and cocci: family I *Pseudomonadaceae*, Krieg, Holt, William and Wilkings", Eds., *Bergey's manual of bacteriology*, William and Wilkins, Baltimore, (1984) 141-168.
115. Delorme, S., Edel-Herman, V., Deuleuvot, C., Mougél, C., Lemanceau, P., "Comparative genetic diversity of the narG, nosZ and 16S rRNA gene in fluorescent pseudomonads", *App Env Microb* 2, (2003), 1004-1012.

116. Curl, E.A., "The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease", *Plant dis.*, 66, (1982), 624-630.
117. Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M.N., "*Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils", *Curr Microbiol*, 4, (1980), 317-320.
118. Digat, B., "Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes : Le cas des *Pseudomonas* .The plant growth promoting rhizobacteria", An example with *Pseudomonas*, *C.R. Acad. Agric., Fr*, 80, (2), (1994), 125-140.
119. Scher, F.M, Baker, R., "Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of suppressiveness to *Fusarium*-wilt pathogens", *Phytopathology* , 72, ( 1982), 1567-1573.
120. Cook, R.J., and Baker, K.F., "The natural and Practices of biological control of plant pathogens", *American phytopathological Society*, St Paul, (1983), 539 p.
121. Digat, B., "Anew encapsulation technology for bacterial inoculants and seed bacterization. In *Plant Growth-Promoting rhizobacteri*", *Progress and Prospects*, C. Keel, B. Koller, and G. Défago, (eds.), *IOB/WPRS Bulletin XIV / 8*, (1991), 383-391.
122. Waxlin, F., "Contribution à l'étude de l'action des *Pseudomonas* fluorescents : action sur la croissance et le développement de plantes horticoles", *Mémoire ENITH*, Angers, (1982).
123. Van Wees, S.C.M., De Swart, E.A.M., Van Pelt, J.A., Van Loon, L.C. and Pieterse, C.M.J., "Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 97, (2000), 8711-8716.
124. Haas. D., Galimand. M., Gamper, M., Zimmermann, A., "Arginine network of *Pseudomonas aeruginosa*: Specific and global controls", *Pseudomonas Biotransformations, Pathogenesis, and Evolving Biotechnology* (S Silver, AM Chakrabarty, B Iglewski, S Kaplan, eds), *Am Soc Microbiol*, Washington, DC, (1990), 303-313
125. Grayston, S.J., Stphens, J.H., Nelson, L.M., "Field and grennhouse studies on growth promotion of spring wheat inoculated with co existent rhizobacteria", *plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects*. C. Keel , B. Koller , and G. Défago , eds, *Int. Org. Biol. Control Noxions Anim, plants/West, palaerctic Reg. Sec. Bull*, 1418 (1991), 11-16.
126. Rodelas, B., Salmeron, V., Martinz - Toledo, M. V., Loper, G.J., "Production of vitamins by *Azospirillum brasilense* in chemically defined media", *Plant Soil*, 153, (1993), 97 - 101.
127. Crowley, E., Reid, C.P.P., Szaniszlo, P.J., "Microbial siderophores as iron sources for plants", *Mon transport in microbes plants and animais* ,G Winkelmann, D Van der Helm, JB Neilands, eds, *VCH, Weinheim*, (1987), 375-385.
128. Demange, P., Wendenbaum, S., Bateman, A., Dell, A., Abdallah, M.A., "Structure and physiochemical properties of pyoverdins and related compounds", *Iron transport in microbes, plants and animals*, *Weinheim : VCH*, (1987), 167-187.
129. Briat, J.F., Vert, G., "Acquisition et gestion du fer par les plantes", *Cahiers d'agriculture*", 13(2), (2004), 183-201.
130. Rahman, K.M., Majid-Khan, S., "Effects of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato", *Bioresource Technology*, 85, (2002), 213-215.
131. Welle, D.M., Raaijmakers, J.M., Gardener, M., and Thomashow, L.S., "Microhial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens", *Annu. Rev. Phytopathol.*, 40, (2002), 309-348.
132. Kloepper, J.W., "Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control Agents", In: *Metting B, ed. Soil Microbial Technologies*, New York: M. Dekker Inc., (1993), 255-274.
133. Wei, G, Kloepper, J.W, Tuzun. S., "Induction of systemic resistance with seed treatment by PGPR strains", In: *Plant growth-promoting-rhizobacteriaprogress and prospects*, C Keel, B Koller, G Defago, eds., *IOBC/WPRS, XIV/8*, (1991), 191-194.
134. Jeun, Y.C., Park, K.S., Kim, C.H., Fowler, W.D., Kloepper, J.W., "Cytological observations of cucumber plants during induced resistance elicited by rhizobacteria", *Biological Control*, 29, (2004), 34-42.

135. Klarzynski, O. B., Fritig., “Stimulation des défenses naturelles des plantes”, C.R. Acad. Sci., Paris, Sciences de la vie / Life Sciences, 324, (2001), 953–963.
136. Jetiyana, K., Kloepper, J.W., “Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases”, *Biological Control*, 24, (2002), 285–291
137. Liu, L., Kloepper, J. W., and Tuzun, S., “Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth- promoting rhizobacteria”, *Phytopathology*, 85, (1995), 843 – 847
138. Maurhauser, M., Hass, C., Meuwly, P., Metraux, J. P., Défago, G., “Induction of systemic resistance of tobacco to necrosis virus by the root- colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: Influence of the *gac A* gene and of pyoverdine production”, *Phytopathology*, 84, (1994), 139-146.
139. Zehnder, G.W., Murphy, J.F., Sikora, E.J., Kloepper, J.W., “Application of rhizobacteria for induced resistance”, *J Plant Pathology*, 107, (2001), 39-50.
140. Bakker, P.A.H.M., Ran, L.X., Pieterse, C.M.J., Van Loon, L.C., “Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases”, *Can. J. Plant Pathol.*, 25, (2003), 5-9.
141. Tuzun, S., Kloepper, J., “Practical application and implementation of induced resistance”, In: Hammerschmidt R, Kuc J, eds. *Induced resistance to disease in plants*, Dordrecht, Boston, London : Kluwer Academic Press, (1995), 152-168.
142. Van Peer, R., Niemann, C.J., Schippers, B., “Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp strain WCS417r”, *Phytopathology*, 81, (1991), 728-734.
143. Pervieux, I., Bourassaa, M., Lauransb, F., Richard, H., Se´guina A., “Aspruce defensin showing strong antifungal activity and increased transcript accumulation after wounding and jasmonate treatments”, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 64, (2004), 331–341.
144. Van Loon, L.C., “Systemic induced resistance. In: *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases*”, (A.J. Slusarenko, R.S.S. Fraser and L.C. Van Loon, eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, (2000), 521-574.
145. Alström, S., “Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads”, *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 37, (1991), 495-501.
146. Kavroulakisa, N., Ehaliotisa, C., Ntougiasa, S., Georgios, I., Papadopouloua, K. K., “Local and systemic resistance against fungal pathogens of tomato plants elicited by a compost derived from agricultural residues”, *Plant Pathology*, 66, (2005), 163-174.
147. Davies, K.G., Whitebread, R., “Factors affecting the colonization of a root system by fluorescent pseudomonads: the effects of water, temperature and soil microflora”, *Plant Soil* 116, (1989), 247-256.
148. Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V., Samiyappan, R., “Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria”, in crop plants against pests and diseases”, *Crop Protection*, 20, (2001).
149. Reitz, M., Oger, P., Meyer, A., Niehaus, K., Farrand, S.K., Hallman, J., Sikora, R.A., “Importance of the 0-antigen, core-region and lipid A of rhizobial lipopolysaccharides for the induction of systemic resistance in potato to *Gtobodera pallida*”, *Nematology*, 4, (2002), 73-79.
150. Leeman, M., Van Pelt, J.A., Den Ouden, F.M., Heinsbroek, M., Bakker, P.A.H.M. Schippers, B., “Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, using a novel bioassay”, *Eur. J. Plant Pathol*, 101, (1995), 655-664.
151. Van Wees, S.C.M., Luijendijk, M., Smoorenburg, I., Van Loon, L.C., Pieterse, C.M.J., “Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect on expression of known defense-related genes, but stimulates the expression of the jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge”, *Plant Mol. Biol.* 41, (1999), 537-549.
152. Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Ton, J., Van Pelt, J.A. Van Loon, L.C., “Signalling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*”, *Plant Biol.*, 4, (2002), 535-544.

153. Benhamou, N., Richard, R., Patrice Reyb, B., Oligandrin, Y.T., “the elicitor-like protein produced by the mycoparasite *Pythium oligandrum*, induces systemic resistance”, (2001).
154. Hoffland, E., Hakulinen, J. Van Pelt, J.A., “Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species”, *Phytopathology*, 86, (1996), 757-762.
155. Soylu, S., Bennett, M.H., Mansfield. J.W., “Induction of Phytoalexin Accumulation in Broad Bean ( *Vicia faba*L.) Cotyledons Following Treatments with Biotic and Abiotic Elicitors”, *Turk J Agric For.*, 26, (2002), 343-348.
156. Latour, X., Philippot, L., Corberand, T., Lemanceau, P., “The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonads in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type”, *FEMS Microbiol Ecol*, 30, (1999), 163-170.
157. M'Piga, P., Belanger, R.R., Paulitz, T.C., Benhamou, N., “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, (1997), 301-320.
158. Benhamou Benhamou, N., “Elicitor-induced plant defense pathways”, *Trends Plant Sci.*, 1, (1996), 233-240.
159. Benhamou, N., “Elicitor-induced plant defense pathways”, *Trends Plant Sci.*, 1, (1996), 233-240.
160. Zdor, R.E., Anderson, A. J., “Influence of root colonizing bacteria on the defense responses of bean”, *Plant Soil*, 140, (1992), 99-107.
161. Viebahn, M., “Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r: Molecular analysis of effects on microbial communities in the rhizosphere of wheat”, Ph.D, Thesis Utrecht University, ISBN, (2005), 90-393.
162. Duijff, B.J., Recorbet, G., Bakker, P.A.H.M., Loper, J.E., Lemanceau, P., “Microbial antagonism at the root level is involved in suppression of Fusarium wilt by the combination of non pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358”, *Phytopathology*, 89, (1999), 1073-1079.
163. Leeman, M., Den Ouden, F.M., Van Pelt, J.A., Dirx, F.P., Steijl, H., Bakker, P.A.H.M., Schippers, B., “Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*”, *Phytopathology*, 86, (1996), 149-155.
164. Duijff, B.J., Kogel, W.J., de, Bakker, P.A.H.M. Schippers, B., “Influence of pseudobactin 358 on the iron nutrition of barley”, *Soil Biol. Biochem.*, 26, (1994), 1681-1688.
165. Becker, J.O, Cook, R.J., “Role of siderophores on suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads”, *Phytopathology*, 78, (1988), 778-782.
166. D efago, G., and Hass, D., “Pseudomonads as antagonists of soil borne plant pathogens: Mode of actions and genetic analysis”, *Soil Biochemistry*, 6, (1990), 249-291.
167. Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M.M.P., Van der Sluis, I., Schippers, B., and Bakker, P.A.H.M., “Dose response relationships in biological control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp”, *Phytopathology*, 85 , (1995), 1075-1081.
168. Haas, D., Galimand, M., Gamper, M., Zimmermann A., “Arginine network of *Pseudomonas aeruginosa*: Specific and global controls”, In : *Pseudomonas* Biotransformations, Pathogenesis, and Evolving Biotechnology (S Silver, AM Chakrabarty, B Iglewski, S Kaplan, eds), Am Soc Microbiol, Washington, DC, (1990), 303-313.
169. Heming, B.C., “Microbial-iron interactions in the plant rhizosphere”, An overview, *J Plant Nutr.*, 9, (1986), 505-521.
170. Leong, J., “Siderophores: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens”, *Annu. Rev Phytopathol*, 24, (1986), 187-208.
171. Loper, J.E, Buyer, J.S., “Siderophores in microbial interactions on plant surfaces”, *Mol Plant-Microbe Interac* 4, (1991), 5-13.
172. Vestberg, M., Kukkonen, S ., Saari, K., Parikka, P., Huttunen, J., Tainio, L Devos, N., Weekers, F ., Keversd, C., Thonart, P ., Lemoine, M.C., Cordier, C., Alabouvette, C., Gianinazzi S., “Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry”, *Applied Soil Ecology*, 27, (2004), 243-258.

173. Meyer, J.M., Stinzi, A., Poole, K., “The ferripyoverdine receptor FpvA of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 recognizes the ferripyoverdines of *P. aeruginosa* PAO1 and *P. fluorescens* ATCC 13525”, FEMS Microbiol Lett, 170, (1999), 145-150.
174. Jesu, S, M.B., Van Der, D.K.M.G.M., Olsson, P.E., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C Bakker, P.A.H.M., “Analysis of the *pmsceab* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the strain *Pseudomonas Fluorescens* Wcs374”, Journal Of Bacteriology, (6), 183, (2001), 1909-1920.
175. Meyer, J.M., Abdallah, M.A., “The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physico-chemical properties”, J Gen Microbiol., 107, (1978), 319-328.
176. Palleroni, N.J., “Introduction to the family *Pseudomonadaceae*”, The prokaryotes, Springer Verlag, New York, (1992), 3071-3085.
177. Palleroni, N.J., “Gram-negative aerobic rods and cocci : family *I Pseudomonadaceae*”,. Krieg, Holt, William and Wilkings .Eds., *In* Bergey's manual of bacteriology, 1, William & Wilkins, Baltimore. (1984), 141-168.
178. Neilands, J.B., “Siderophores: Structure and function of microbial iron Transport compounds”, J. Biol. Chem., 270 , (1995), 26723-26726.
179. Teintze, M., Hossain, M.B., Barnes, C.L., Leong J., Van der, H.D., “Structure of ferripseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10”, Biochemistry, 20, (1981), 6446-6457.
180. Lemanceau, P., Bakker, P.A.H.M., Dekogel, W.J., Alabouvette, C., Schippers, B., “Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of fusarium wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47”, Appl. Environ. Microbiol., 58, (1992), 2978-2982.
181. O'Sullivan, D.J., and O'Gara, F., “Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in suppression of plant root pathogens”, Microbiol Rev., 56, (1992), 662-676.
- 182 Mercado-Blanco, J., Van der Drift, K.M.G.M., Olsson, P.E., Thomas-Oates, J.E., Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., “Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374”, J. Bacteriol, 183 , (2001),1909-1920.
183. Burr, T.J., Schroth, M.N., and Suslow, T., “Increased potato yields by treatment of seedpieces with specific strain of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*”, Phytopathology, 68, (1978), 1377-1383.
184. Sharma, A., Johri, B.N., “Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent *Pseudomonas* strain GRP3A IN MUNG BEAN *Vigna radiata* L. Wilzeck”, Microbiol Res., 158, (2003), 77-81.
185. Joyce, E., Loper, J., Carol E., Ishimaru, A., “Factors influencing siderophore mediated biocontrol activity of rhizosphere *Pseudomonas* spp”, The rhizosphere and plant growth”,. (1991), 253-261.
186. Meyer, J.M., Hallé, F., Hohnade, D., Lemanceau, P et Ratefiarivelo, H., “Siderophores of *Pseudomonas* - biological properties”,. G. Winkelmann, D. van der Helm and J. B. Neilands .Eds., *In* Iron transport in microbes, plants and animals, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, (1987), 188-205.
187. Van Peer. R., Van Kuik, A.J., Rattink. H., Schippers. B., “Control of *Fusarium* wilt in carnation grown on rockwool by *Pseudomonas* sp strain WCS417r and by Fe-EDDHA”. Neth J Plant Patho196, (1990), 119-132.
188. Misaghi, I., Grogan, R.G., “Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads”, Phytopathology 59, (1969), 1436-1450.
189. Keel, C., Schnider, U., Maurhofer, M., Voisard, C., Laville, J., Burger, U., Wirthner, P., Haas, D., et Défago, G., “Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHAO: Importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol”, Mol. Plant. Microbe Interact., 5, (1992), 4-13.
190. Stipanovic, R.D., “Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacteria”, Phytopathology, 69, (1979), 480-482.

191. Howell, C.R., Stipanovic, R.D., "Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin", *Phytopathology* 70, (1980), 712-715.
192. Nowak-Thompson, B., Chaney, N., Wing, S., Gould, S., Loper, J.E., "Characterization of the pyoluteorin biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5", *J Bacteriol*, 181, (1999), 2166-2174.
193. Nielsen, T.H., Christophersen, C., Anthoni, U., Serensen, J., "A new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54", *J Appl Microbiol.*, 87, (1999), 80-90.
194. Keel, C., Wirthner, P., Oberhansli, T.H, Voisard, C., Burger, U, Haas, D., Defago, G., "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", *Symbioses*, 9, (1990), 327-341.
195. Glandorf, D.C.M., Verheggen, P., Jansen, T., Thomashow, L.S., Leeftang, P., Smit, E., Wernars, K., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C., "Field release of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r to study effects on the indigenous soil microflora", In: Workshop Proceedings Leeuwenhorst Congress Centre Noordwijkerhout, the Netherlands, Coordination Commission Risk Assessment Research (CCRO), 5-6, (1998), 41-46.
196. Thomashow, L.S., Weller, D.M., "Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*", *J Bacteriol.*, 170, (1988), 3499-3508.
197. Defago, G., Haas, D., Berling, C.H, Burger, U., Keel, C., Voisard, C., Wirthner, P., Wuthrich, B., "Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms", *Bio/ogical control of soil-borne plant pathogens*, D Hornby, ed., CAB Int, (1990), 93-108.
198. Amir, H., and Alabouvette, C., "Involvement of soil abiotic factors in the mechanism of soil suppressiveness to *Fusarium* wilts", *Soil biology and biochemistry* , 25, (1993), 157- 164.
199. Schneider, R.W., "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, (1984), 646-653.
200. Toussoun, T.A., "*Fusarium* – suppressive soils", In: GW Bruhel, *Biology and control of soil borne plant pathogens*", *Ann Phytopathol Soc*, (1975), 145-15.
201. Van der, H. G.A.J.M., Marugg, J.D., Verjans, G.M.G.M., Weisbeek, P.J., "Characterization and structural analysis of the siderophore produced by the PGPR *Pseudomonas putida* strain WCS358", In: *Iron, siderophores and plant diseases* .TR Swinburne, ed. Plenum Press, New York, (1986), 71-75.
202. Alabouvette, C., Couteaudier, Y., Louvet, J., "Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires", *Agronomie*, 2(11), (1982), 1-6.
203. Geraats, B.P.J., Bakker, P.A.H.M., Lawrence, C.B., Achuo, E.A., Höfte, M. and Van Loon, L.C. "Ethylene-insensitive tobacco shows differential altered susceptibility to different pathogens", *Phytopathology*, 93, (2003), 813-821.
204. Duijff, B.J., Poulhair, P., Olivain, C., Alabouvette, C., Lemanceau, P., "Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47", *Eur J Plant Pathology*, 104, (1998), 903-910.
205. Nikolay, S., Strigul, L., Kravchenko, V., "Mathematical modeling of PGPR inoculation into the rhizosphere", *Environmental Modelling and Software*, (2005).
206. Dupler, M., Baker, R., Survival of *Pseudomonas putida*, a biological control agent in soil. *Phytopathology*, 75, (1984), 1047-1052
207. Stutz , E. , Défago , G. , and Kern , H., "Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black root rot of tobacco", *Phytopathology*, 76 ,(1986),181-185
208. Misaghi I., Grogan R.G., "Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads", *Phytopathology*, 59, (1969), 1436-1450.

209. Digat, B., Gardan, L., "Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*", Bulletin OEPP, 17, (1987), 559-568.
210. Bahme, J.B., Schroth, M.N., "Spatial-temporal colonization patterns of a rhizobacterium on underground organs of potato", Phytopathology, 77, (1987), 1093-1100.
211. Compeau, G., Al-Achi, B.J., Platsouka, E., Levy, S.B., "Survival of rifampin-resistant mutants of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* in soil systems", App/ Environ Microbiol., 54, (1988), 2432-2438.
212. De Boer, M., Bom, P., Kindt, F., Keurentjes, J.J.B., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M., "Control of Fusarium wilt of radish by combining *Pseudomonas putida* strains that have different disease-suppressive mechanisms", Phytopathology, 93, (2003), 626-632.
213. Lemanceau, P., Bakker, P.A.H.M., De Kogel, W.J., Alabouvette, C. and Schippers, B., "Antagonistic effect of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* F047 and pseudobactin 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*", Appl. Environ. Microbiol., 59, (1993), 74-82.
214. Geraats, B.P.J., Bakker, P.A.H.M., Lawrence, C.B., Achuo, E.A., Höfte, M. and Van Loon, L.C., "Ethylene-insensitive tobacco shows differential altered susceptibility to different pathogens", Phytopathology, 93, (2003), 813-821.
215. Weller, D.M., Cook, R.J., "Suppression of take ail of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads", Phytopathology, 73, (1983), 463-469.
216. Pierson EA., Weller DM., "Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take all and improve the growth of wheat", Phtopathology, 84, (1994), 940-947.
217. Lemanceau, P., Alabouvette, C., "Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*", Crop Protec 10, (1991), 279-286.
218. Whipps, J.M., "Microbia linteractions and biocontrol in the rhizosphere", J. Exp. Botany, 52, (2001), 487-511.
219. Zhang, S, Moyne, A.L, Reddy, M.S, and Kloeppel, J. W., "The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco", Biological Control, 25, (2002), 288-296.
- 220 Le Floch, G., Benhamou N., Mamaca E., Salerno M-I., Tirilly Y., Rey P., "Characterisation of the early events in atypical tomato root colonisation by a biocontrol agent, *Pythium oligandrum*", Plant Physiology and Biochemistry, 43, (2005), 1-11.
221. Bowen, G.D, and Rovira, A.D., "Microbial colonization of plant roots", Ann Rev Phytopathol, 14, (1976), 121-144.
222. Jasalavich, C.A., Anderson, A.J., "Isolation from legume tissue of an agglutinin of saprophytic pseudomonads", Can J Bot 59, (1981), 264-271.
223. Anderson, A.J., "Isolation from root and shoot surfaces of agglutinins that show specificity for saprophytic pseudomonads", Can J Bot 61, (1983), 3438-3443.
224. Glandorf, D.C.M., Van deer, I., Anderson, A.J., Bakker, P.A.H.M. Schippers, B., "Agglutination, adherence and root colonization by fluorescent pseudomonads", Appl. Environ. Microbiol. 60, (1994), 1726-1733.
225. Veekena, A.H.M., Blokb, W.J., Curcia, F., G.C.M., Termorshuizenb, A.J., Hameler, H.V.M. "Improving quality of composted biowaste to enhance disease suppressiveness of compost-amended, peat-based potting mixes", Soil Biology and Biochemistry, 37, (2005), 2131-2140.
226. Cook, R.J., Thomashow, L.S., Weller, D.M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Bangera, G., Kim,D.S. "Molecular mechanisms of defence by rhizobacteria against root disease", Proc.Natl.Acad.Sci.USA., 92, (1995),4197-4201.
227. Alabouvette, C., Couteaudier Y., Louvet J., "Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires", Agronomie, 2(11), (1982), 1-6.
228. Geels, F.P., Schippers. B., "Reduction of yield depressing in high frequency potato cropping soil after seed tuber treatment with antagonistic fluorescent *Pseudomonasspp*", Phytopatho/ Z, (1983),108.

229. Pierson, L.S., Wood, D.W, Pierson, E.A., "Homoserine lactone-mediated gene regulation in plant-associated bacteria", *Annu Rev Phytopathol*, 36 , (1998), 207-225.
230. Hornby, V., Punte, H.L.M., Weger, L.A., Schippers B ., "Characterization of root surface and endorhizosphere pseudomonads in relation to their colonization of roots", *Appt Environ. Microbiol.*, 56, (1993), 2462-2470.
231. Cooper R., "Bacterial fertilizers in the Soviet Union. *Soils Fertil*", 22, (1959), 327-333.
232. Alabouvette, C., Couteaudier, Y, Y., Louvet, J., "Soils suppressive to fusarium wilt: mechanisms and management of suppressiveness", *Ecology and management of soilborne plant pathogens*. Parker, C. A., Rovira, A. D., Moore, K. J., Wong, P. T. W., and Kollmorgen, J. F (ed.). American Phytopathological Society, St. Paul, Minn., (1985), 101-106.
233. Rosenweig, W.D., Stotzky, G., "Influence of environmental factors on antagonism of fungi by bacteria in soil: nutrient levels", *Appt Environ Microbiol.*, (1980), 354-360.
234. Duffy, B.K., Défago, G., "Controlling instability in *gacS-gacA* regulatory genes during inoculant production of *Pseudomonas fluorescens* Biocontrol strains", *Appt/ Environ Microbiol.*, (2000), 3142-3150.
235. Weller, D.M., "Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria", *Phytopathol*, 26, (1988), 379-407.
236. Larbaoui, A., "Etude 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", Thèse Magistère, Univ Blida, (2003), 94p.
237. Mirleau, P., Delorme, S., Philippot, L., Meyer, J.M., Mazurien, S., Lemanceau, P., "Fitness in soil and rhizosphere of *Pseudomonas fluorescens* C7R12 compared with a C7R12 mutant affected in pyoverdine synthesis and uptake *FEMS*", *Microbiol Ecol*, (2000), 34, 35-44.
238. Lemanceau, P., Alabouvette, C., Couteaudier, Y., "Recherches 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 et de glucose", *Agronomie*, 8, (1988), 155-162.
239. King, E.O., Ward, M.K., Raney, D.E., "Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin", *JLab Clin Med*, (1954), 301-307.
240. Toua, D., "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, (1996), 138p.
241. Benchabane, M., Bakour R., Toua, D., Boutekrabt, A., "Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate ", *Bulletin OEPP/EPPO*, (2000), 243-246.
242. Jonsthorpe, A., Booth, C., "Plant pathologist's pocket book". 2nd ed Commonwealth", Mycological Institute, Kew Surrey, England, (1982), 439p.
243. Waburg, C., Christian.H., "Etude de l'absorption des protéines et des acides nucléiques et détermination de l'équation d'absorption", *Biochem. Zeits*, (1941), 341- 384.
244. Tahri, E.A., Belabed, A., Sadki, K., " Effet d'un stress osmotique sur l'accumulation de proline, de chlorophylle et de ARNm codant pour la glutamine synthase chez trois variétés de blé dur (Triticum durum) ", *Bull. Inst. Sci. Rabat*, 21, (1997, 1998), 81-87.
245. Kjeldahl, J., "Z. anal. Chem", (1883), 366p.
246. Laville, J, Blumer, C., von Schroetter, C, Gaia,V., Défago, G., Keel, C., Haas D., "Characterization of the hcnABC gene cluster encoding hydrogen cyanide synthase and anaerobic regulation by ANR in the strictly aerobic biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHAO", *J Bacteriol*, 180, (1998), 3187-3196.
247. Sneh, B., Dupler,M., Elad,Y., and Baker,R., "Chlamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f sp. *cucurimerinum* as affected by fluorescent and lytic bacteria from a *Fusarium* suppressive soil .Phytopatology", (1984), 1115-1124.

248. Thomashow, L.S, Weller, D.M, Bonsall, R.F, Pierson, L.S., “Production of antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* spedes in the rhizosphere of wheat”, *Appt Environ Microbiol*, (1990), 908-912.
249. Keel, C., Défago, G., “The fluorescent siderophore of *Psudomona fluorescens* strain CHAO has no effect on the suppression of root diseases of wheat”, in: *Plant Growth- Promoting Rhizobacteria: Progress and Prospects*. C. Keel, B. Koller, and G. Défago, eds. *Int. Org. Biol. control Noxions Anim Plants/West Palaerctic Reg. Sec. Bull.*, (1991) 136-142.
250. Elad, Y., Baker, R., “Influence of trace amounts of cations and siderophore-producing pseudomonads on Chlamydo-spore germination of *Fusarium oxysporum*”, *Phytopathology*, (1985), 1047-1052.
251. Glick, B.R., “The enhancement of plant growth by free living bacteria”, *Can Journal Microbiol*, (1995), 109-117.
252. Lee-flang, P., Smit, E., Glandorf, D.C.M., Van Hannen, E.J. and Wernars, K., “Effects of *Pseudomonas putida* WCS358r and its genetically modified phenazine producing derivative on the *Fusarium* population in a field experiment, as determined by 18S rDNA analysis”, *Soil Biol. Biochem*, (2002), 1021-1025.
253. Latour, X., Delorme, S., Mirleau, P., Lemanceau, P., “Identification of traits implicated in the rhizosphere competence of fluorescent pseudomonads: description of strategy based on population and model strain studies”, *Agronomie* (2003), 23, 397-405.
254. De Boer, M., Van der Sluis, I., Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., “*In vitro* compatibility between fluorescent *Pseudomonas* spp. strains can increase effectivity of *Fusarium* wilt control by combinations of these strains. In: *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria - Present Status and Future Prospects*”, (A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo and S. Akino, eds.), (1997), 380-382.
255. Geraats, B.P.J., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C., “Ethylene insensitivity impairs resistance to soilborne pathogens in tobacco and *Arabidopsis thaliana*”, *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 15, (2002), 1078-1085.
256. Cha, C., Gao, P., Chen, Y.C., Shaw, P.D. et Farrand, S.K., “Production of acyl-homoserine lactone quorumsensing signais by grain-negative plant-associated bacteria”, *Mol. Plant. Microb. Interact.*, 11, (1998), 1119-1129.
257. Glandorf, D.C.M., Bakker, P.A.H.M., Van Loon, L.C., “Influence of the production of antibacterial and antifungal proteins by transgenic plants on the saprophytic soil microflora”, *Acta Bot. Neerl.* 46, (1997), 85-104.
258. Anderson, A.J, Guerra, D., “Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in hydroponic system”, *Phytopathology*, 75, (1985), 992-995.
259. Ryu, C.M., Farag, M.A., Hu C.H., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Paré, P.W., “Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidiopsis”, *Plant Physiology*, 134, (2004), 1-10.

Nom du document : refernces bibliographiques  
Répertoire : D:  
Modèle : C:\Documents and Settings\Administrateur\Application  
Data\Microsoft\Modèles\Normal.dot  
Titre : 148  
Sujet :  
Auteur : MESSAOUD  
Mots clés :  
Commentaires :  
Date de création : 10/06/2006 11:14:00  
N° de révision : 3  
Dernier enregistr. le : 19/06/2006 23:40:00  
Dernier enregistrement par : muss  
Temps total d'édition :9 Minutes  
Dernière impression sur : 11/10/2006 10:21:00  
Tel qu'à la dernière impression  
Nombre de pages : 14  
Nombre de mots : 8 468 (approx.)  
Nombre de caractères : 46 578 (approx.)