

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohammed Khider -Biskra

Faculté des sciences exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences agronomiques



Mémoire de Master

Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

Réf :

Présenté et soutenu par :

BOULHAIS Kahina

Le : Juin 2023

Etude de la faculté suppressive d'un sol au *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 1, agent causal de la flétrissure fusarienne de la tomate

Jury

M. Amar ACHOURA
M. Laâla DJEKIREF
M. Farid MEZERDI

MCA
MCB
Pr.

Université de Biskra
Université de Biskra
Université de Biskra

Président
Encadrant
Examineur

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Tous d'abord louange à Allah, le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Nous exprimons nos profondes gratitude et respectueuses reconnaissances à notre encadrant Monsieur Mr DJEKIREF pour son encadrement, conseils et sacrifices afin de donner le meilleur et pour son suivi durant la période de préparation de notre mémoire d'afin d'étude.

Nos remerciements vont également aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'accepter de valoriser ce modeste travail.

Que Monsieur Amar Achoura, président de ce jury trouve ici mes grands remerciements et sincères affections, et

Que Monsieur Farid Mezerdi, qui me fait le grand plaisir d'examiner mon document, soit rassurer de mon profond respect.

Nous adressons nos sincères remerciements aussi à tous les professeurs qui, par leurs conseils et leurs efforts durant toutes les années passées, nous ont inculqués leur savoir et leurs expériences et donner le meilleur de leur même.

Dédicace

En témoignage d'amour et d'affection, je dédie ce modeste travail avec une grande fierté à tous ceux qui me sont chers :

**Ma très chère mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

** Mon très cher père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

***Q'Allah vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je suis puisse vous combler de bonheur.*

**Mon chère frère et mes belles sœurs puisse Allah vous donne santé, bonheur et réussite.*

A tous mes amis et mes enseignants

A vous cher lecteur

**Etude de la faculté suppressive d'un sol au
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* race 1, agent causal de
la flétrissure fusarienne de la tomate**

Résumé

Cette étude vise à évaluer le pouvoir antagoniste des microorganismes d'un sol, vis-à-vis au *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, agent responsable de la flétrissure fusarienne de la tomate. Une soixantaine de microorganismes ont été isolés à partir de la rhizosphère d'un sol où la maladie ne s'est pas exprimée au niveau d'une serre cultivée de tomate. Différentes techniques d'isolement ainsi que quatre milieux de culture spécifiques et de routine ont été employés pour cette fin. Le résultat des isolements nous a permis d'obtenir 11 actinomycètes, 14 bactéries et 5 isolats de champignons. Par la suite, des tests de confrontation directe entre les différents types de microorganismes sélectionnés et l'agent causal ont été effectués. L'estimation du pouvoir répressif de chaque isolat a été évaluée par la mesure du diamètre de chaque colonie en confrontation. L'analyse statistique des résultats des différentes mesures révèle que l'actinomycète A4g, repiqué sur le milieu gélose nutritif a un effet antagoniste important et montre un pouvoir inhibiteur significatif vis-à-vis du champignon pathogène et qui est estimé à 79,28%. Notre sol peut être considéré comme assez suppressif à l'égard de la maladie du *Fusarium wilt*.

Mots clés : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, microorganismes antagonistes, rhizosphère, lutte biologique, sols suppressifs, tomate.

**Study of the suppressive ability of a soil to
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* race 1, causative agent of
Fusarium wilt of tomato**

Abstract

This study aims to evaluate the antagonistic power of soil microorganisms against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, causative agent of *Fusarium* wilt of tomato. About sixty microorganisms were isolated from the rhizosphere of a soil where the disease was not expressed in a tomato greenhouse. Different isolation techniques as well as four specific and routine culture media were used for this purpose. The result of the isolations allowed us to obtain 11 actinomycetes, 14 bacteria and 5 fungal isolates. Subsequently, direct confrontation tests between the different types of microorganisms selected and the causal agent were carried out. The estimate of the repressive power of each isolate was evaluated by measuring the diameter of each colony in confrontation. Statistical analysis of the results of the various measurements reveals that the actinomycete A4g, subcultured on the nutrient agar medium has a significant antagonistic effect and shows a significant inhibitory power against the pathogenic fungus, which is estimated at 79.28%. The soil studied can be considered quite suppressive to *Fusarium* wilt disease.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, antagonistic microorganisms, rhizosphere, biological control, suppressive soils, tomato.

دراسة القدرة القمعية للتربة ضد
***Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Race 1**
، العامل المسبب لمرض ذبول الفيوزاريوم للطماطم

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم القوة المضادة للكائنات الدقيقة في التربة ضد *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ، العامل المسبب لذبول الفيوزاريوم للطماطم. تم عزل حوالي ستين كائناً دقيقاً من الغلاف الجذور للتربة حيث لم يتم التعبير عن المرض في دفيئة الطماطم. تم استخدام تقنيات عزل مختلفة بالإضافة إلى أربعة وسائط زراعة محددة وروتينية لهذا الغرض. سمحت لنا نتيجة العزلات بالحصول على 11 فطريات شعاعية و 14 بكتريا و 5 عزلات فطرية. بعد ذلك ، تم إجراء اختبارات المواجهة المباشرة بين الأنواع المختلفة من الكائنات الحية الدقيقة المختارة والعامل المسبب. تم تقدير القوة القمعية لكل عزلة عن طريق قياس قطر كل مستعمرة في المواجهة. يكشف التحليل الإحصائي لنتائج القياسات المختلفة أن الفطريات الشعاعية A4g المزروعة على وسط أجار المغذيات لها تأثير معاد كبير وتظهر قوة مثبطة كبيرة ضد الفطريات المسببة للأمراض ، والتي تقدر بـ 79.28٪. يمكن اعتبار التربة المدروسة قمعية تماماً لمرض الذبول الفيوزاريوم.

الكلمات المفتاحية : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ، الكائنات الحية الدقيقة المضادة ،منطقة الجذور ، المكافحة البيولوجية ، التربة القمعية ، الطماطم

Liste des abréviations

°C	Degré Celsius.
ANOVA	Analyse de la variance.
BCA	Agent de bio contrôle.
Cm	Centimètre.
Co	Diamètre de témoin.
Cn	diamètre de pathogène en présence de l'antagoniste.
EDS	eau distillée stérile.
I(%)	taux inhibition de la croissance mycélienne.
f.sp.	Forme spéciale.
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nation.
F.o.l	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>
g	Gramme
min	Minute
ml	Millilitre.
PDA	Potato Dextrose Agar.
PGPR	Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes.
PGPF	Champignons favorisant la croissance des plantes.
PH	Potentiel hydrogène.
Sp.	Une espèce non déterminée du genre.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nombre et type de microorganisme isolés

Tableau 2 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp."Fol" par la confrontation directe avec les 30 microorganismes sélectionnés

Liste des figures

- Figure 1 : . (A) Symptômes de la maladie sur un plant de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) sensible cultivé presque à maturité dans des conditions de terrain. (B) Brunissement vasculaire dans la tige d'un plant de tomate sensible
- Figure 2 : Morphologie des conidies de *Fusarium* spp.
- Figure 3 : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* sur milieu PDA.....
- Figure 4 : Cycle générale de la maladie de flétrissement vasculaire causée par *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* chez la tomate .
- Figure 5 : Technique de suspension dilution
- Figure 6 : Présentation schématique de la confrontation directe.
- figure 7 : Souches obtenues à partir du sol sur milieu gélose nutritive et gélose Gélose Hectoen .
- Figure 8 : zones d'inhibition apparue lors de la confrontation directe (f.o.l.-antagoniste)
- Figure 9 : Diagramme représentant le taux d'inhibition de 30 isolats antagonistes vis-à-vis d'une souche de *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici* après 4 jours d'incubation à 28°C.

Table des matières

- Résumé
- Liste des abréviations
- Liste des figures
- Liste des tableaux

Introduction..... 1

Chapitre I : Etude bibliographique

Pathologie

I. La flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*) 3

I.1. Les symptômes externes de la maladie..... 3

I.2. Les symptômes internes de la maladie 3

II. Les moyens de lutte 5

II.1. La lutte biologique : 5

Pathogène

I. Généralités sur le genre *Fusarium* 6

I.1. La taxonomie 6

II. L'espèce *Fusarium oxysporum* 8

II.1. Position systématique..... 8

II.2. Les *Fusarium oxysporum* phytopathogènes 8

II.3. Identification de *Fusarium oxysporum lycopersici* fol : 9

II.4. Cycle de vie : 10

Biocontrôle et Sols résistants

I. Le biocontrôles des maladies phytopathogènes : 12

II. Généralité sur les microorganismes antagonistes : 13

II.1. Les microorganismes antagonistes impliqués dans la lutte biologique :..... 14

Chapitre II: Etude Expérimentale

I. Matériel :..... 19

I.1. Appareillage :..... 19

I.2. Verrerie :..... 19

I.3. Autres matériels 19

II. Milieu de culture :..... 19

II.1. Milieu d'isolement et de purification :..... 20

II.2. Milieu d'isolement, de purification et de conservation des rhizobactéries : 20

III. Méthode : 20

III.1. Obtention de l'agent pathogène..... 20

IV. Test de l'activité antagoniste in vitro 21

IV.1. Confrontation par contact directe sur milieu de culture 21

IV.2. Evaluation du taux d'inhibition 22

V. Analyse statistique des données 22

Chapitre III : Résultats et discussions

I. Résultats 24

I.1. Isolement des agents antagonistes 25

I.1. Test d'antagonisme 26

Discussion 28

Conclusion et perspectives 29

Références bibliographiques..... 32

Annexes..... 43

Introduction



La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) occupe une place importante dans la production agricole algérienne. Les surfaces cultivées sont actuellement autour de 39 400 hectares avec 22 500 ha en tomate fraîche et 16 900 ha en tomate industrielle. La production nationale est estimée à environ 19 millions de tonnes. (Bayer: <https://www.cropscience.bayer.dz/fr-dz/cultures/tomate.html>)

Malgré son importance nutritive et économique, il y'a un manque accru dans la production de la tomate. Ceci est dû, essentiellement, aux agents phytopathogènes qui causent des maladies plus ou moins graves sur cette plante (Balanchard, 1992). Les fusarioses figurent parmi les maladies fongiques les plus importantes de la tomate en provoquant des pertes économiques considérables du point de vue rendement (Khiat et Guerfi, 2018)

La fusariose est une maladie causant le flétrissement ou la pourriture des racines et des collets des plantes. Parmi les fusarioses, la flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*), causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, est l'une des maladies les plus dévastatrices de la culture de la tomate à travers le monde.

Les microorganismes pathogènes et surtout les champignons telluriques, sont difficiles à contrôler, parce qu'ils peuvent survivre dans le sol pour de longues périodes (Tschen, 1985). Pour lutter contre ces maladies cryptogamiques et surtout le genre *Fusarium* qui attaque la tomate ; la lutte biologique est l'une des méthodes prometteuses, qui est moins dépendante des produits chimiques et plus respectueuse à l'environnement. Elle consiste en l'utilisation des microorganismes antagonistes contre les maladies cryptogamiques.

La recherche de nouvelles méthodes de lutte contre les maladies telluriques a de ce fait pris beaucoup d'importance de nos jours. Différentes méthodes ont été utilisées pour lutter contre la fusariose de la tomate. La lutte chimique, par la désinfection du sol à l'aide de fongicides, marque beaucoup d'inconvénients suite à ses effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine. De ce fait, le recours à des méthodes propres est d'une importance capitale. Dans ce contexte, la lutte biologique par l'utilisation de microorganismes antagonistes, (*Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas* spp., *Fusarium oxysporum* non pathogène et les extraits de compost) représente une solution intéressante.

Notre travail s'inscrit dans un cadre de lutte biologique suite à l'essai de la sélection de certains microorganismes du sol, comme agents antagonistes au *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

A cet effet, notre document sera structuré en quatre parties :

- Une partie bibliographique qui comprend trois chapitres présentant des informations compilées sur la maladie ; son agent causal et certains concepts sur le biocontrôle et les sols suppressifs.
- Une deuxième partie qui porte sur l'expérimentation et la méthodologie appliquée pour l'atteinte de nos objectifs.
- La troisième partie expose les résultats obtenus et leur interprétation.
- Enfin une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Etude Bibliographique



La culture de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) est sujette à divers problèmes phytosanitaires qui entravent son développement et son extension. Elle peut être victime de plusieurs pathologies fusariennes au nombre desquelles figure la fusariose vasculaire. Cette pathologie à souche fongique et particulièrement dommageable affecte la croissance végétative de la tomate. Également appelée la flétrissure fusarienne, elle est généralement observée sous les climats tropicaux ou subtropicaux (Laurent, 2012).

I. La flétrissure fusarienne (*Fusarium* wilt)

L'agent causal de la fusariose vasculaire de la tomate est un champignon du genre *Fusarium* dénommé *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, en abrégé Fol (Laurent, 2012). Ce champignon a été décrit pour la première fois en Angleterre en 1895 et a depuis été trouvé dans plus de 40 pays (Correll *et al.* 2014). Il provoque des lésions graves à toutes les phases de la croissance de la tomate (Faheed *et al.*, 2005). L'agent pathogène responsable se conserve et persiste dans le sol à grande profondeur (80 cm) (Duval, 1991).

I.1. Les symptômes externes de la maladie

L'espèce fongique indigène s'infiltré dans la plante par ses racines, infectant rapidement les tissus ligneux et entraînant la mort de la plante (Blancard, 1997). La maladie progresse rapidement, les membres atteints se flétrissant brusquement comme s'ils étaient dus à la déshydratation, également connue sous le nom de flétrissement rapide. Bien qu'elles conservent la chlorophylle, les feuilles séchées prennent une teinte gris verdâtre (Laterrot *et al.*, 1978). Ensuite, les feuilles jaunissent de la base vers le haut, avec une nécrose partielle ou totale du limbe et un éclaircissement visible le long des nervures (Messiaen, 1981). La tige de la plante atteinte développe une dépression longitudinale de couleur brune partant du collet et se déplaçant unilatéralement vers le haut (Bouhot, 1972)

I.2. Les symptômes internes de la maladie

Lorsqu'une plante est malade, les tissus des vaisseaux conducteurs près du cortex vert et de la partie ligneuse prennent une teinte brune lorsqu'ils sont coupés longitudinalement. De plus, lorsque le tissu est sectionné, des fragments brun foncé contenant des mycéliums peuvent également être présents.

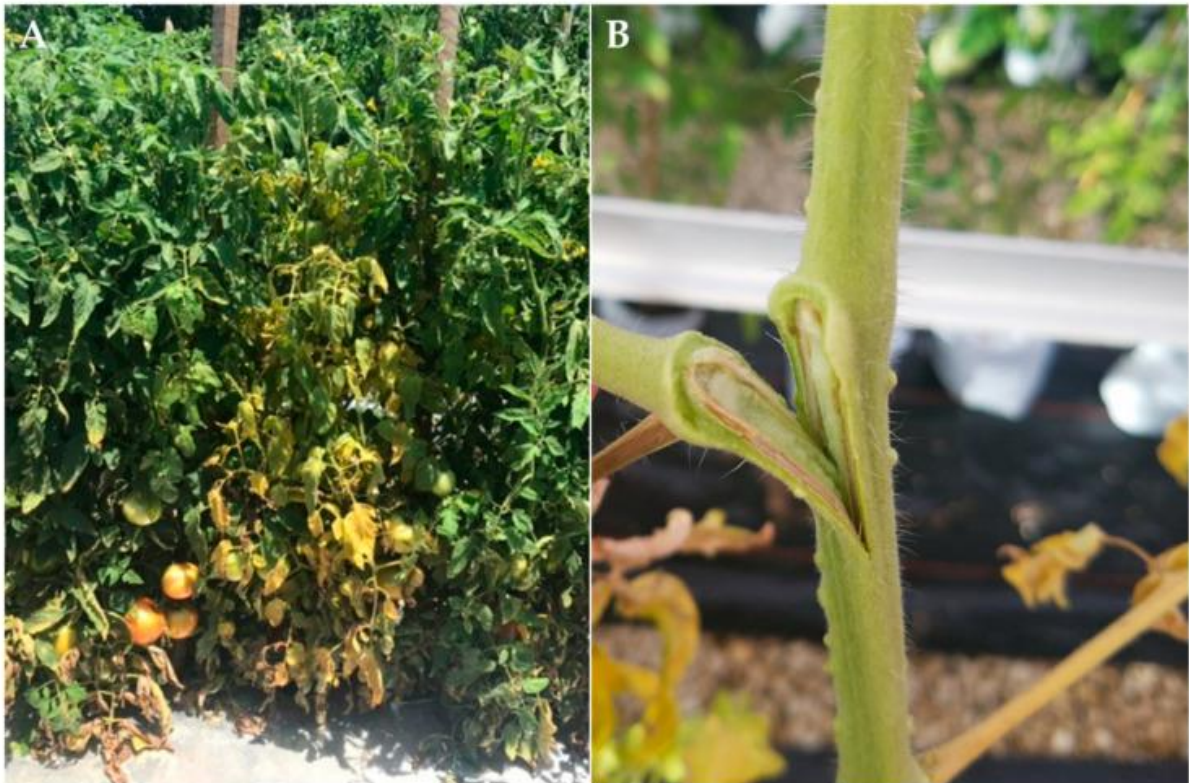


Figure 1 : (A) Symptômes de la maladie du Fusarium wilt chez un plant de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivé presque à maturité dans des conditions de terrain. (B) Brunissement vasculaire dans la tige d'un plant de tomate (Karthika *et al.* 2020).

II. Les moyens de lutte

Une fois installé dans le sol, ce champignon tellurique ne peut être éradiqué avec l'emploi simple des fongicides de synthèse. Ainsi, la lutte curative n'a pas une efficacité si la maladie a déjà hébergé les tissus de la plante (semences ou tissus vasculaires). En réalité, l'utilisation des variétés assez résistantes et l'amélioration génétique des organismes semblent être les moyens les plus efficaces pour éviter le développement de l'agent phytopathogène (McGovern, 2015). En Algérie, il existe peu de variétés fixes de tomate à l'image de Rio grande, Elgon, Castlong, Heintz 1350, Pico De Aneto, Sabra et Giaron (ITCMI, 2018). D'une part, le profil génétique réel de ces variétés demeure méconnu pour caractériser celles qui sont résistantes à la fusariose ou encore améliorer et créer des génotypes recherchés. D'autre part, l'indisponibilité de ces variétés aux agriculteurs locaux incite le recours continu à plusieurs hybrides non résistants de caractère phénotypique récessif et instable sur les générations consécutives.

D'autres approches de lutte s'avèrent prometteuses. Les sols dits suppressifs sont considérés comme des moyens de lutte préventive très efficace contre la fusariose car ils hébergent parfois des souches saprophytes fongiques ou bactériennes qualifiées (De Corato, 2020). Néanmoins, cette méthode nécessite une vérification méta-génomique sérieuse du sol afin d'éviter l'existence d'autres organismes indésirables.

II.1. La lutte biologique :

Il s'agit d'un ensemble de procédés exploitant la relation de concurrence ou d'antagonisme existant entre le parasite et leurs ennemis naturels ou leurs produits de sécrétion, en vue d'empêcher ou de minimiser les dommages ainsi que l'abondance des agents phytopathogènes sans nécessairement les détruire par la suite, en s'appuyant sur une stratégie de défense écologique et durable. Parmi les microorganismes expérimentés avec succès, à l'égard des maladies d'origine tellurique, les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* et les *Fusarium* non pathogènes qui occupent une place de choix (Benchabane, 2005), d'où ils entrent en compétition pour les nutriments et la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes (Alabouvette *et al.*, 2006). Les microorganismes peuvent exercer une activité antagoniste selon différents mécanismes incluant la compétition, les interactions directes cellule à cellule, l'antibiose, la dégradation des signaux de quorum sensing (QS), et les actions sur la résistance de l'hôte. La lutte biologique contre les maladies fongiques par des agents microbiens semble être une excellente option, car les effets néfastes secondaires sur l'environnement peuvent être nulle ou minime, en plus de l'avantage d'être en mesure d'exporter des produits à l'étranger sans restriction par rapport à l'utilisation de produits chimiques. L'inhibition des pathogènes par des souches bactériennes rhizosphériques est considérée comme un mécanisme indirect de favoriser de la croissance des plantes.

I. Généralités sur le genre *Fusarium*

Link a été le premier à décrire avec précision le genre *Fusarium* en 1809. Le nom de ce genre est dérivé du mot latin "fusus", qui signifie fuseau, en raison de la forme de ses macroconidies en forme de fuseau et cloisonnées. *Fusarium* est classé dans la division des ascomycètes et la famille des Nectriaceae.

Le genre *Fusarium* regroupe des champignons anamorphiques qui se reproduisent de manière asexuée via des conidies, présentant des formes et une organisation variables (Jeunot, 2005). D'autres espèces du genre sont des téléomorphes, se reproduisant sexuellement (Nelson *et al.*, 1983). Ces champignons sont connus pour leur capacité à produire des mycotoxines, des métabolites secondaires toxiques qui augmentent l'incidence des maladies dans la production agricole (Siou, 2013). Les mycotoxines peuvent être nocives pour l'homme et l'animal, voire cancérigènes ou neurotoxiques (SRAL Auvergne, 2010).

Fusarium, un genre de micro-organismes, sont principalement des agents pathogènes des plantes. Ils sont connus pour causer la fusariose chez de nombreuses plantes. Les *Fusarium* sont connus pour causer la pourriture des racines, des tiges et des fruits et pour décomposer les systèmes vasculaires, (Trenholm *et al.* en 1988).

D'autres espèces (*F. solani*, *F. moniliforme*) sont impliquées dans des infections systémiques (Guarro et Gene, 1992).

Les espèces de *Fusarium oxysporum* se caractérisent par une large gamme de plantes hôtes et la plupart des souches pathogènes de *F. oxysporum* envahissent le système vasculaire de ces plantes et présentent une spécificité parasitaire, c'est -à-dire que l'espèce ne peut attaquer qu'un hôte déterminé (Ozenda, 1990).

I.1. La taxonomie

Wollenweber et Rincking (1935) ont placé l'espèce *oxysporum* dans la section "Elegans" qu'ils ont subdivisé en 03 sous-sections, en se basant sur la forme et la taille des spores et sur les caractères culturaux (Ghomari, 2009).

Dès 1940, toutes les espèces de la section « Elegans » sont rassemblées dans une seule espèce *Fusarium oxysporum*, par Synder et Hansen, à laquelle, Synder *et al.*, adjoignent le cultivar "redolens" en 1957 (Ghomari, 2009).

Parmi les champignons, agents de maladies vasculaires, ceux appartenant au genre *Fusarium* sont les plus fréquents et les plus dommageables pour les cultures (Nelson *et al.*, 1981 ; Messiaen *et al.*, 1991 ; Bounaga, 1985).

Après sa première description par Link en 1809, le genre *Fusarium* a fait l'objet de nombreuses investigations taxonomiques (Booth, 1984). Le genre *Fusarium*, qui appartient au groupe des Tuberculariaceae, a été découvert et défini par Appel et Wollenweber en 1910. Des macroconidies, en forme de croissant caractéristique, sont produites par ce groupe (Messiaen et Cassini, 1968).

Wollenweber a passé 25 ans à élucider la systématique de *Fusarium*, à la fois de manière indépendante et en collaboration avec Appel et Reinking. La conférence internationale tenue à Madison en 1924 a approuvé cette systématique, et elle a été encore renforcée par la publication du premier manuel clé d'identification des espèces de *Fusarium*. Ce manuel a permis d'identifier 143 espèces de *Fusarium*, qui ont été classées en 16 sections. (Messiaen et Cassini, 1968).

Dès 1935, la systématique de Railo remettait en question la systématique de Wollenweber en ce qui concerne les distinctions spécifiques, mais en reconnaissant la valeur des sections.

En 1940, Snyder et Hansen formulèrent les mêmes objections, et en 1945, le genre *Fusarium* se trouve réduit à 9 espèces (Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1975). De toutes les espèces du genre *Fusarium* que l'on rencontre dans le sol, c'est l'espèce *F. oxysporum* qui est la plus répandue (Mayer, 1967).

La classification du genre fut basée essentiellement sur :

- Les caractères culturels (aspect du mycélium aérien, pigmentation des thalles);
- Les caractéristiques des spores (forme, taille, septations,.....) et des organes sur lesquels elles sont formées (Bouhot, 1981);
- Les caractéristiques des organes fructifères qui donnent éventuellement naissance aux spores (sporodochies et pionnotes) ;
- La présence ou l'absence de sclérotés

L'espèce se distingue par la production de microconidies rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courts (Burgess et Liddell, 1983). Seule la reproduction asexuée est connue chez cette espèce, ce qui la place dans le groupe des deutéromycètes (champignons imparfaits).

En fait, *Fusarium oxysporum* est un des deutéromycètes telluriques appartenant à la classe des hyphomycètes et à la famille des tuberculariacées.

Par ailleurs, certaines espèces de *Fusarium* possèdent une forme parfaite (Hyphomyces, Gibberella, Nectaria, Calonectaria).

Aujourd'hui et grâce à l'utilisation des techniques de la biologie moléculaire, la systématique des *Fusarium* a considérablement évolué et ces derniers sont considérés comme les formes asexuées de plusieurs espèces d'Ascomycètes.

II. L'espèce *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum est considéré comme Ascomycète proche du groupe téléomorphique Gibberella que Nectria (Di Pietro *et al.*, 2003, Michielse et Rep, 2009) et ayant plus de 120 formae speciales

II.1. Position systématique

- **Règne :** Fungi
- **Division :** Ascomycota
- **Classe :** Hymenoascomycètes
- **Sous-classe :** Pyrenomycetideae
- **Ordre :** Hypocreales
- **Famille:** Nectriaceae
- **Genre:** *Fusarium*
- **Espèce:** *F. oxysporum*
- **Téléomorphe :** *Gibberella*

II.2. *Fusarium oxysporum* phytopathogènes

Les champignons *Fusarium*, en particulier les espèces *oxysporum*, sont connus pour être les champignons les plus nocifs pour les cultures économiquement importantes. Les recherches scientifiques d'Armstrong et d'Armstrong révèlent qu'ils sont hautement phytopathogènes. En conséquence, ils provoquent de nombreuses maladies, telles que la fusariose, la trachéomycose, la nécrose et la fonte des semis, (Fravel *et al.* en 2003).

Fusarium oxysporum est caractérisé par un degré élevé de spécificité d'hôte, appelé «forma specialis» (Dommergues et Mangenot, 1970). Ce champignon a la capacité de survivre en tant que saprophyte dans des conditions difficiles (comme l'hiver) en produisant des chlamydospores ou en développant des hyphes sur des résidus organiques, tels que des débris

végétaux (Burgess *et al.*, 1994). Cette caractéristique en fait une source importante de contamination dans les champs agricoles, (Schaafsma *et al.* 2001).

La propagation des spores par le vent ou les insectes sert de moyen supplémentaire de contamination, (Sutton, 1982). Différentes races sont identifiées en fonction de leur puissance sur différents cultivars d'un hôte donné. Par exemple, trois races de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ont été identifiées dans des plants de tomates, (McGrath *et al.*, 1987 ; Stall, 1962) :

- La race 1, la plus cosmopolite, initialement décrite en 1886 (Booth, 1971)
- La race 2, découverte en 1945 à Ohio (Alexander et Tucker, 1945).
- La race 3, observée en Australie en 1978 (Grattidge et O'Brien, 1982) et successivement rapportée aux Etats unis: Californie (Davis et al, 1988), Floride (Volin et Jones, 1982), Géorgie (Chellemi, 1992), Arkansas et Nord Carolina (Marlatt *et al.*, 1996), Tennessee (Bost, 2001) et Mexique (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996).

II.3. Identification de *Fusarium oxysporum* lycopersici fol :

Le mycélium (A) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Snyder et Hans (2003) sont délicatement blancs à roses, souvent avec une teinte pourpre, et sont clairsemés à abondants. Le champignon produit trois types de spores : les microconidies (B), les macroconidies (C) et les chlamydospores.

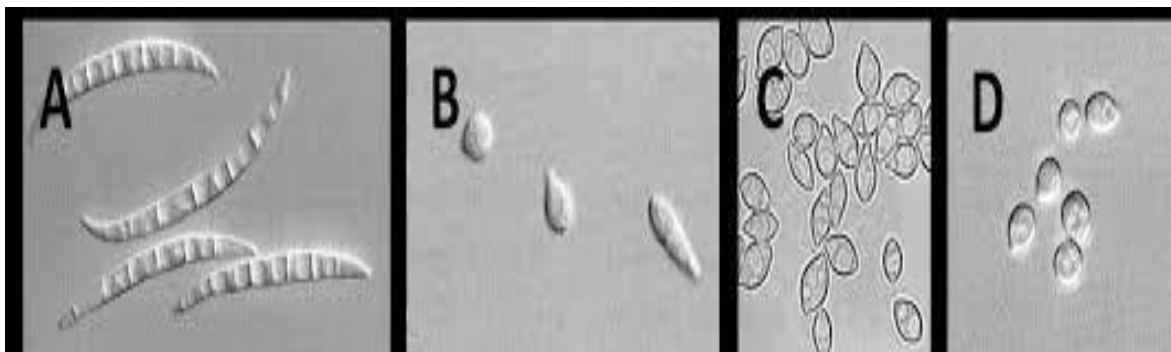


Figure 02 : Morphologie de conidies de *Fusarium* spp (Leslie *et al.* 2006).

Au niveau macroscopique, l'aspect cultural de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* sur milieu Potato Dextrose Agar (PDA) correspond à un mycélium aérien de croissance rapide, et de couleur variable allant du blanc au rose ou violet (figure 03). Cependant, l'aspect des souches de *F. oxysporum* peut fréquemment varier d'une culture à l'autre après des repiquages successifs,

voire dans une même culture où des sections de couleurs ou d'aspects différents peuvent apparaître (Burnett, 1984 ; Windels, 1992)



Figure 03 : *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* sur milieu PDA (Sumerell et al. 2003).

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* se caractérise par trois types de structures biologiques, les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores.

- Les microconidies sont abondantes et généralement monocellulaires, ovales ou réniformes, produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides courts.
- Les macroconidies fusiformes, sont également abondantes, comportent quatre à six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme pied.
- Les chlamydospores sont présentes, solitaires ou en paires, lisses ou rugueuses, globuleuses terminales ou intercalaire de 5 à 15 μm de diamètre (Komi, 1993), ce sont des organes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région conidie qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée.

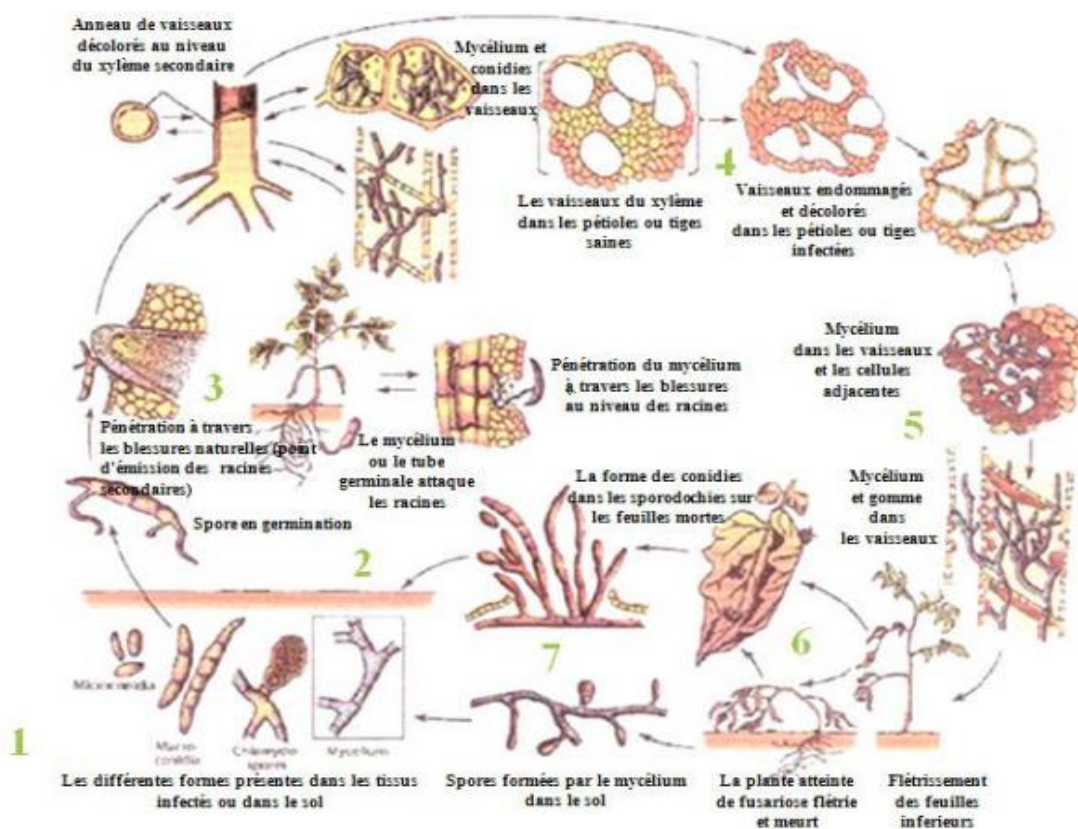
II.4. Cycle de vie

Les *F. oxysporum* ont une origine tellurique, ce qui explique leur forte présence au niveau du sol, d'où près de 40-70% de la population fusarienne tellurique totale sont des *F. oxysporum* (Smith, 1965). Ces derniers, mènent une vie en saprophyte en absence de la plante hôte

(Blancard, 1997). Il s'agit en effet de parasites des climats tempérés, présentant une croissance optimale à des températures comprises entre 25°C et 30°C (Blancard, 1997). Ces champignons se trouvent le plus souvent dans le sol, sous forme de spores résistantes (Chlamydospores) (Alabouvette *et al.*, 1993) qui en contact de l'hôte, s'adhèrent au niveau des racines de la plante et germent à l'extérieur, une partie du mycélium pénètre à l'intérieur des racines et se ramifie au niveau des cellules épidermiques.

Ce pathogène a la capacité de franchir les barrières rigides de la plante hôte, représentées par les parois formées essentielles de pectines et de celluloses grâce aux enzymes hydrolytiques qu'il possède (Horsfall et Dimond, 1960). Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème (tissu conducteur) entraînant une coloration brune de la plante, d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies qui sont véhiculées par la sève montante (Gäumann, 1957). A l'extérieur. Ils se forment des organes fructifères (sporodochies) à la surface des feuilles donnant naissance à des macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes, transportées par le vent, l'érosion ou bien par les insectes .

Figure 4 : Cycle général de la maladie de flétrissement vasculaire causée par



***F.oxysporum f.sp. lycopersici* chez la tomate (Agris, 2005).**

1- Conidies, chlamydo-spores ou mycélium vivant dans le sol.

- 2- Germination des spores.
- 3- Pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines.
- 4- Invasion des vaisseaux par les conidies et/ou mycélium.
- 5- Production de gomme à l'intérieur des vaisseaux.
- 6- Flétrissement et mort de la plante.
- 7- Sporodochies ou mycélium produisant des conidies.

I. Le biocontrôle des maladies phytopathogènes :

le biocontrôle est l'ensemble des méthodes de protection des végétaux s'appuyant sur l'utilisation de mécanismes naturels (INRAE). Ces méthodes ont en commun de résulter de la connaissance des interactions entre les plantes, les bio agresseurs et tous les autres organismes vivants du milieu, d'utiliser la régulation naturelle entre tous ces êtres vivants et de faire appel à des agents vivants ou issus du vivant pour la protection des cultures par la mise en place de mesures directes ou indirectes (Groupe de Travail Biocontrôle, Académie d'Agriculture de France, 2016).

Le contrôle biologique offre une stratégie alternative et respectueuse de l'environnement pour le contrôle d'agents phytopathogènes. La lutte biologique fait partie des méthodes de biocontrôle et se base sur l'utilisation d'autres organismes vivants, les auxiliaires. Elle se distingue de l'agriculture biologique, qui englobe, elle, le mode de production global d'un agriculteur, et qui est liée à un cahier des charges et donc à une certification.

La lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes en utilisant les micro-organismes comme moyens pour diminuer la pollution (Lehlali *et al.*, 2022), cela contribue à réduire l'utilisation des pesticides chimiques au strict minimum pour minimiser les conséquences néfastes sur la santé humaine et sur l'environnement (Emmert, 1999 ; Singh, 2002).

Le secret de la lutte biologique est de connaître les interactions écologiques qui se déroulent dans l'environnement du sol et les racines pour prédire les conditions nécessaires pour que cette lutte soit réalisée, sachant qu'il y a une certaine spécificité entre ces interactions plante-sol-microbe pour la suppression de la maladie (Whipps, 2001).

Le développement des connaissances en écologie microbienne, en particulier sur les relations antagonistes entre les micro-organismes du sol, a fait naître l'idée d'utiliser ces antagonistes pour lutter contre les maladies des plantes d'origine tellurique (TIMS, 1932 ; Waksman, 1948 ; Clark, 1969).

Un certain nombre de travaux (Nabti *et al.*, 2014 ; Bensidhoum *et al.*, 2015 ; Bensidhoum *et al.*, 2016 ; Tabli *et al.*, 2018) ont démontré l'impact de certains microorganismes bénéfiques tels que les bactéries/rhizobactéries dites promotrices de la croissance des plantes (PGPB/R) pouvant constituer une solution alternative prometteuse afin de réduire l'application des produits chimiques et d'améliorer la santé des plantes

L'organisme ayant le pouvoir antagoniste vis-à-vis d'un pathogène donné est appelé l'agent de lutte biologique (BCA) (Pal et McSpadden Gardener, 2006)

II. Généralité sur les microorganismes antagonistes :

Les microorganismes représentent une biomasse de 1% à 4% de la masse du carbone organique du sol et de 75% à 90% de la biomasse vivante, cette proportion étant souvent plus grande pour les sols prairie que pour les sols cultivés.

L'abondance des microorganismes diminue avec la profondeur, surtout pour les bactéries, et se diffère selon leur localisation. Dans le sol, une grande partie des microorganismes se trouve au voisinage des racines, dans la rhizosphère, où les substances nutritives sont abondantes (Benhacene *et al.*, 2016)

La rhizosphère est la région du sol située sous les racines des plantes. De nombreuses interactions sont observées entre la plante, le sol et les microorganismes au niveau des racines.

Il existe de nombreuses plantes qui sont capables de mettre en œuvre des stratégies de défense contre les agents pathogènes du sol (Weller *et al.*, 2002). Ces mécanismes de défense impliquent la stimulation sélective et le soutien des microorganismes antagonistes de la rhizosphère. Ces agents antagonistes sont capables de compétition avec les agents pathogènes du sol (Wisniewski et Wilson, 1992 cités dans Gravel, 2007), ou d'inhiber leur fonctionnement (Campbell, 1989) sans toutefois porter préjudice aux organismes non pathogènes. La découverte de tels agents de lutte biologique et la mise en évidence de leur capacité à réduire l'incidence et la gravité des maladies ont frayé la voie à d'autres recherches encore plus prometteuses (Alabouvette *et al.*, 1993).

Lee *et al.* (2013) ont fait remarquer, à juste titre, que toute augmentation de la population des micro-organismes antagonistes de la rhizosphère contribuera considérablement à la réduction des maladies sans toutefois porter atteinte aux autres micro-organismes de l'écosystème. Xu *et*

al. (2011), pour leur part, affirment que l'utilisation efficace de ces agents antagonistes est une composante déterminante de l'agriculture durable (Roudy. 2015)

Beaucoup de micro-organismes sont reconnus pour leur capacité à réduire le développement d'une maladie. Parmi ces agents antagonistes qui ont démontré un bon potentiel de lutte, on trouve des bactéries et des champignons. Ce sont essentiellement les espèces de *Pseudomonas*, *Streptomyces*, et *Bacillus*, les champignons et saprophytes tels *Trichoderma* spp, et les souches non pathogènes de *Fusarium* spp (Chandel et al., 2010). Ces agents de lutte biologique expriment leur antagonisme contre les agents pathogènes des plantes par les mécanismes suivants : l'antibiose, la compétition, et le parasitisme (Gerbore et al., 2014 ; Benhamou et al., 2012 ; Whipps, 2001).

Outre les mécanismes mentionnés plus haut, il y a l'induction des mécanismes de défense de la plante et la stimulation des mécanismes de croissance des plantes, (Benhamou et al., 2012 ; Beneduzi et al., 2012 ; Compant et al., 2005). Et les champignons et les bactéries sont capables de stimuler la croissance des plantes. Les champignons ayant cette propriété sont appelés Plant growth-promoting fungi (PGPF) (Vos et al., 2014), et les bactéries, Plant growth-promoting rhizobacteria (RGPR) (Almaghrabi et al., 2013 ; Beneduzi et al., 2012).

II.1. Les microorganismes antagonistes impliqués dans la lutte biologique :

II.1.1. Utilisation des bactéries contre des champignons

L'utilisation des bactéries autant qu'agent de lutte pour contrôler l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, fait appel aux PGPR (Plant-Growth-Promotion Rhizobacteria) ou les PGPB (Plant Growth Promotion Bactéria) (Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Orozco-Mosqueda et al., 2020). Parmi ces derniers, de nombreux genres sont recensés tels *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Thiobacillus* (Bashan, 2013). Les *Pseudomonas fluorescents* et les *Bacillus* sont les principaux groupes de bactérie antagonistes du genre *Fusarium* par leur différent mécanisme de défense.

II.1.1.1. Biocontrôle par *Pseudomonas* :

Durant les trois dernières décennies, les bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* ont été identifiées comme agents potentiels de biocontrôle, à l'encontre des phytopathogènes. Les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* saprophytes sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth et al., 1992). Ces bactéries sont responsables de la suppression des maladies

fongiques dans les cultures. Ces *Pseudomonas* diminuent la sévérité de la maladie et stimulent la croissance des plantes comme le riz (Sakthivel et Gnanamanickam, 1987), le blé (Weller et Cook 1983), la pomme de terre (Kloepper *et al.*, 1980). Différentes espèces de *Pseudomonas* spp. *fluorescents* ont été rapportés à la fois comme PGPR (plant growth promoting rhizobactéria), et comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (de Salmone *et al.*, 2001) comme : *P. aeruginosa* (Bano et Musarrat, 2003).

Toutefois, les *Pseudomonas* spp. *Fluorescents* ne sont pas tous des antagonistes.

II.1.1.2. Par Bacillus

De nombreuses recherches ont concernée Bacillus qui sont des habitants communs de la rhizosphère et possèdent une grande activité dans le contrôle biologique des maladies liées au sol. Ces rhizobactéries ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques inhibant divers phytopathogènes (Raaijmakers *et al.*, 2002) ; produire des sidérophores ; sécréter des enzymes hydrolytiques telles que les chitinases, glucanase, protéase et lipases qui peuvent lyser les cellules fongiques ; stimuler le système de la défense systémique (ISR) chez l'hôte et de produire des substances volatiles. Plusieurs souches du genre Bacillus : *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. mycoides* et *B. sphaericus* provoquent des réductions significatives de l'intensité et la gravité de diverses maladies sur une diversité d'hôtes (Choudhary et Johri, 2008)

II.1.2. Utilisation des champignons contre des champignons :

Les PGPF (Plant Growth-Promoting Fungi) Certains champignons stimulent la croissance et la défense de la plante, accompagnée avec une activité antagoniste envers différents phytopathogènes appelés récemment PGPF “ Plant Growth-Promoting Fungi”. Les PGPF, peuvent être des champignons filamenteux voire même des levures également appelées PGPY pour “Plant Growth-Promoting Yeasts”, présents naturellement chez des plantes herbacées que chez les plantes ligneuses et sont à l'origine de symbioses remarquables telles que les mycorhizes (Harman *et al.*, 2004). Parmi lesquelles on cite les TR (*Trichoderma* spp.) qui constituent les PGPF les plus performantes.

II.1.2.1. Biocontrôle par *Trichoderma* :

Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade la pectinase et d'autres enzymes qui sont essentiels pour les phytopathogènes et en plus de son effet inhibiteur des phytopathogènes, *Trichoderma* est aussi capable d'induire une résistance localisée et systématique. L'amélioration

de la croissance des plantes par *Trichoderma* peut prendre lieu soit au niveau de la plante (Lindsey *et al.*, 1967; Yedida *et al.*, 2001), soit au niveau du sol (Chang *et al.*, 1986; Harman, 2000). L'induction de la résistance chez les plantes par *Trichoderma* comparée avec les réponses induites par les rhizobactéries. *Trichoderma* est résistante aux cyanures et produit deux différentes enzymes qui sont capables de dégrader les cyanures dans la zone racinaire (Ezzi *et Lynch*, 2002). Par la suite, ce champignon peut augmenter la croissance racinaire, détruit les métabolites toxiques produits par la microflore et contrôle directement les pathogènes des racines. Des observations microscopiques sur des cultures de différents champignons ont montré que *Trichoderma* croit parallèlement avec *Rizoctonia Solani*. Toutefois, *Trichoderma* s'enroule autour du *Rizoctonia solani* et forme des crochets empêchant ainsi le développement de celle-ci (Shalini *et al.*, 2007 ; Aymen *et abidat*, 2018).

II.1.3. Actinomycètes : Agents de lutte biologique

Les actinomycètes présentent un important potentiel d'agents contre des maladies phytopathogènes. En effet, ces dernières décennies, plusieurs études se sont intéressées aux rôles que pourrait jouer les actinomycètes dans la suppression des phytopathogènes. Le premier produit de lutte biologique commercialisé à base d'actinomycètes a été fabriqué à partir de *Streptomyces griseoviridis* pour contrôler les agents phytopathogènes comme le *Botrytis* et le *Fusarium* (Copping *et Mens*, 2000; Errakhi, 2008). Les actinomycètes sont des bactéries saprophytes capables de dégrader la matière organique dans le sol et d'utiliser des molécules plus complexes pour leur croissance (Lechevalier *et Lechevalier*, 1970). Ceci leur permet de s'adapter et de coloniser différents milieux rhizosphériques. Cette caractéristique est essentielle dans la lutte biologique. Ainsi, les actinomycètes peuvent agir par différents mécanismes d'action comme l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008). La plupart des études ont utilisé des *streptomycètes* comme agents potentiels de lutte biologique contre les champignons pathogènes (Tahvonon *et Avikainen*, 1987; Xiao *et al.*, 2002).

III. Sols résistants

Les sols résistants ont été décrits par Barker *et Cook* 1974 comme des sols dans lesquels la sévérité ou l'incidence d'une maladie restent limitées, malgré la présence de l'agent pathogène d'une plante hôte sensible, et de condition climatiques favorables au développement de la maladie. Le pouvoir suppressif naturel des sols face au flétrissement fusarienne a été reconnu pour la première fois au XIXe siècle par Atkinson *et al.*, 1975 et a

ensuite été décrit pour d'autres sols dans le monde entier (Dominguez *et al.*, 2001) le pouvoir suppressif est spécifique aux fusarioses vasculaires et n'est pas efficace contre les maladies causées par les espèces de *Fusarium* non vasculaire notamment *F. roseum* et *F. solani*, *F. subglutinans*, ou d'autres pathogènes du sol (Deacon et Berry, 1993 ; Fravel *et al.* 2003).

La capacité de suppression du sol a été attribuée à des facteurs biotiques et abiotiques, ou à une combinaison de ceux-ci, et elle diffère d'un pathogène à l'autre (Waller *et al.*, 2002). Les études sur la suppression des maladies ont montré qu'elle résulte des interactions microbiennes plus ou moins complexes entre l'agent pathogène et une partie de la microflore saprophyte. En effet, l'effet suppressif disparaît lors de la destruction des microorganismes par les traitements biocides et peut restaurer en mélangeant une petite quantité de sol suppressif à un sol préalablement traité thermiquement (Shipton *et al.*, 1973 ; Louvet *et al.*, 1976 ; Scherand Baker, 1980). D'autres études ont établi une corrélation entre le type de sol, la présence d'argiles et la suppression des flétrissures dues au *Fusarium* (Stoker, 1962). De nombreux autres facteurs abiotiques tels que la texture de sol, le potentiel hydrique, l'aération, le pH, la teneur en matière organique, la disponibilité en cations (Al, Fe, Mn) sont indirectement impliqués dans les mécanismes de suppression de la maladie, mais il est difficile de généraliser d'un sol à l'autre (Hoepfer et Alabouvette, 1996). Les pratiques culturales telles que les monocultures peuvent également jouer un rôle important dans la capacité de suppression du sol (Barker et Chet, 1982).

Les sols suppressifs sont classés en deux types : sols à répression générale ou antagonisme non spécifique associée à la biomasse microbienne totale du sol qui entre en compétition avec l'agent pathogène pour les ressources ou qui entraîne la suppression par des types d'antagonisme plus directs. (Rovira et Wildermuth, 1981 ; Rani et Sudini, 2013) et les sols à répression spécifique, qui résulte de l'inhibition directe d'un pathogène connu par un microorganisme. Dans certains cas, un agent de lutte biologique est introduit dans le sol pour réduire spécifiquement l'apparition de la maladie (Shipton *et al.*, 1973 ; Kariuki et Dickson, 2007).

La capacité de suppression naturelle du sol peut être augmentée par un compost de qualité qui résulte de la transformation des déchets agricoles ce qui constitue un changement de perspective intéressant (Bosco *et al.*, 2017) ; Nguyen *et al.* 2019 ; Ram *et al.* 2019). La production de compost supprimant les maladies représente une possibilité concrète et

commercialisable d'exploiter une source riche et précieuse de microbiote pour renforcer les propriétés suppressives des sols favorables ou faiblement suppressifs, elle constitue donc une alternative prometteuse aux produits chimiques de synthèse (De Corato, 2020 ; Mehta *et al.*, 2014).

Chapitre II

Etude expérimentale



I. Matériel :

I.1. Appareillage :

- Autoclave
- Etuve
- Balance de précision
- Agitateur magnétique

I.2. Verrerie :

- Béchers
- Eprouvette graduées à pied (10-100 ml)
- Erlenmeyer
- Fiole jaugée (250 ml)
- Tubes à essais

I.3. Autres matériels

- Boite de Petri
- Eau distillée stérile
- Papier aluminium
- Bec bunsen
- Anse de platine
- Emporte pièce
- Produit désinfectant

II. Milieu de culture

Afin d'isoler un maximum de microorganismes contenu dans notre échantillon du sol, plusieurs milieux de culture, variés par leur nature et leur composition, ont été utilisés. Cette variation permettrait aux microorganismes du sol d'avoir plus de chance d'avoir les conditions adéquates pour s'exprimer. Quatre milieux de culture ont été utilisés (Annexe 1).

II.1. Milieux d'isolement de routine

Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) et la gélose nutritive ont été utilisés pour l'isolement et la purification des isolats fongiques

II.2. Milieux spécifiques d'isolement, de purification et de conservation des rhizobactéries

Les deux milieux de culture spécifiques (Gélose Hectoen et Baird Parker) ont été utilisés pour l'isolement des rhizobactéries.

III. Méthodes

III.1. Isolement de l'agent pathogène

III.1.1. Prélèvement et préparation des échantillons des sols rhizosphériques

Les prélèvements des échantillons de sols ont été effectués dans la wilaya d'Adrar, au niveau d'une serre cultivée de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Six échantillons ont été prélevés à trois niveaux différents (0-20 cm, 20-30 cm et 30-40 cm), à l'aide d'une tarière manuelle. Seuls les échantillons de l'horizon (20-30) ont été l'objet de notre travail.

Le sol a subi un séchage à l'air libre et tamisage à 2 mm afin d'éliminer les éléments grossiers et d'assurer d'une granulométrie homogène. Les échantillons des sols rhizosphériques prélevés ont été placés dans des sacs en papier kraft, bien fermés et conservés au réfrigérateur à 4°C.

III.1.2. Isolement des souches à tester pour leur pouvoir antagoniste

L'isolement des souches à tester pour leur pouvoir antagoniste est performant en utilisant la technique de l'incorporation directe du sol (soil plates) et la technique de suspension-dilution.

- **Technique de l'incorporation directe au sol**

Une faible quantité de terre (6 mg) a été saupoudrée et immédiatement dispersée dans des boîtes Petri contenant le milieu PDA. Les cultures ont été ensuite mises en incubation à 28°C et (Davet et Rouxel, 1997).

- **Technique de suspension-dilution**

Les différentes étapes de cette technique sont schématisées par la figure 05.

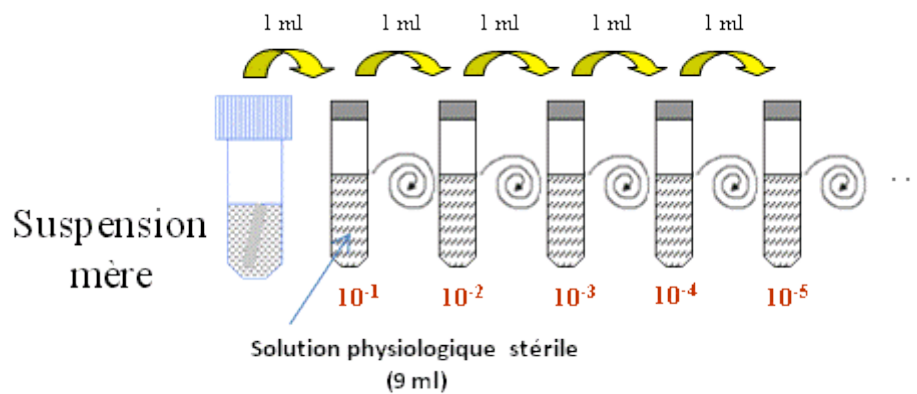


Figure 05 : Technique de suspension-dilution

III.1.3. Purification et conservation des isolats

Les microorganismes isolés sont d'abord purifiés par deux ou trois repiquage successifs mono-colonie sur des milieux de cultures PDA, Gélose nutritive, Gélose Hectoen et Baird Parker pour les champignons, les actinomycètes et les bactéries. Une fois purifié, chaque isolat est désigné par une lettre alphabétique suivi d'un numéro. Pour les souches bactériennes, le numéro de code est précédé par la lettre B, suivi d'un numéro d'ordre. La désignation des isolats des champignons commence par la lettre C, suivi d'un numéro d'ordre. Les isolats des actinomycètes sont indiqués par la lettre A, suivi d'un numéro d'ordre. Des disques de gélose prélevés sur le pourtour de chaque boîte de Petri ensemencée, ont été transférés dans des tubes à essai contenant les milieux de cultures correspondant, ensuite ils ont été conservés pendant 7 à 9 jours.

IV. Test de l'activité antagoniste *in vitro*

Ce test consiste en la vérification des activités antagonistes *in vitro* des microorganismes antagonistes sélectionnés vis-à-vis l'agent phytopathogène étudié. Nous avons utilisé dans ce test un isolat de Fol répété dans toutes les boîtes : 14 isolats de bactéries, 11 isolats d'actinomycètes et 5 isolats de champignons. Ainsi les tests de confrontation ont été réalisés par une seule méthode que s'appelle la confrontation par contact direct sur milieu de culture.

IV.1. Confrontation par contact directe sur milieu de culture

La technique utilisée est celle décrite par [Benhamou et Chet \(1997\)](#). Cette technique consiste à placer dans la même boîte de pétrie, contenant le milieu PDA, deux pastilles gélosée, l'une portant l'antagoniste et l'autre le pathogène. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 4 cm et à équidistance du centre de la boîte. Les repiquages sont effectués en même temps. L'incubation est réalisée à 28°C pendant 7 jours. Des boîtes témoins ne contenant que l'agent pathogène sont incubées dans les mêmes conditions. La croissance en diamètre des colonies de l'agent phytopathogène est mesurée et exprimée en millimètre.

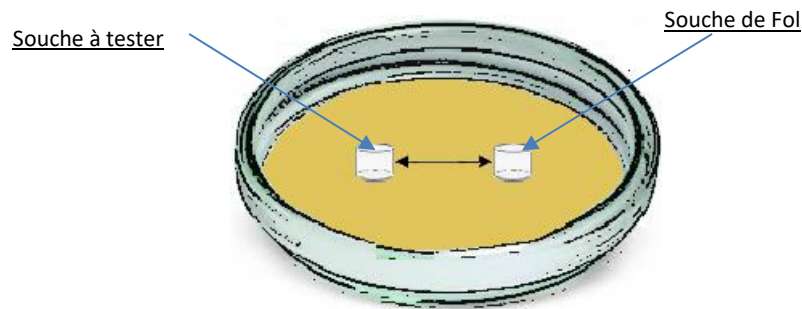


Figure 06. Présentation schématique de la confrontation directe.

Les mesures radiales quotidiennes de chaque colonie via le test d'antagonisme (y compris le diamètre du disque inoculé) permettent d'estimer l'effet inhibiteur de chaque souche antagoniste sur la croissance mycélienne du pathogène.

La comparaison se fait alors par rapport à une boîte témoin en absence d'antagoniste (Marwa *et al.*, 2014).

IV.2. Evaluation du taux d'inhibition

La mesure du diamètre moyen de chaque colonie, calculé à partir de deux diamètres perpendiculaires. Le taux d'inhibition est calculé après 7 à 9 jours d'incubation à 28° C, relativement à la croissance mycélienne maximale enregistrée chez les témoins qui sont représentés par des cultures cryptogamiques pures sans interaction avec les autres souches des microorganismes

Le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne est estimé selon la formule suivante (Hamouni *et al.*, 1996) :

$$I(\%) = (1 - C_n / C_o) * 100$$

Où : **I (%)** : le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

C_n : diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste.

C_o : diamètre moyen des colonies témoins.

V. Analyse statistique des données

Les données obtenues pour chaque confrontation on fait l'objet 'analyse statistiques. Des analyse de la variance (ANOVA) ont été effectuées. Le test de Fisher et celui de Tukey ont été

utilisé pour la comparaison des moyennes pour ces paramètres chaque fois que le diamètre calculé était significatif.

Un seul facteur à été pris en considération à savoir le facteur souche fongique, et une seule variable à savoir le diamètre de croissance des colonies.

Chapitre III

Résultats et Discussions

Résultats

V.1. Isolement des agents antagonistes

L'isolement et la purification des souches sur les milieux de culture utilisés, PDA, gélose Hectoen, Baird Parker et la gélose nutritive (annexe 1), selon les deux méthodes que nous avons utilisées (l'incorporation directe du sol (soil plates) et la méthode de suspension dilution) nous a permis de sélectionner 30 microorganismes classés dans le tableau 01.

Tableau 01 : Nombre et type de microorganismes isolés

Milieu de culture	Actinomycète (A)	Bactérie (B)	Champignon (C)	Total
PDA	3	5	0	8
Gélose Hectoen	0	0	5	5
Baird Parker	3	5	0	8
Gélose nutritive	5	4	0	9
Total	11	14	5	30

Les bactéries et les actinomycètes sont les microorganismes les plus abondants dans notre échantillon du sol (Figure 07). D'autre part, le taux de récolte de ces microorganismes varie d'un milieu à un autre. Ce constat nous permet de conclure que l'obtention des antagonistes n'est possible que si des milieux de culture adéquats sont disponibles.

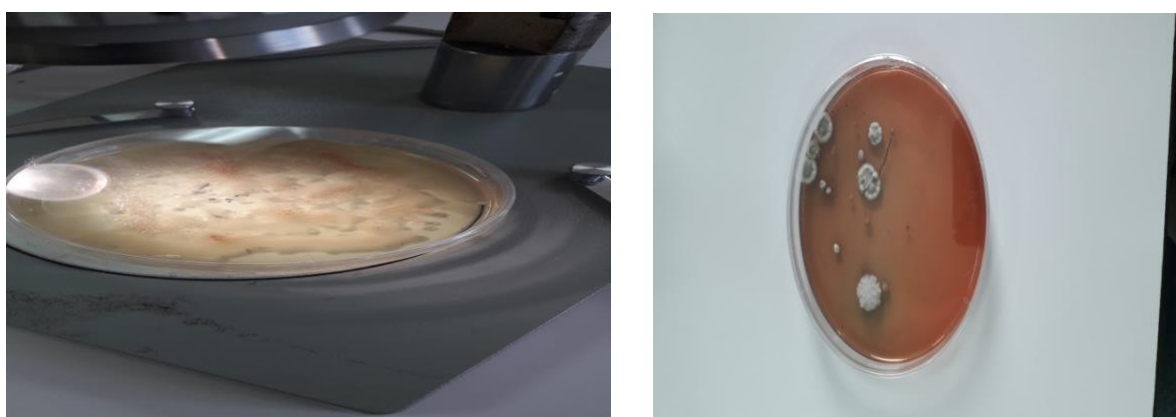


Figure 07 : Souches obtenues à partir du sol sur milieu Gélose nutritive et Gélose Hectoen respectivement (Photo originale, 2023).

V.1. Test d'antagonisme

La confrontation directe, entre l'agent pathogène et les souches présumées antagonistes, montre une faible croissance du Fol dans certains cas et une vitesse de croissance remarquable des agents testés pour leur pouvoir antagoniste. Ce constat indique un taux d'inhibition important.

Une zone importante d'inhibition apparaît entre un nombre considérable des microorganismes confrontés à la souche du pathogène. L'étendu de cette zone diffère d'une confrontation à une autre. Cet étendu reflète l'importance du pouvoir antagoniste de la souche testée.

Les résultats de notre travail montrent qu'au bout du 4^{ème} jour d'incubation, le taux d'inhibition peut atteindre 79,28% lors de certaines confrontations, comme c'est le cas de la souche antagoniste A4g, alors que l'isolat de *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* n'occupait qu'une surface d'environ 15 mm de diamètre (Figure 08).

La souche témoin *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* cultivée seule s'étend sur une surface d'environ 7 cm de diamètre après cinq jours d'incubation.

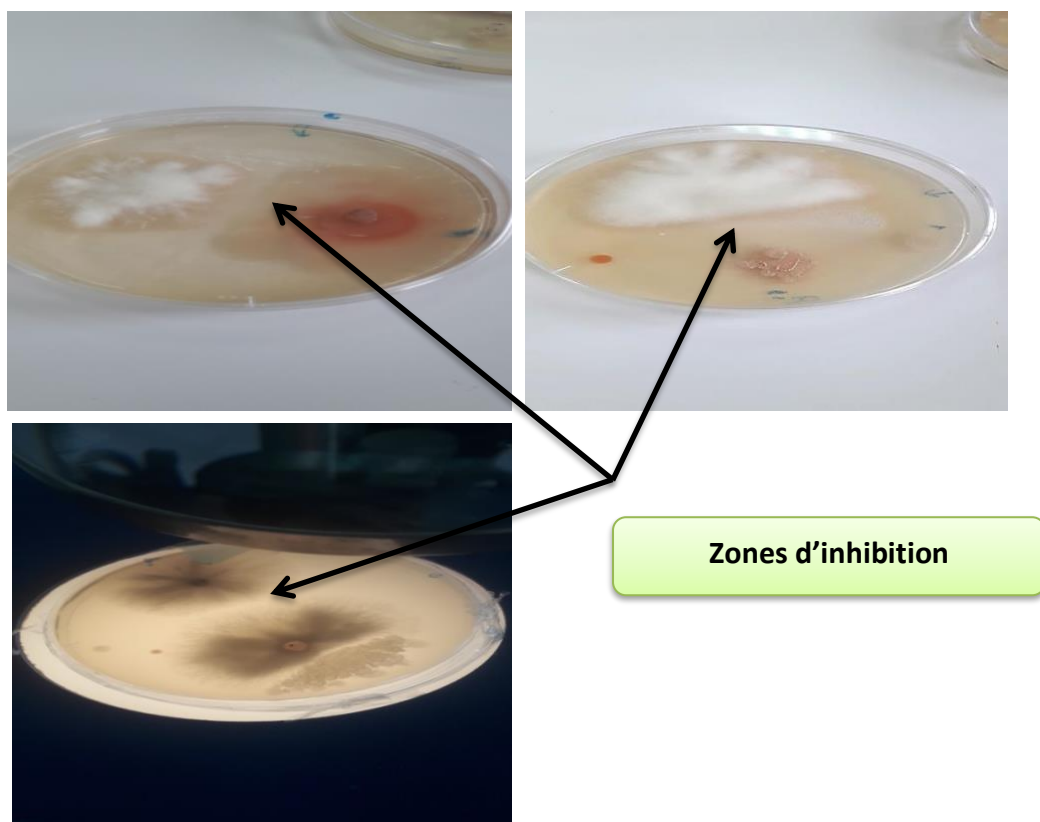


Figure 08 : Zones d'inhibition apparue lors de la confrontation directe (Fol -Antagoniste)

(Photos originales, 2023).

Parmi les 14 isolats de bactéries, les 11 isolats d'actinomycètes et les 5 isolats de champignons testés, 3 souches d'actinomycètes et 1 souche de bactérie ont montré des capacités de contrôle de l'agent pathogène (Fol) importante. Les plus efficaces qui inhibent le développement du mycélium de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* sont les isolats A4g, B4p, A1g, A1Bi avec un pourcentage d'inhibition : 79.28%, 74.57%, 72%, 65.57% respectivement.

Tableau 02 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* "F.o.1 " par confrontation directe avec les 30 microorganismes sélectionnés :

	Souches antagonistes	Taux d'inhibition (%)
1	A1g	72,00
2	A2g	27,00
3	A3G	58,14
4	A4g	79,28
5	A5G	52,85
6	A1p	57,85
7	A2p	41,43
8	A4p	60,28
9	A1bi	65,57
10	A2bi	41,43
11	A7Bi	56,00
12	B1g	24,57
13	B2g	20,28
14	B3g	42,43
15	B5g	56,00
16	B6g	54,85
17	B7g	50,00
18	B1p	29,85
19	B3p	48,43
20	B4p	74,57
21	B7p	37,14
22	B8p	49,28
23	B1bi	38,14
24	B4bi	47,143
25	B5bi	28,143
26	C1	30,71
27	C2	25,57
28	C3	37,43
29	C4	27,43
30	C5	36,00

Si la zone d'inhibition la plus élevée a été notée avec la souche d'actinomycète A4g, repiquée sur le milieu gélose nutritive avec une zone d'inhibition de 79.28%, en revanche la zone d'inhibition la plus faible a été notée avec la souche bactérienne B2g avec un pourcentage d'inhibition de 20.28%.

Au terme du temps consacré à leur incubation, les boîtes de Petri sont totalement envahies par le développement du mycélium de la souche fongique.

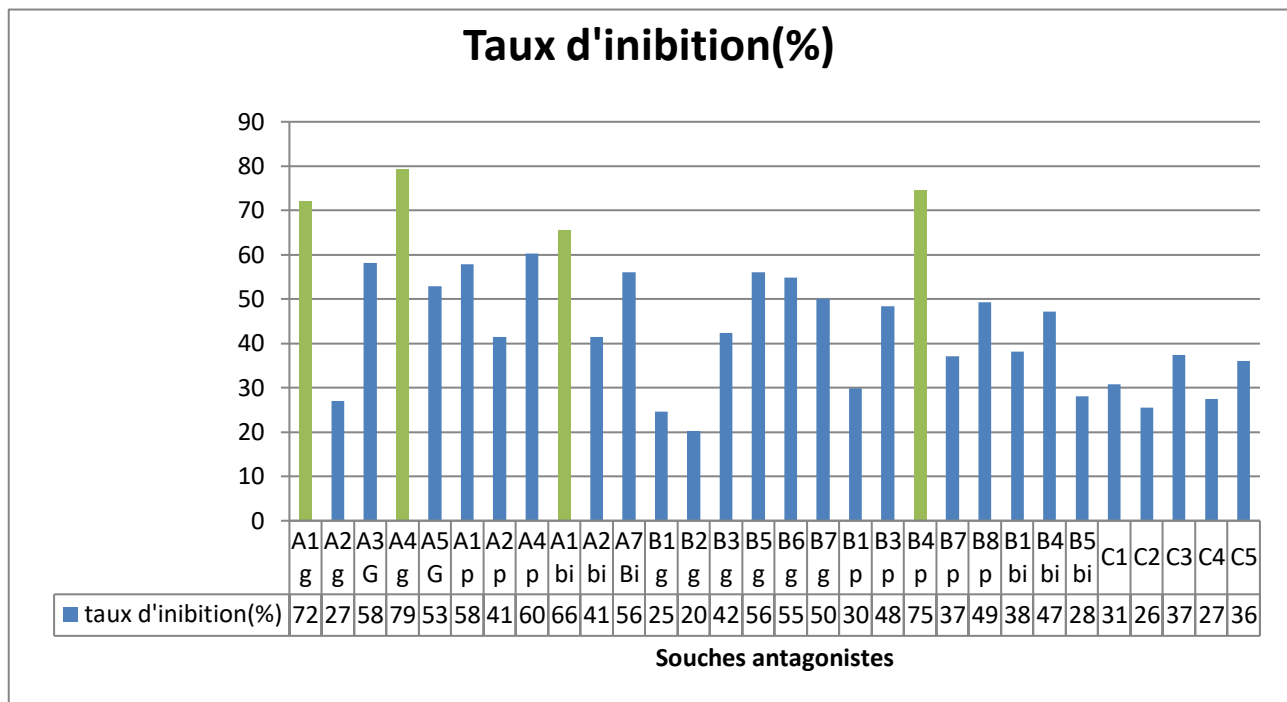


Figure 09 : Diagramme représentant le taux d'inhibition de 30 isolats antagonistes vis-à-vis d'une souche de *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* après 4 jours d'incubation à 28°C.

L'analyse statistique des résultats obtenus au cours de ce travail a révélé des différences significatives entre les taux d'inhibition des diverses souches testées pour leur pouvoir antagoniste vis-à-vis de la souche pathogène Fol. En effet, le test HSD de Tukey (Annexe 2) a dégagé trois classes distinctes : A, AB et B.

Discussion

Cette étude peut être considérée comme une approche de contrôle biologique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

La lutte biologique contre les souches fongiques, fait largement appel aux tests d'antagonisme. L'efficacité de la lutte par cette procédure dépend du choix de souches antagonistes performantes à partir de critères adéquates.

En effet, l'étude de l'activité antagoniste *in vitro*, par la technique de confrontation directe, nous a permis d'évaluer l'effet d'antagonisme de plusieurs isolats de microorganismes présents dans un échantillon de sol vis-à-vis au développement de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, agent pathogène de la pourriture fusarienne de la tomate.

Les résultats de la confrontation directe indiquent que le repiquage simultané des isolats à tester, issus du sol étudié, face à l'isolat de *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* a montré une croissance plus rapide des isolats sujet de test que l'isolat de l'agent pathogène .

La zone franche observée entre les souches confrontées indique l'absence d'un contact physique ou d'un quelconque enchevêtrement entre les deux. Ce constat nous laisse supposer que l'inhibition du développement du mycélium de l'agent phytopathogène par les microorganismes antagonistes se fait par production de substance inhibitrice de nature chimique. Ces dernières pourraient être des antibiotiques, des enzymes ou des métabolites secondaires qui provoquent un ralentissement significatif de la croissance mycélienne de l'isolat de *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Aussi, ce pouvoir myco-parasitaire pourrait être probablement une combinaison entre deux mécanismes, à savoir la sécrétion des substances inhibitrices et l'antibiose. D'ailleurs, la souche qui a exhibée un taux de pouvoir antagoniste significatif est un actinomycète, renforce cet argument sachant que ce type de microorganismes sont doués d'être productrices d'antibiotiques.

Par comparaison, nos résultats concordent avec ceux de nombreux travaux de recherche, qui ont confirmé le rôle des microorganismes dans la lutte biologique contre les maladies des plantes. On cite comme exemple les travaux de [Benchabane et al., \(2000\)](#) et de ; [Bounoua, \(2008\)](#).

Les trois classes A, AB et B, dégagées par le test HSD de Tukey, réalisé par la synthèse des comparaisons multiples par paires pour souches antagonistes, va de pair avec les valeurs portées dans le tableau 01.

En effet, la classe A, contient la taux d'antagonisme le plus élevé et de ce fait elle se démarque nettement des autres valeurs. Dans ce sens, la souche A4g est effectivement celle qui démontre un taux antagoniste très significatif.

La classe AB, porte les valeurs des taux d'antagonismes les plus rapprochées l'une de l'autre, et de ce fait la comparaison à ce niveau est plus ou moins embrouillés.

La classe B qui se distingue elle aussi des autres classes, elle se caractérise par fait qu'elle englobe la plus faible valeur des taux d'antagonisme. Pour cette raison, la souche représentée par cette classe ne peut être caractérisée comme antagoniste.

Sur un autre volet, les résultats obtenus n'ont pas élucidé les mécanismes par lesquels les isolats sélectionnés parviennent à inhiber le développement du *Fusarium* phytopathogène. Ce point ne faisait pas parti comme l'un des objectifs de ce travail. Cependant, certains auteurs ont mentionné que l'action inhibitrice de *Fusarium* est due à la production d'antibiotiques par les antagonistes (Howells *et al.* 1979, Haas et Kell.2003, Ziedan *et al.* 2010).

Conclusion et Perspectives



Conclusion et perspectives

La tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher en Algérie. Elle est la commodité la plus cultivée et la plus consommée en Algérie après la pomme de terre. Cependant, comme la plupart des cultures, cette espèce est menacée par les champignons telluriques, dont les espèces de *Fusarium* pathogènes et notamment le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, agent causal de la pourriture fusarienne.

L'amélioration de la culture de cette espèce, via ses qualités et son rendement, passe d'abord par le développement de techniques de lutte contre les agents pathogènes qui provoquent des pertes considérables en quantité et en qualité. Ces techniques doivent répondre à certaines normes incontournables, comme l'efficacité, l'invariance et l'innocuité vis-à-vis de la biocénose et du biotope.

Dans ce contexte, notre travail tend à être une étape essentielle pour tester l'efficacité d'une technique de lutte biologique contre le phytopathogène précité. Le principe repose sur l'exploitation du bio fonctionnement des microorganismes provenant de la rhizosphère du sol.

En effet, l'étude de la capacité inhibitrice de trente microorganismes, isolés et sélectionnés à partir d'un échantillon de sol, à l'encontre de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* a été effectuée par l'utilisation de la technique de la confrontation directe *in vitro*.

Le test du pouvoir antagoniste a révélé que le taux d'inhibition varie entre un maxima de 79,28%, et un minima de 20,28%. Se basant sur ces valeurs, on peut qualifier notre sol comme assez répressif à l'égard du *Fusarium wilt*.

Les résultats obtenus sont intéressants ; ils doivent également être confirmés afin de mieux valoriser l'effet antagoniste testés et d'élargir l'utilisation des agents antagonistes dans le

contrôle biologique pour diminuer l'utilisation des pesticides dans la protection des cultures maraichères.

En perspective et au terme de ce travail, nous envisageons de continuer les recherches sur certains axes pertinents relatifs à cette étude. A cet égard, il est intéressant d'approfondir les études pour :

- connaître avec précision les principaux déterminants de la suppression des champignons phytopathogènes par les microorganismes antagonistes ;

- déterminer les principaux métabolites synthétisés par ces microorganismes, qui auraient un impact bénéfique sur la protection des plantes.

- tester des molécules pures au lieu d'utiliser des produits formulés pour éviter toutes interférences.

L'établissement d'un système de lutte biologique dépend nécessairement de la stabilité et de la survie des micro-organismes phytoprotectrices et/ou phytostimulatrices au niveau de la rhizosphère. Par conséquent, la poursuite des travaux nécessite l'étude du pouvoir colonisateur de l'antagoniste sélectionné au niveau de la rhizosphère et l'évaluation de leur effet d'une part sur la croissance de la plante cible, et d'autre part sur le développement des autres microorganismes pour ne pas créer un déséquilibre dans l'environnement (domaine de la métagénomique). A ce propos, nous proposons d'effectuer un échantillonnage plus large dans les principales zones agricoles à vocation maraichère et dans les différents étages bioclimatiques, afin de sélectionner des souches qui peuvent être plus efficaces.

Références Bibliographiques



-A-

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academies Press, California 92101, 524-539.
- Alabouvette, C. Lemanceau, P. Steinberg, C. 1993. Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. Pesticide Sci. 37: 365-73.
- Alabouvette, C. Olivain, C. et Steinberg, C. 2006. Biological control of plant diseases: the European situation. European Journal of Plant Pathology, 114: 329-341.
- Alexander, L.J., and Tucker, C.M. 1945. Physiologic specialization in the tomato wilts fungus *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*. J. Agric. Res. 70:303-313.
- Almaghrabi, O. A., Massoud, S. I., et Abdelmoneim, T. S. 2013. Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. Saudi journal of biological sciences, 20(1), 57-61.
- Aymen et Abidat. 2018. L'effet de *Trichoderma* sp et acide salicylique sur la réduction de l'incidence de la maladie et l'efficacité sur la croissance de la variété de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), contaminée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et *Botrytis cinerea*. Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master. Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi.

-B-

- Baker, R and chet, I. 1982. Induction of suppressiveness, in: Schneider RW (ed) suppressive soils and plant diseases. American phytopathological society, St. Paul, MN, pp 35-50.
- Bano, N., & Musarrat, J. (2003). Characterization of a new *Pseudomonas aeruginosa* strain NJ15 as a potential biocontrol agent. Current microbiology, 46(5), 0324-0328.
- Bashan, Y., De-Bashan, L.E., Prabhu, S. R. et Hernandez, J.P. (2013). Advances in Plant Growth-Promoting Bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). 33p.

- Benchabane, M. 2005. Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souche de *Pseudomonas* spp. fluorescents, thèse de Doctorat d'état .FSB6UTHB.Alger, p. 235.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., et Passaglia, L. M. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35(4), 1044-1051.
- Benhamou N., Chet I. (1997). Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, p. 2095–2099.
- Benhamou, N., le Floch, G., Vallance, J., Gerbore, J., Grizard, D., et Rey, P. 2012. *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiology*, 158(Pt 11), 2679-2694.
- Benhacene Z., Messiad I et Slimane BL. 2016. Évaluation et taxonomie numérique des bactéries promotrices des plantes isolées de rhizosphère du *Capsicum annuum* (Master dissertation, Université 8 Mai 1945 Guelma Université).
- Bensidhoum, L., Rai. A., Tabli. N., Kahouadji .N., Khaber. M., and Nabti .E. (2015). Biological Control of *Botrytis cinerea* by *Bacillus* sp. Strain S7LiBe Under Abiotic Stress. 1(6): 07-14.
- Bensidhoum L., Nabti El-H., Tabli N., Kupfers chmied P., Weiss A., Rothballer M., Schmid M., Keel C. et Hartmann A. 2016. Heavy metal tolerant *Pseudomonas protegens* isolates from agricultural well water in northeastern Algeria with plant growth promoting, insecticidal and antifungal activities. *Eur. J. Soil. Biol.* 75: 38–46.
- Blancard, D. 1997. Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 212 p.
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Booth, C. 1984. The *Fusarium* problem: Historical, economic and taxonomic aspects. In *The applied Mycology of Fusarium*, Moss, M.O. and Smith, J. E. Ed. Cambridge University Press, 1-13.
- Bost, S.C. 2001. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Tennessee. *Plant Dis.* 85:802.
- Bouhot, D., Rouxel, F. et Louvet, J. 1972. Observation de la fusariose vasculaire de la tomate en France. *Ann. Phytopathol.* 4:187-191.
- Bouhot, D. 1981. Some aspects of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on Cucurbitaceae. In *Fusarium, diseases, biologie and taxonomy*. 318-326.
- Bounaga, N. 1985. Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent de la fusariose du palmier dattier. Thèse de Doctorat d'état. Université des sciences et de Technologie Houari Boumédiène, Alger, p.195
- Booth, C. 1975. The present status of *Fusarium* taxonomy. *Ann. Rev. Phytopath.* 13: 83-93.
- Burgess, L.W., and C.M. Liddell. 1981. Laboratory manuel for *Fusarium* research. University of Sydney, Sydney, Australia.
- Burnett, J.H. (1984). Aspects of *Fusarium genetics*. In "The Applied Mycology of *Fusarium*" (Moss M.O & Smith J.E., eds), pp. 39-69. Cambridge University Press, Cambridge.

- Campbell, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press.
- Chandel, S., Allan, E. J., et Woodward, S. 2010. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato by *Brevibacillus brevis*. Journal of phytopathology, 158(7-8), 470-478.
- Chang, Y.C., R. Baker, O. Kleifeld et I. Chet., (1986). Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease, 70: 145-148.
- Chellimi, D.O., Dankers, H.A., and Crosier, B. 1992. First report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* race 3 on tomato in northwest Florida and Georgia. Plant Dis. 76:861.
- Choudhary D.K., Prakash A., Wray V et Johri B.N. (2008). Insights of the fluorescent *Pseudomonas* in plant growth regulation. Current Science. 97 (2): 170-179.
- Clark H.C. (1969). Pulse interval as a critical parameter in the courtship song of *Drosophila melanogaster*. Animal Behaviour. 17: 755--759.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., et Barka, E. A. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Applied and environmental microbiology, 71(9), 4951-4959.
- Copping L. G., and Menn J. J. (2000). Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. Pest Manage. Sci. 56, 651-676.
- Corelle J, Jones Jp . fusariose dans : Jones JB, Zitter TA, Monol TM, Miller SA . Edition recueil des maladies et ravageurs de la tomate . 2e éd la société américaine de phytopathologie, Saint Paul MN, Etats-Unies . 2014 p.28-29.
- C. R. HOWELL and R. D. STIPANOVIC, 1979. "Control of *Rhizoctonia solani* in cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium". Phytopathology, 69 , 480-482.



- Davet, P. et Rouxel, F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. INRA, Paris. P. 13.
- Davis, R.M., Kimble, K.A., and Farrar, J.J. 1988. A third race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* identified in California. Plant Dis. 72:453.
- Deacon, J. W ; Berry , L .A (1993). Biocontrol of soil borne plant-pathogens—concepts and their application . Pestic Sci 37:417-426.
- DECORATO U., 2020. - Soil microbiota manipulation and its role in suppressing soilborne plant pathogens in organic farming systems under the light of microbiome-assisted strategies. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 7: 17.

- Di Pietro, A. , Madrid, MP , Caracuel, Z. , Delgado-Jarana, J. et Roncero, MIG (2003) *Fusarium oxysporum*: exploration de l'arsenal moléculaire d'un champignon du flétrissement vasculaire . Mol. Phytopathologie . 4 , 315–325.
- Dommergues, Y. et F. Manganot, 1970. Ecologie microbienne du sol. Edition MASSON. 40-45p.
- Dominguez,J ;Negrin ,M .A and Rodriguez ,C,M (2001).Aggregate water – stability,particle size and soil solution properties in conducive and suppressive soils to fusarium wilt of banana from Canary islands (Spain).Soils Biol Biochem 33:449-455.
- Duval J . 1991 . les fusariose de la tomate . Ecological Agriculture project, Mc Gill university (Macdonald Campus) Ste – Anne – de Bellevue .

-E-

- Emmert .E. A. B. and Handelsman J. (1999). Biocontrol of plant disease: a (Gram -) positive perspective. FEMS Microbiol. Lett. 171: 1-9.
- Errakhi R., Bouteau, F., Lebrihi, A., Barakate, M. (2007). Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for dampingoff diseasein sugar beet (*Beta vulgaris* L.) .World J. Microbiol.Biotechnol.23,1503-15.
- E.H. ZIEDAN, E.S. FARRAG, R.S. EI-MOHAMEDY, M.A.A. ALLA, 2010. “*Streptomyces alni* as a biocontrol agent to root-rot of grapevine and increasing their efficiency by biofertilisers inocula”. Archives of Phytopathology and Plant Protection. 43 (7), 634-646.

-F-

- Faheed, FA, Abd-Elaah, Géorgie, Mazen,A . Atténuation de l'effet de la maladies sur les plantes de tomate par choc thermique et acide salicylique infecter par *Alternaria solani*. Int . J.Agric .Biol . 2005.7 ; 783-789.
- Fravel, D ; olivian, C and Alabouvette, C. 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. New phytol 157:493-502

-G-

- Gauman, E. 1957. Fusaric acid as a wilt toxin. Phytopathology.(47): 342-357.

- Gerbore, J., Benhamou, N., Vallance, J., Le Floch, G., Grizard, D., RegnaultRoger, C., et Rey, P. 2014. Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(7), 4847-4860.
- Ghomari Faiza Nawel . 2009 . Moyen de lutte chimique et biologique contre le *Fusarium oxysporum* F.s.p. Albendinis agent causal du Bayoud chez le palmier dattier *Phoenix dactylifera* L. université oran 1 Ahmed Ben Bella .
- Grattidge, R., and O'Brien, R.G. 1982. Occurrence of a third race of *Fusarium* wilt of tomatoes in Queensland. *Plant Dis.* 66:165-166.
- Gravel, V . 2007 . Lutte contre pythium chez la tomate de serre : une approche microbiene . 138p. Thèse (PH . D) ; Faculté des science de l'agriculture et de l'alimentation ; université laval , Québec.
- Groupe de Travail Biocontrôle, Académie d'Agriculture de France. (2016). Biocontrôle en Protection des cultures : périmètre, succès, freins, espoir. Paris.
- Guarro J., Gene J., (1992). *Fusarium* infections, Criteria for the identification of the responsible species, *Mycoses*, 35, 109-114.

-H-

- HAAS, and C. KEEL, 2003. "Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease". *Annu. Rev. Phytopathol*,41, 117-153.
- HAAS, and C. KEEL, 2003. "Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease". *Annu. Rev. Phytopathol*,41, 117-153.
- Hamouni, A., M.R. Hajlaoui and A. Mlaiki. 1996. Résistance de *Botrytis cinera* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bulletin*, 26 : 697-705.
- Harman, G.E., (2000). Myths and dogmas of biocontrol - Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84: 377-393.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. et Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol*. Vol-2: 43-56Pp
- Horsfall, JG. Dimond, AE.1960. An advanced treatise, *Plant pathology*, New York, London.

-I-

- INRAE. (s.d.). Agriculture compétitive et durable : les apports croissants du biocontrôle.
- ITCMI, 2018. - La culture de Tomate Industrielle. Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles, 4p.

-J-

- Jennot B . 2005 . Les fusariotoxines sur céréales : detection, risque et nouvelle réglementation . Thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie université.

-K-

- Kariuki, G,M and Dickson, D.W. 2007. Transfer and development of pasteuria penetrans. J Nematol 39(1):55.
- Kariuki, G,M and Dickson, D.W. 2007. Transfer and development of pasteuria penetrans. J Nematol 39(1):55.
- Karthika, S; Varghese, S and Shanavas, J. 2020. Exploring the efficacy of antagonistic rhizobacteria as native biocontrol agent against tomato plant diseases. 3Biotech.
- Khiat Lamia et Guerfi. 2018 . mise en évidence in vitro de l'effet d'un fongicide systématique sur l'anthracose de la tomate . mémoire de master . université des frères montouri constantine 1.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., & Schroth, M. N. (1980). Pseudomonas siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soils. Current microbiology, 4(5), 317-320.
- Komi, A. (1993). Pouvoir pathogène et diversité génétique chez Fusarium oxysporum f.sp vasinfectum (ATK) SN. Et H : Agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier II. Sciences et Techniques du Languedoc.

-L-

- Laurent Page . 2012 . fusariose visculaire de la tomate .12p.

- Lahlali R., Ezrari S., Redouane N., Kenfaoui J., Esmaeel Q., EL hamss H., Belabess Z and Ait barka J. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, 9;10 (3):596
- Laterrot, H.; Rouxel, F.; Davet, P.; Mineau, R.; Nourrisseau, J.G. et Jonan, B. 1978. La fusariose vasculaire de la tomate en France. *P.H.M.Rev.Horticol* 137: 35-40.
- Lechevalier M.P. and Lechevalier H. (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In: *Biology of industrial microorganisms*. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. 315-316.
- Lee, K. J., Oh. B. T. et Serelathan, K. K. 2013. Advances in Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Biological Control of Plant Diseases. Dans *Bacteria in Agrobiolgy: DiseaseManagement*. Maheshwari, D.K. (éd). Springer Heidelberg New York Dordrecht London, p. 1-13.
- Leslie J.F and Summerell B.A. (2006). *The Fusariumlaboratory manual*. Blackwell Publishing, Ames USA. Pages: 88,213,224, 225,226; 250,369.
- Lindsey D. and Baker R. (1967). Effect of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 338: 1262-1263.
- Lugtenberg, B., Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol. Vol-63* : 541-556Pp.
- Louvet, J; Rouxel, F and Alabouvette, C. 1976. Recherches 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. *Annales de phytopathologie* 8 : 425-436.

-M-

- Marlatt, M.L., Correll, J.C., Kaufmann, P., and Cooper, P.E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* races 2 and 3 of *Lycopersicon pennellii*. *Aust. J. Agric. Res.* 38:729-733.
- Marwa, H., Rania, A.B.A., Hayfa, J.k., and Mejda, D.R. 2014. Pouvoir antifongique des *Penicilium* sp. Et des *Gliocladium* spp. Contre *Alternaria solani* in vitro et sur fruits de tomate. *Tunis.J. Med. Plants Nat. Prod.* 2014; 12:9-28
- MCGovern r.J., 2015. - Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 1-15.

- McGrath, D.J., Gillespie, G., and Vawdrey, L. 1987. Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* races 2 and 3 of *Lycopersicon pennellii*. *Aust. J. Agric. Res.* 38:729-733.
- Mehta, C, Palni, U, Franke-Whittle, I and Sharma, A. 2014. Compost: its role, mechanism and impact on reducing soil- borne plant diseases. *Waste manag.*34(3). 607-622.
-
- Messiaen, C.M. et R. Cassini, 1968. Recherche sur les fusarioses. IV- La systématique *Fusarium*. *Ann. Epiphyt.* 19, 387-454. 37.
- Messiaen, C.M. 1981. Les variétés résistantes. Méthodes de lutte contre les maladies et ennemies des plantes. Edition INRA. Paris. 374 p.
- Meyer, J.A. 1967. Recherche sur les fusarioses. II. Ecologie et pathogénie du *Fusarium oxysporum*. *Ann. Epiphytes*, 18(2) : 241-247.
- Michielse, CB, Van Wijk, R., Reijnen, L., Cornelissen, BJ et Rep., M. (2009) Aperçu des exigences moléculaires pour la pathogénicité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* par mutagénèse insertionnelle à grande échelle . *Général Biol* . 10 , R4.

-N-

- Nabti E.H., Bensidhoum L., Tabli N., Dahel D., Weiss A., Rothballer M., Schmid M. and Hartmann. A. (2014). Growth stimulation of barley and biocontrol effect on plant pathogenic fungi by a *Cellulosimicrobium* sp. strain isolated from salt-affected rhizosphere soil in northwestern Algeria. *Europ. J. Soil Biol.* 61: 20-26.
- Nelson ; P.E . Toussoun . T.A . and cook ,R.K.J. 1981 . *Fusarium diseases biology and taxonomy* . Penn . Stat univ . Press, 457 p .
- Nelson ,P,E , Toussoun.TA and Marasas. W F O (EDs) . 1983 . *Fusarium species , an illustrated manual for identification Pennsylvania* : Pennsylvania state university Press .

-O-

- Orozco- Mosqueda, M.D.C., Bernard, R. G., Santoyo, G. (2020). Acc deaminase in Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB): an efficient mechanism to counter salt stress in crops. 11p.
- Ozenda, P. 1990. Les organismes végétaux, tome 1 : Végétaux inférieurs, Masson, 220 p.

P-

- Pal KK, McSpadden Gardener B. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant health instructor . 1-25

-R-

- Ram, R.M, Tripathi, R, Birla, H, Dilnashin, H, Singh, S.P and Keswani,C. 2019. Mixed PGPR consortium: an effective modulator of antioxidant network for management of collar rot in cauliflower. Arch. Phytopathol. Plant protect. 52 (7-8),844-862.
- Rani, V.D and Sudini, H. 2013. Management of soil born diseases in crop plant: an overview. Int J plant Anim environ Sci 3(4): 156-164.
- Raaijmakers J.M; Vlami M et Souza J.T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. Antonie Van Leeuwenhoek. 81 (1-4): 537-547.
- Roudy ,J . 2015 . Contribution à l'étude d'agents de lutte biologique contre les champignons et oomycètes pathogènes du système racinaire de la tomate de serre. Faculté d'agronomie et de médecine vétérinaire . université d'état d'haiti .
- Rovira, A.D and Wildermuth,G.B. 1981. The nature and mechanism of suppression. In: Asher MJC, Shipton PJ(eds) biology and control of take all. Academic, New York, pp 385-415.

-S-

- Sakthivel, N., & Gnanamanickam, S. S. (1987). Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for suppression of sheath rot disease and for enhancement of grain yields in rice (*Oryza sativa* L.). Applied and environmental microbiology, 53(9), 2056-2059.
- Schroth, M. N., & Kloepper, J. W. (1978). Plant growth promoting rhizobacteria on radish. In Proceedings of the fourth conference plant pathogenic bacteria. Ed Station de Pathogenic Vegetable ET (Phytopathologie) INRA Angers (pp. 876-882).
- Schaafsma, AW.Tamburic-Ilinic, L. Miller, JD. Hooker, DC. 2001. Agronomic considerations for reducing deoxynivalenol in wheat grain. Canadian Journal of Plant Pathology. (23): 279-285.

- Shalini, S. et A.S. Kotasthane.(2007). Parasitism of Rhizoctonia solani by strains of Trichoderma spp. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 6: 2272- 2283.
- Smith, SN. Jeffers, D. Devay, JE. 1965. Effect of glucose and biotin on the growth and sporulation of Fusarium spp. Especially pathogenic and non pathogenic isolates of Fusarium oxysporum.
- Singh A., Mehta S., Singh H.B et Nautiyal C.S. (2003). Biocontrol of collar rot disease of betelvine (piper betle L) caused by Sclerotium rolfsii by using rhizosphere competent Pseudomonas fluorescens NBRI –N6 and P. Fluorescens NBRI-N. Current Microbiology. 47: 153-158 .
- Siou D. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de doctorat en sciences du végétal : du gène à l'écosystème. Université Paris-sud XI : 182.
- Shipton, P, Cook, and Sitton, J. 1973. Occurrence and transfer of a biological factor in soil that suppresses take-all of wheat in eastern Washington. Phytopathology 63.511-517.
- Sral Auvergne, 2010. Les expérimentations concernant la santé publique : Lutter contre la fusariose du blé.
- Srivastava , R . Khalid, Abdul, Singh, US. Sharma, AK. (2010). evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, fluorescent pseudomonas and trichoderma harzianum formulation against fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici for the management of tomato wilt. Elsevier . Biological Control .(53): 24–31.
- Stall, RE. 1962. Development of Fusarium wilt on resistant varieties of tomato caused by a strain different from race 1 isolates of Fusarium oxysporum f.sp lycopersici. Plant Disease. (69): 917-920.
- Stover, R. H. 1962. Fusarial wilt (Panama disease) of bananas and other Musa species. Common wealth Mycological institute, p 117.
- Summerell BA, Salleh B and Leslie JF (2003). A utilitarian approach to Fusarium identification. Plant disease, 87(2) : 117,120,122-128.

-T-

- Tabli N. (2018). Isolement de bactéries à partir des milieux aquatiques productrices des substances antifongiques. Thèse de doctorat. microbiologie appliquée. Bejaia-Algérie.

- Tahvonen R. T. and Avikainen H. (1987). The biological control of seedborne *Alternaria brassicicola* of cruciferous plants with a powdery preparation of *Streptomyces* sp. *J. Agr. Sci. Finland.* 59, 199-208.
- Trenholm H.L., Thomson B.K., Hartin K.E., Greenhalgh R., Mc Allister A.J., 1988. Ingestion of vomitoxin (deoxynivalenol)-contaminated wheat by non lactating cows. *J. Dairy. Sci.*, 68, 1000-1005.
- Tshen D,S,M. 1985 . Biologie control of plant diseases by microorganisme chinese bioscience . 26 . 33-39.

-V-

- Valenzuela-Ureta, J.G., Lawn, D.A., Heisey, R.F., and Zamudio-Guzman, V. 1996. First report of *Fusarium* wilt race 3, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*, of tomato in Mexico. *Plant Dis.* 80:105.
- Volin, R.B., and Jones, J.P. 1982. A new race of *Fusarium* wilts of tomato in Florida and sources of resistance. *Proc. Flo. State Hortic. Soc.* 95:268-270.
- Vos, C. M., Yang, Y., De Coninck, B., et Cammue, B. P. A. 2014. Fungal (-like) biocontrol organisms in tomato disease control. *Biological control*, 74, 65-81.

-W-

- Waksman S.A. (1948). Antagonism microbiens et substances antibiotiques. Ed Dols Paris. *Biologie des sols Document.* (6) : 452
- Weller, D. M., & Cook, R. J. (1983). Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, 73(3), 463-469.
- Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., et Thomashow, L. S. 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens 1. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 309-348.
- Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of experimental Botany*, 52(suppl 1), 487-511.

-X-

- Xiao K., Kinkel L. L. and Samac D. A. (2002). Biological control of Phytophthora root rots on alfalfa and soybean with Streptomyces. Biol. Control. 23, 285-295.
- Xu, X. M., Jeffries, P., Pautasso, M., et Jeger, M. J. 2011. Combined use of biocontrol agents to manage plant diseases in theory and practice. Phytopathology, 101(9), 1024-1031.

-Y-

- Yedida, I., A.K. Srivastva, Y. Kapulnik et I.Chet.,(2001). Effect of Trichoderma harzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant soil, 235: 235-242.

Les sites web:

- Bayer: <https://www.cropscience.bayer.dz/fr-dz/cultures/tomate.html>. Anonyme.2021.

Annexes

Annexe 01. : milieux de culture

- Milieu Potato Dextrose Agar (PDA)

Ingrédients	Gramme / litre
Pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Agar agar bactériologique	05,0 g
Eau distillée stérile (qsp)	1000 ml

- Milieu Gélose Hectoen

Ingrédients	gramme/litre	Ingrédients	gramme/litre
Protéose peptone	12 g	Extrait de levure	3 g
Chlorure de sodium	5 g	Sels biliaires	9 g
Citrate de fer ammoniacal	1,5 g	Salicine	2 g
Lactose	12 g	Saccharose	12 g
Fuchsine acide	0,1 g	Bleu de bromothymol	0,065 g
Gélose	14 g	pH final	7,5 ± 0,2

- Milieu Baird Parker

Ingrédients	gramme/litre
Digestion pancréatique de caséine	10,0 g
Extrait de viande	5,0 g
Extrait de levure	1,0 g
Pyruvate de sodium	10,0 g
L-glycine	12,0 g
Chlorure de lithium	5,0 g
Agar	20,0 g
pH	7,2 ± 0,2

- Milieu Gelose nutritive

Ingrédients	gramme/litre
Tryptone	5,0 g
Extrait de viande	1,0 g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar bactériologique	12,0 g

Annexe 02. : Test HSD de Tukey

Modalité	Moyennes estimées (Diamètre de souche)	Groupes
A4g	53,083	A
B4p	51,375	A B
A4P	44,458	A B
B1bi	42,833	A B
A3g	40,958	A B
A2bi	36,583	A B
A1bi	34,542	A B
B4bi	34,000	A B
B3g	33,875	A B
A7bi	33,167	A B
A2g	32,996	A B
B7P	32,625	A B
B1g	32,125	A B
B7p	31,375	A B
A2P	29,188	A B
B8p	26,958	A B
A1p	25,458	A B
C1	23,375	A B
B1P	23,313	A B
A1g	23,125	A B
B6g	22,375	A B
B3p	21,250	A B
C4	20,750	A B
B5g	20,458	A B
C3	19,792	A B
B5bi	19,583	A B
A5g	19,375	A B
C5	19,042	A B
B7g	18,792	A B
A2p	17,292	A B
B1p	11,875	A B
C2	10,458	A B
B2g	9,542	B