

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques
Département des Sciences Biologiques

MEMOIRE DE MAGISTER

SPÉCIALITE : Sciences Biologiques

OPTION : Phytopathologie

SUJET

Essai de lutte biologique contre la Fusariose vasculaire du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera L.*)

Présenté par : **MAHDI Nourdine**

Soutenu le : 17/12/2011

Jury :

Mr KELLOUCHE A.
Mr HACENE H.
Mr DJENANE D.
Mr RIBA A.
Mr AMROUCHE T.

Professeur à l'UMMTO
Professeur à l'USTHB
Maître de conférences A à l'UMMTO
Maître de conférences A à l'UMBB
Maître de conférences B à l'UMMTO

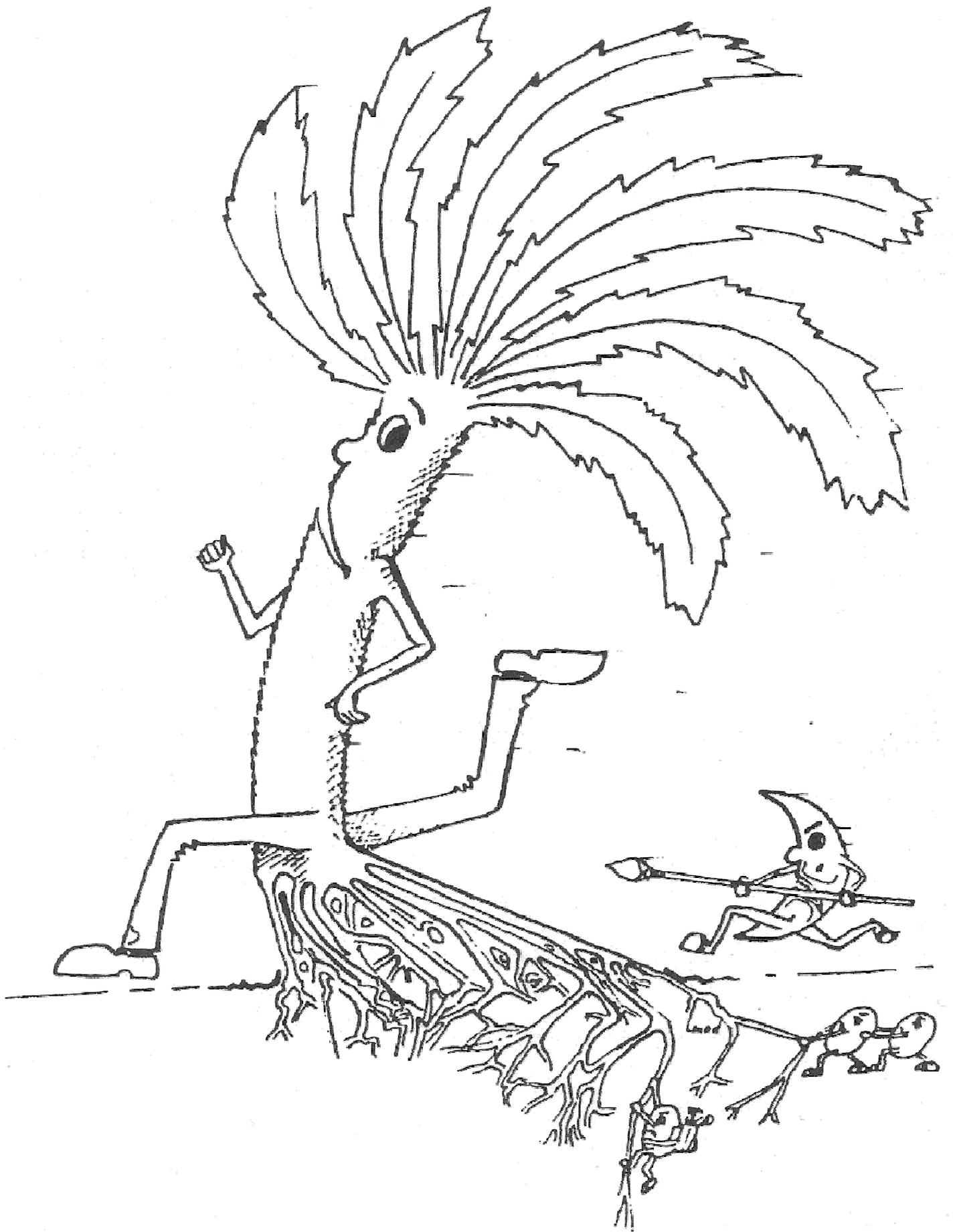
Président
Promoteur
Examineur
Examineur
Examineur

La science n'est qu'une suite d'erreurs rectifiées, mais la rectification qui est un progrès n'eut pas été possible sans l'erreur intelligente qui l'a précédée.

BECKER

Les mycélium correspondent à ce qui est, les spores sont le vestige d'un passé et l'espoir de ce qui peut être.

CHESTERS



A la mémoire de mes parents,

A mes frères et sœurs

A mes nièces et neveux

REMERCIEMENTS

Les travaux exposés dans ce mémoire ont été réalisés au laboratoire de Recherches sur les Zones Arides (U.S.T.H.B., Alger) et à la station de Recherches de Béni-Abbès.

C'est le Professeur Hamid AMIR de l'université du Pacifique (Nouméa-Nouvelle Calédonie), qui est à l'origine de ce travail. Je lui dois mon orientation et ma formation.

Monsieur Hocine HACENE, Professeur à l'U.S.T.H.B., est également étroitement associé à l'aboutissement de cette étude. Il m'est agréable de lui exprimer ici ma sincère gratitude et toute mon amitié.

Monsieur Abdallah KELLOUCHE, Professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, a accepté d'examiner ce mémoire et d'en présider le jury, qu'il trouve ici l'expression de mes sincères remerciements.

Monsieur Djamel DJENANE, maître de conférences A à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Je lui en suis reconnaissant et le remercie vivement de l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

Monsieur Tahar AMROUCHE, maître de conférences B à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, m'a fait l'honneur de participer à ce jury et d'évaluer ce travail.

Monsieur Ammar RIBA, maître de conférences A à l'université M'hamed Bougara de Boumerdès, je vous remercie pour l'amitié dont vous m'honorez et d'avoir accepté de siéger à ce jury.

J'ai particulièrement apprécié les entrevues que j'ai eu avec monsieur TOUMI, maître de conférences A à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba, qu'il soit assuré de toute ma reconnaissance.

Un grand MERCI, pour mes deux nièces, Nadjet « géomorphologue » et Hassina « pédologue » pour leurs conseils et encouragements, sans elles, ce mémoire ne sera pas noir sur blanc.

De nombreuses personnes ont contribué d'une façon ou d'une autre à la réalisation de ce travail. Je remercie notamment toutes les personnes du L.R.Z.A (Alger et Béni-Abbès) tous grades confondus.

Sans oublier les amis(es) qui m'ont soutenu, ne serait ce que moralement. Les noms sont bien inscrits en moi, mais la liste en est trop longue, qu'ils excusent la brièveté de ce propos.

Résumé

Une collection de 96 souches a été constituée, puis un premier tri est réalisé en tenant compte de la vitesse de croissance et de l'importance de la sporulation sur un milieu extrait de terre.

Un lot de 16 souches représentatif de la variabilité générale de la collection (10 de l'espèce *F.solani* et 06 de *F.oxysporum*) est utilisé pour estimer différents caractères écologiques pouvant influencer leur aptitude à persister dans le sol une fois inoculées, afin de protéger la plante contre l'agent pathogène : La croissance mycélienne, la production de spores, le taux de germination de ces dernières, l'effet inhibiteur vis-à-vis de *F.o.albedinis*, l'activité respiratoire, le développement saprophytique en sol désinfecté et l'aptitude à persister dans un sol naturel, les corrélations entre ces différents caractères écologiques sont calculés.

Une analyse multifactorielle est réalisée pour connaître les aptitudes qui conditionnent le développement saprophytique et la persistance des souches dans le sol.

Elle révèle que la première capacité est liée à la croissance mycélienne, la sporulation et l'activité respiratoire ; la deuxième plus complexe, est influencée, en plus, par l'aptitude des souches à sécréter des substances inhibitrices.

La production de chlamydospores et de macroconidies jouerait un rôle déterminant dans ce dernier cas, alors que les microconidies auraient plus d'importance dans le développement saprophytique en sol désinfecté.

Ces différents caractères semblent intervenir de façon cumulative.

Le test avec les jeunes plantules du Palmier Dattier, nous a révélé que l'effet antagoniste étudié se traduit en présence de la plante, par une réduction de la mortalité à la fusariose vasculaire. L'importance de cette réduction varie selon les souches antagonistes.

Nous avons remarqué que le mélange des souches 34 (*F.oxysporum*) et 9Ba5 (*F.solani*) est plus efficace que chacune d'elle prises séparément.

L'intérêt des mélanges de souches antagonistes en lutte biologique est préconisé comme traitement qui aurait notamment comme avantage une plus grande stabilité et un plus large spectre d'action. Ces résultats ont des conséquences en ce qui concerne la stratégie de sélection des souches antagonistes en vue d'une lutte biologique contre la fusariose vasculaire.

Les méthodes de lutte biologique contre les fusarioses sont encore au stade de l'expérimentation et les cas d'utilisation à grande échelle sont très rares. Si nos travaux s'inscrivent dans cet effort pour aboutir à l'application, il faut souligner que différents problèmes restent à résoudre dans ce sens.

Mot clés : Fusarium, fusariose, lutte biologique, Palmier Dattier

Abstract

A collection of 96 strains was constituted; then a first sorting is carried out by taking into account the growth rate and the importance of sporulation of soil extract.

A batch of 16 strains of general variability of the collection (10 of *Fusarium solani* and 6 of *Fusarium oxysporum*) was used to estimate different ecological characters may affect their capacity to persist in the soil once inoculated to protect the plant against the pathogen : The mycelial growth, spore production, rate of spore germination, inhibiting effect on spore of *F.o.albedinis* respiration activity, saprophytic development in disinfected soil and the persistence in natural soil, the correlation between these different ecological characters was calculated.

Multifactorial analysis was used to determine what were the capacities which determine saprophytic development and soil persistence. It revealed that the first aptitude was related to the rate of mycelial growth, the intensity of sporulation and the respiratory activity; the second aptitude is more complex and seemed to be also influenced by the secretion of inhibitory substances. Chlamydospores and macroconidia production may play a more important role in the latter case whereas the microconidia may be more effective in the determination of saprophytic development in disinfected soil.

These characters seem to act accumulatively.

The test with the palm date seedling revealed us that the antagonistic effect studied is translated in presence of the plant by a reduction of mortality to the vascular fusariosis.

The importance of this reduction varies according to the antagonistic strains.

We noticed that the mixture of the 34 strains (*F.oxysporum*) and 9Ba5 (*F.solani*) is more effective than each one of them taken separately.

The interest of the antagonistic strains mixtures in biological control is recommended as treatment which would have as advantage a greater stability and a broader action spectrum.

These results have consequences on the strategy of antagonistic strains selection for biological control against vascular fusariosis.

The biological control methods against fusariosis are still at the testing stage and their use on a large scale is very rare. If our work is mentioned in this effort to lead to the application, it must be indicate that different problems remain to be solved in this direction.

Key words: Fusarium, fusariosis, biological control, palm date

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
GÉNÉRALITÉS	4
1. L'hôte	4
2. L'agent pathogène	5
2.1. Taxonomie.....	5
2.2. Organisation morphologique	7
3. Symptômes9	
4. Epidémiologie	11
5. Méthodes de lutte	12
5.1. Mesures prophylactiques	12
5.2. La lutte culturale.....	12
5.3. La lutte chimique.....	13
5.4. La lutte génétique	13
5.5. La lutte biologique.....	14
CHAPITRE I : MATÉRIEL ET MÉTHODES	19
1. Matériel	19
1.1. Les sols	19
1.2. Les souches de <i>Fusarium</i>	20
1.2.1. Les souches parasites.....	21
1.2.2. Les souches saprophytes	21
1.3. La plante	21
1.4. Les milieux de culture utilisés.....	21
1.4.1. Le milieu P.D.A.....	21

1.4.2. Le milieu sélectif à base de peptone – Extrait de levure, pour <i>F.oxysporum</i> et <i>F.solani</i> ..	22
1.4.3. Milieu extrait de terre	22
2. Méthodes	22
2.1. Incubation en conditions optimales	23
2.2. Incubation en conditions non optimales	23
2.3. Isolement, purification et détermination des souches.....	25
2.3.1. Isolement des souches	25
2.3.2. Purification des souches	25
2.3.3. Détermination des souches	25
2.4. Cultures monospores	27

CHAPITRE II : ETUDE DE LA CROISSANCE ET DE LA SPORULATION ET SELECTION DES SOUCHES DE FUSARIUM	28
1. Méthode.....	29
1.1. Mesure de la croissance mycélienne	29
1.2. Mesure de la production de micronidies et de macronidies	29
1.3. Mesure de la production de chlamydo-spores	29
2. Résultats	30
2.1. La croissance mycélienne.....	30
2.2. Estimation de la sporulation	30
2.2.1. Production de micronidies	30
2.2.2. Production de macronidies	31
2.2.3. Production de chlamydo-spores.....	31
3. Discussion	31

Conclusion.....	32
-----------------	----

CHAPITRE III : ETUDE DE QUELQUES CARACTÈRES ÉCOLOGIQUES DE DIFFÉRENTES SOUCHES PRÉSÉLECTIONNÉES..... 33

I. Etude de quelques caractères écologiques des souches présélectionnées et analyse de ces caractères avec la référence particulière de leur persistance dans le sol 33

1. Méthode..... 34

1.1. Mesure de la production précoce de chlamydo-spores au contact du sol non désinfecté 35

1.2. Mesure du pouvoir germinatif des conidies 35

1.3. Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis* 36

1.4. Mesure de l'activité respiratoire..... 36

1.5. Mesure de développement saprophytique en sol désinfecté..... 37

1.6. Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel..... 37

2. Résultats 37

2.1. Croissance mycélienne 38

2.2. Production de micronidies 38

2.3. Production de macronidies 39

2.4. Production de chlamydo-spores sur extrait de terre..... 39

2.5. Production précoce de chlamydo-spores au contact du sol 40

2.6. Mesure du pouvoir germinatif des conidies 40

2.7. Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis* 41

2.8. Mesure de l'activité respiratoire..... 41

2.9. Mesure du développement saprophytique en sol désinfecté 42

2.10. Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel..... 43

II. Analyse des corrélations entre quelques caractéristiques écologiques de différentes souches de <i>Fusarium</i> avec référence particulière à leur persistance dans le sol.....	44
Discussion	49
Conclusion.....	52
CHAPITRE IV : ESSAIS AVEC LE PALMIER DATTIER.....	53
1. La graine.....	54
2. Mise en germination.....	55
3. Réisolement du parasite.....	56
4. Préparation de l'inoculum	56
5. Mise en culture	56
6. Résultats	57
7. Discussion	57
Conclusion.....	58
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	63
ANNEXES	

LISTE DES FIGURES

	N° Page
Figure 1 : Organisation morphologique externe de <i>F.o.albedinis</i>	7
Figure 2 : Organes de reproduction asexuée de <i>F.o.albedinis</i> au MEB	8
Figure 3 : Organisation morphologique de <i>F.o.albedinis</i>	9
Figure 4 : Partie de la palmeraie de Béni- Abbès touchée par le Bayoud	10
Figure 5 : Photo et représentation d'une palme atteinte de fusariose.....	10
Figure 6 : <i>Fusarium oxysporum</i>	26
Figure 7 : <i>Fusarium solani</i>	26
Figure 8 : Croissance mycélienne	38
Figure 9 : Production de microconidies	38
Figure 10 : Production de macroconidies.....	39
Figure 11 : Production de chlamydo-spores sur E.T.	39
Figure 12 : Production de chlamydo-spores au contact du sol	40
Figure 13 : Mesure du pouvoir germinatif des conidies.....	40
Figure 14 : Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de <i>F.o.a</i>	41
Figure 15 : Mesure de l'activité respiratoire	42
Figure 16 : Mesure du développement saprophytique en sol désinfecté.....	42
Figure 17 : Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel	43
Figure 18 : Fruit et graine du Palmier Dattier	54
Figure 19 : Influence du traitement du sol de Béni Abbès avec 2 souches de <i>Fusarium</i> antagonistes (34 et 9Ba5) sur la gravité de la Fusariose vasculaire du palmier	57

LISTE DES TABLEAUX

N° Page

Tableau 1 : Importance relative des principaux groupes microbiens dans le sol	19
Tableau 2 : Caractères physico-chimiques du sol utilisé	20
Tableau 3 : Matrice des corrélations locales entre les différentes aptitudes	44
Tableau 4 : Corrélations multiples et partielles entre le développement saprophytique des souches <i>F.solani</i> et leurs caractères écologiques	46
Tableau 5: Corrélations multiples et partielles entre l'aptitude des souches de <i>Fusarium</i> à persister dans le sol et leurs caractères écologiques	48

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La fusariose vasculaire est l'une des maladies des plantes les plus répandues et dont les incidences sur les cultures sont les plus graves (Nelson et *al.*, 1981). Il s'agit d'une trachéomyose provoquée par un champignon imparfait de l'ordre des Hypocréales : *Fusarium oxysporum*. De nombreuses formes spéciales attaquent spécifiquement des cultures vivrières (Palmier Dattier, tomate, melon, concombre, pois) ou ornementales (œillet, cyclamen).

Les variétés du Palmier Dattier résistantes à cette maladie sont très rares [(Parmi les 223 variétés recensées au Maroc, seules six sont résistantes au Bayoud, dont Bou Stammi blanc. Il semble qu'il n'y ait pas de relations obligatoires entre le caractère résistance et la qualité des dattes (Saaïdi, 1979). D'après les travaux réalisés sur la résistance, celle-ci paraît être liée soit à la plante elle-même, soit aux interactions microbiologiques au niveau du sol (Belarbi, 1986 ; Amir et Amir, 1988). En Algérie, une seule variété a été reconnue résistante, la « Takerbouchet ». Cette variété issue du sud ouest du Sahara algérien (Adrar) n'a pas toutes les qualités requises pour produire des dattes d'exportation, même si elle est appréciée dans sa région d'origine)]. Lorsque ces variétés existent, elles sont rarement satisfaisantes à tous les points de vue, et la culture d'autres est souvent nécessaire.

La fusariose du Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera* L.), maladie cryptogamique appelée localement « Bayoud » est un véritable fléau des zones phoenicicoles. Très probablement originaire de la vallée du Draa, au Maroc (Toutain, 1967), elle a progressé depuis le siècle dernier à la fois en direction de l'Est et de l'Ouest décimant les palmeraies marocaines et atteignant de nombreuses oasis de l'Ouest algérien (Bulit et *al.*, 1967).

L'extension progressive du Bayoud vers les régions produisant des dattes d'exportation (variété Deglet-Nour) à l'Est du pays, pose donc des problèmes sérieux qui sont à la fois écologiques, sociaux et économiques. En effet, en plus de la valeur nutritive du fruit (la récolte moyenne de palmier correspondrait à 10 millions de calories, par contre pour le blé, elle n'est que de 3,8 millions), les palmeraies offrent une protection aux vents et créent un microclimat favorable au développement de cultures sous-jacentes, tout en contribuant à maintenir l'équilibre biologique et écologique des oasis sahariennes.

La lutte contre le Bayoud peut reposer sur des mesures de quarantaine strictes. La désinfection du sol est très coûteuse et difficile. La lutte chimique n'est envisageable que si on découvre précocement le point de départ d'une nouvelle infection dans une région saine.

Dans ce cas, on peut traiter le sol avec du bromure de méthyle (Fredericks et Denbrader, 1988). Des sols résistants au Bayoud ont été identifiés au Maroc et en Algérie ; les mécanismes de la résistance de ces sols peuvent être de type biotique ou abiotique.

Des résultats prometteurs ont été obtenus par la sélection de cultivars résistants de haute qualité parmi les populations naturelles du Palmier Dattier ou par la multiplication de ces mêmes cultivars (Louvet et Toutain, 1973 ; Toutain et Louvet, 1974 ; Djerbi et *al.*, 1986).

La remise en cause des méthodes de lutte génétique et chimique, et le développement de l'écologie des champignons phytopathogènes a donné un élan aux études sur le contrôle biologique.

L'application des procédés de lutte biologique contre les agents phytopathogènes d'origine tellurique bute jusqu'à présent sur plusieurs problèmes (Cook et Baker, 1983). Ainsi, dans le cas de l'utilisation de souches non pathogènes de *Fusarium* pour lutter contre les fusarioses vasculaires, nous disposons de peu d'informations sur les modes d'action des antagonistes en conditions naturelles (Schneider, 1984 ; Alabouvette et *al.*, 1985a ; Amir et Amir, 1988) d'où une absence de stratégie rationnelle de sélection des souches (Alabouvette et *al.*, 1987).

Par ailleurs, la production d'un effet bénéfique résultant de l'inoculation de microorganismes dans le sol nécessite que les germes puissent survivre et proliférer dans cet environnement (Acea et Alexander, 1988a). Or les problèmes liés à la persistance des inoculum dans le sol ont été très peu étudiés (Couteaudier et Alabouvette, 1990b ; Weidemann et Templeton, 1988) alors que des publications de plus en plus nombreuses traitent de ces aspects, chez les bactéries (Chen et Alexander, 1973 ; Cley et *al.*, 1982 ; Acea et *al.*, 1988b ; Rangajaran et *al.*, 2003 ; Sarvanan et *al.*, 2004).

D'autre part, les travaux permettant d'avoir une vision générale des interactions entre *Fusarium* sont rares. Wiebe (1984), en dégagant des principes pour l'utilisation des microorganismes en théorie écologique, insiste sur l'intérêt des études qui n'isolent pas les uns des autres les différents facteurs en jeu dans le sol. Dans cette optique notre approche consiste à analyser le pouvoir compétitif par la recherche des caractères éco-physiologiques qui le conditionnent.

Nos travaux précédents concernaient la recherche de souches de *F. solani* et *F. oxysporum* antagonistes du *F. o. f. sp. albedinis* (Mahdi 1984).

L'efficacité des souches dans la protection de la plante vis-à-vis de la fusariose vasculaire et leurs caractères écologiques a été mise en évidence (Amir et Mahdi, 1992b). La variabilité des aptitudes des différentes souches a été discutée. Nous avons effectué une étude des corrélations de ses caractères entre eux d'une part (Amir et Mahdi, 1992a) et avec l'aptitude des souches à persister dans le sol d'autre part.

Concernant le présent travail, nous nous sommes fixés comme objectif l'augmentation de la rigueur dans la sélection des antagonistes afin d'obtenir des souches ayant toutes les aptitudes à éliminer le parasite, et leur persistance dans le sol une fois inoculées. Pour cela, nous avons ciblé un plus grand nombre d'isolats à partir des sols ayant subi préalablement plusieurs traitements, après isolement, toutes les souches vont subir un repiquage monospore afin d'éviter les problèmes de variabilité génétique des *Fusarium*.

Ce mémoire comporte quatre chapitres, après les généralités, le premier chapitre résume le matériel et les méthodes utilisées. Dans un second chapitre, nous étudierons la croissance et la sporulation du lot de souches de *Fusarium* isolées des sols des palmeraies, ce qui nous permettra de dégager un lot de souches plus restreint pour les autres tests. Le troisième chapitre concerne l'étude de quelques caractères écologiques des souches de *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* présélectionnées, ainsi que les différentes corrélations entre ces caractères écologiques et leur persistance dans le sol. Le dernier chapitre sera consacré aux essais avec le Palmier Dattier.

GENERALITES

Dans la nature, les plantes sont exposées à de nombreuses agressions qui provoquent à leur niveau des perturbations métaboliques graves et très souvent une installation de la maladie. Ces agressions sont soit, d'origine nutritionnelle (carence ou excès d'éléments nutritifs), climatique (températures élevées ou basses) ou encore d'origine anthropique (pesticides et métaux lourds), on les qualifie de stress abiotique. A l'opposé, le stress biotique fait intervenir un second être vivant qualifié d'agent pathogène (champignon, bactérie, mycoplasme, virus et viroïde) (Bové, 2001 ; Flores, 2001) ou autres (Acariens, insectes, mollusques, nématodes et herbivores) (Bonnemain et Chollet, 2003). Les plantes agressées par un agent pathogène, établissent des stratégies de défense complexes (réaction hypersensible et résistance systémique acquise) et souvent efficaces pour faire face à l'agression (Esquerré-Tugayé, 2001 ; Klarzynski et Fritig, 2001).

D'autres répondent également aux attaques des herbivores, en activant des gènes de défense dont les produits inhibent les protéases digestives des agresseurs, ce mécanisme a été élucidé de façon détaillée chez la tomate (Ryan, 2000 ; Orozco-Cárdenas et *al.*, 2001).

1. L'hôte

Le Palmier Dattier, *Phoenix dactylifera* (Linée, 1753), est l'hôte principal du *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, ce dernier a aussi été récemment détecté chez le palmier des Canaries *Phoenix canariensis* (Chabaud, 1882) (Elena, 2004) Les cultivars Nord-africains de bonne qualité fruitière ont subi une multiplication intense, entraînant ainsi une diminution de la diversité et une augmentation des risques de contamination. Peu de cultivars présentent une résistance ou une tolérance au *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, Takerbuchet en Algérie et Bou Stammi blanc, Tadment, Iklane, Sair Laylet, Boufeggous ou Moussa au Maroc (Saaidi, 1979).

Le Palmier Dattier (*Phoenix dactylifera* L.) est une monocotylédone arborescente de la famille des Arecaceae à tronc monopodique. Le stipe contient des faisceaux libéro-ligneux [D'après Bounaga D. et N., (1973), les diamètres des vaisseaux, l'absence ou la présence de cloisons, leur densité peuvent avoir un rapport avec la sensibilité du Palmier à la fusariose], qui semblent reliés directement chaque racine à une palme bien déterminée (Toutain, 1965). Il est doté d'un simple bourgeon terminal ou zone de croissance en longueur, le système racinaire est très développé (arbre adapté au climat aride). Les palmes sont insérées en hélices très rapprochées. Le Palmier Dattier est une plante dioïque dont l'inflorescence très caractéristique est une grappe d'épis, son fruit est une baie, la graine a un embryon circulaire

en dépression et un albumen corné de matière cellulosique ; la fécondation est croisée et souvent les individus d'une même population ne fleurissent pas tous en même temps.

La classification classique de Cronquist (1991), attribue une seule famille (*Arecaceae*) à l'ordre des *Arecales*. Celle basée essentiellement sur l'analyse des gènes chloroplastiques (phylogénétiques) (APG II, 2003 et APG III, 2009) ne montre aucune modification hiérarchique au sein de cet ordre. Un seul genre « *Phoenix* » caractérise la tribu des *Phoeniceae*.

Domaine : *Eukarya*.....Eucaroytes
Règne : *Plantae*.....Plantes
Sous-règne : *Tracheobionta*.....Trachéophytes
Phylum :Spermatophytes
Sous phylum: *Magnoliophyta*.....Angiospermes
Classe : *Liliopsida*.....Monocots ou Monocotylédones
Sous-classe : *Arecidae*
Ordre : *Arecales*
Famille : *Arecaceae* ou *Palmae*
Sous-famille : *Coryphoideae*
Tribu : *Phoeniceae*
Genre et espèce : *Phoenix dactylifera* L.

2. L'agent pathogène

2.1. Taxonomie

Les *Fusarium* (Link, 1809) sont des champignons imparfaits « *Fungi imperfecti* » ou Deutéromycètes ou encore Adélomycètes.

L'espèce *Fusarium oxysporum* existe sous de nombreuses formes spéciales (f.sp.). Selon Bouth (1971), cette espèce posséderait 77 formes parasites attaquant aussi bien des plantes annuelles (cotonnier, lin, tomate, pois, melon), que des plantes pérennes comme le bananier, le palmier à huile et le palmier dattier.

Le nombre des *f.sp.* ne cesse d'augmenter. Ramirez-Suero (2009) dénote 120 formes spéciales.

C'est ainsi que la forme spéciale *f.sp. albedinis* (Gordon, 1965) dont la nomenclature définitive est *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Killian et Maire) (Gordon). Pour simplifier, nous la noterons dans la suite de notre travail : *F.o.albedinis*.

D'autres synonymes et références selon l'organisme international de quarantaine (OEPP/EPPO, 1992) lui sont attribués :

Synonymes : *Cylindrophora albedinis* Kilian et Maire 1930
albedinis Fusarium (Kilian et Maire) Malençon 1934
Neocosmospora vasinfecta Smith
Fusarium oxysporum var. *albedinis* (Kilian et Maire) Malençon 1950
Fusarium oxysporum f.sp.albedinis Gordon 1965

Noms communs : « Bayoud » (Arabe)
« *Fusarium wilt* » ou « bayoud disease » (Anglais)
« maladie du Bayoud » (Français)

Code informatique Bayer : FUSAAL

Liste : A2 OEPP/EPPO : N° 70

Désignation annexe UE : II : A1

Classification actuelle :

Domaine : *Eukarya*.....Eucaroytes
Règne : *Fungi*.....Champignons
Fungi imperfecti.....Deutéromycètes
Sous-règne : *Dikarya*
Phylum : *Ascomycota*.....Ascomycètes
Sous phylum: *Pezizomycotina*
Classe : *Sordariomycota*.....Sordariomycètes
Sous-classe : *Hypocreomycetidae*
Ordre : *Hypocréales*
Famille : *Nectriaceae*
Genre et espèce : *Fusarium oxysporum*
Forme spéciale : *albedinis*

F.oxysporum se présente sous deux formes : pathogène et non pathogène et peuvent constituer plus de 50 % de la population fusarienne du sol (Joffé et *al.*, 1974). La forme pathogène semble plus importante dans la rhizosphère des variétés sensibles (Tantaoui, 1993).

Les souches de *F. oxysporum* isolées du sol et incapables de provoquer la fusariose sur des plantes hôtes sont dites non pathogènes ou saprophytes. Ces isolats sont bien représentés dans la rhizosphère (Amir et *al.*, 1985). Grâce à leur capacité de colonisation du sol et de la rhizosphère, les saprophytes sont préconisés et utilisés dans les essais de lutte biologique (Amir, 1981 ; Alabouvette, 1983 ; Amir et Sabaou, 1983 ; Mahdi, 1984 ; Amir et Amir, 1988)

2.2. Organisation morphologique

L'étude morphologique de *F.o.albedinis* montre qu'à l'œil nu, le mycélium apparaît fin, frisé, arbustif et d'aspect gras. A la lumière, le mycélium peut devenir rose saumon pâle, alors qu'à l'obscurité, il peut émettre un pigment violet foncé (Bounaga, 1970), (Figure 1).



Figure 1 : Organisation morphologique externe de *F.o.albedinis* sur milieu PDA

(Ait Kettout, 2011)

Le champignon produit trois types de spores asexuées :

- **Les microconidies** hyalines, de formes et de dimensions variables, de 3 à 15µm de long et de 3 à 5 µm de diamètre. Ces structures généralement unicellulaires, sont sphériques au début de leur formation et deviennent peu à peu allongées, elliptiques, droites ou légèrement courbées. Ces conidies se forment à l'extrémité des microphialides.
- **Les macroconidies** sont peu nombreuses, leur base est pédiforme et leur extrémité est pointue et courte, elles sont en général tétracellulaires. Elles mesurent 20 à 35 µm de

long et entre 3 et 5 μm de diamètre et elles prennent naissance à partir de macrophialides (Figure 2).

- **Les chlamydospores** se forment, soit à partir d'articles mycéliens, soit à partir d'une cellule de macroconidies. Elles sont caractérisées par une paroi très épaisse et accumulent d'importantes réserves de nature lipidique, ces structures sont toujours arrondies, ayant de 6 à 20 μm de diamètre (Rahmania, 2000). Ce sont des spores de résistance produites en grande quantité dans les cultures âgées ou en réponse à des conditions défavorables (température élevée, manque d'oxygène, milieu pauvre en substances nutritives) (figure 3).

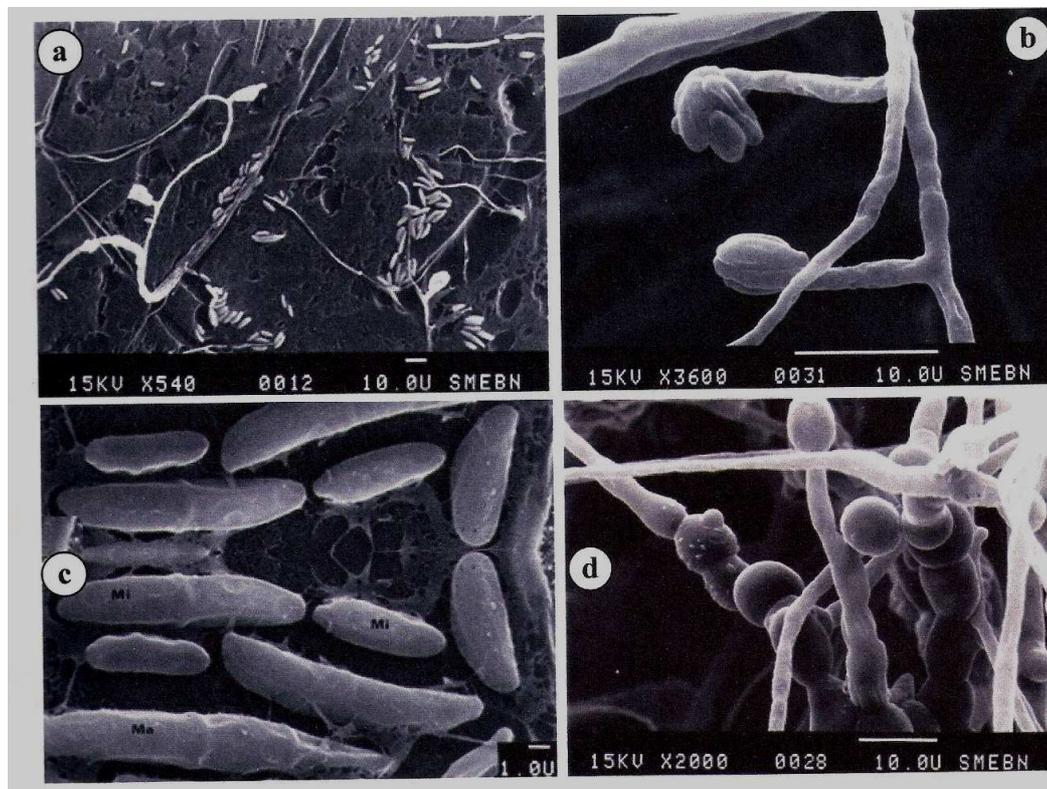


Figure 2 : Organes de reproduction asexuée de *Fusarium oxysporum* f .sp.albedinis au MEB (Rahmania, 2000)

a-Mycélium et microconidies

b- Microphialides

c-Micro et macroconidies Ma : macroconidies , Mi : microconides

d-Chlamydospores formées à partir d'articles mycéliens

- | | |
|-------------------|-----------------------------------|
| a : Macrospores | e : Mycélium hyaline et cloisonné |
| b : Macroconidies | f : Sporodochies |
| c : Microspores | g : Chlamydospores |
| d : Microconidies | p : Paroi épaisse |

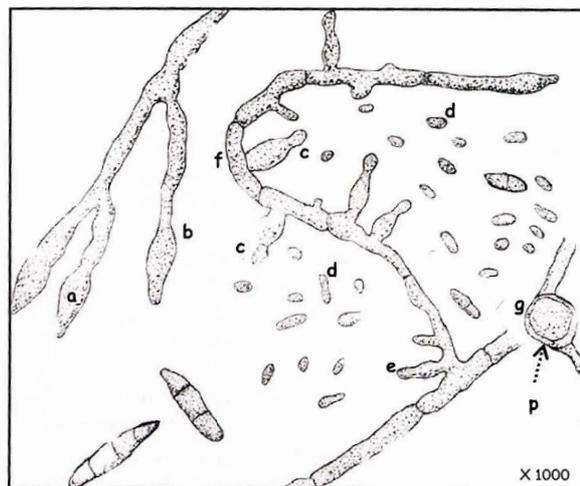


Figure 3 : Organisation morphologique de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*
(Bounaga, 1970 reprise par Gaceb-Terrak, 2010)

Les sclérotes sont de formes plus ou moins sphériques, de couleur sombre (bleu foncé à noir). Ces structures apparaissent dans les conditions d'extrême pauvreté du milieu de culture. Elles sont considérées comme des organes de résistance capables de s'enkyster durant de longues périodes (Rahmania, 2000).

3. Symptômes

Des études détaillées des symptômes visibles extérieurement sur l'arbre en place (figure 4) et permettant de les différencier de ceux d'autres maladies ou troubles physiologiques du Palmier Dattier, ont été données par différents auteurs (Malençon 1950 ; Perea-Leroy, 1975).

Ainsi nous n'en donnerons qu'une description simple.

L'infection du Palmier Dattier a lieu dans le sol, par les racines. Le champignon progresse des racines aux palmes en empruntant le système vasculaire (Bulit et al., 1967).

Le premier symptôme externe de la maladie se manifeste par le dessèchement progressif d'une palme (Figure 5) de la couronne moyenne du bouquet foliaire du Palmier : elle devient blanchâtre, les folioles se dessèchent se repliant vers les rachis et la palme prend l'aspect d'une « plume mouillée ». D'autres palmes, le plus souvent voisines sont atteintes et bientôt seul le bouquet central formé de jeunes palmes, reste vert pendant un temps plus ou moins long, avant de se dessécher à son tour.



Figure 4 : Partie de la palmeraie de Béni-Abbés touchée par le bayoud



Partie verte



**Propagation
du pathogène**

Partie sèche

Figure 5 : Photo et Représentation d'une palme atteinte de fusariose

En coupe transversale, le rachis présente une zone brunâtre correspondant aux faisceaux hébergeant le parasite. Parfois, ce symptôme interne peut être décelé avant l'extériorisation de la maladie.

La mort de l'arbre intervient en général six à vingt quatre mois après l'apparition des premiers symptômes, mais cette durée peut être plus ou moins longue selon les variétés de Palmier et les conditions culturales (figure 5).

4. Epidémiologie

Les travaux sur la propagation du Bayoud (Laville et Lossois, 1963 ; Toutain et *al.*, 1970 ; Brochard et Dubost, 1970) ont montré que les meilleures conditions du Palmier Dattier, sont aussi les plus favorables au développement de la maladie (qui n'est donc pas une maladie de faiblesse).

Les cultures sous palmier accélèrent et favorisent les épidémies à cause de l'irrigation et les pratiques culturales. La dispersion est assurée par l'homme (transport des rejets du palmier). Le vent a été également mis en cause dans la dispersion des propagules (Laville, 1977) mais l'incidence de ce facteur n'a pas été clairement démontrée, d'autant plus que les *F. oxysporum* sont considérés comme des champignons des sols (Soil-borne-fungi) fortement saprophytes (Burgess, 1981).

Les crues des oueds ont largement contribué à la propagation de la maladie (en 2005 un fellah nous a confirmé que son jardin a été contaminé après la crue de l'oued Saoura qui est survenue en 1962).

Originaire de la vallée du Draa (Maroc) (Malençon, 1934 ; Pereau-Leroy, 1954 ; Toutain, 1965), le Bayoud progresse vers l'est et l'ouest marocain, atteignant pratiquement toutes les palmeraies ; les dégâts causés sont considérables : Pereau-Leroy, estime, en 1958 la réduction de l'effectif du Palmier au Maroc à près des deux tiers ; Saaïdi et Rodet (1974) rapportent que 93 % des Palmiers de la station expérimentale phoenicicole de Zagora, ont péri depuis l'apparition du premier foyer vers 1956.

Le Bayoud arrive en Algérie en 1898 (à Beni Ounif, sur la frontière algéro-marocaine) il progresse rapidement vers les palmeraies les plus proches et atteint toute la partie occidentale du pays, puis en 1949 la région du M'zab. Kada et Dubost, (1975) signalent 482 arbres morts en moins de dix ans après la première apparition de la maladie aux environs de Ghardaïa.

Ce fléau menace actuellement les importantes plantations de l'oued Rhir, des Ziban et du Souf, qui produisent 75 % des dattes algériennes. La Deglet Nour est très sensible au Bayoud.

La fusariose du Palmier Dattier entraîne donc des dégâts très importants. L'excellente variété marocaine, Mejhoul est en voie de disparition, et la Deglet Nour peut subir le même sort si des mesures urgentes ne sont pas prises ; on note également le cas de la variété Bent Kbala de la vallée du M'zab et Timjoughert d'El Golea.

Le Bayoud contribue largement à l'appauvrissement des zones arides et accentue la désertification. Il est donc évident que cette maladie constitue le fléau de l'agriculture saharienne d'où la nécessité impérieuse de développer les recherches sur les moyens de lutte.

5. Méthodes de lutte

Différentes méthodes ont été préconisées en vue de lutter contre le Bayoud.

5.1. Mesures prophylactiques

Recommandées par les différents organismes qui s'occupent du Bayoud, en vue de la protection des palmeraies non contaminées, une surveillance sérieuse doit être poursuivie et renforcée, il est nécessaire d'éviter l'introduction de matériel végétal et de terre provenant des zones contaminées (Louvet et Bulit, 1972).

Il faut noter que le parasite n'a jamais été trouvé dans les inflorescences ni dans les dattes. Par contre il peut se conserver très longtemps dans les autres organes du Palmier (on a pu isoler le parasite à partir d'une palme sèche qui date de plus de dix ans au niveau d'un foyer bayoudé « palmeraie de Béni Abbès »).

Les mesures de surveillance peuvent ralentir la progression du Bayoud non l'arrêter définitivement. Les déplacements fréquents des personnes au niveau de nos oasis étant impossibles à contrôler, il paraît invraisemblable de pouvoir suspendre les échanges entre les palmeraies.

5.2. La lutte culturale

Louvet et *al.* (1970), et Saaïdi (1979) rapportent que les meilleures conditions de production du palmier Dattier sont également celles qui sont les plus favorables au développement de la maladie de sorte que la lutte par cette voie a peu d'intérêt. Il existerait cependant des plantes dites porteurs sains, la luzerne (*Medicago sativa* L.) et le henné (*Lawsonia inermis* L.) peuvent porter le parasite sans aucun symptôme apparent (Bulit et *al.*, 1967 ; Djerbi et *al.*, 1986).

5.3. La lutte chimique

Lorsqu'on se trouve confronté à une maladie vasculaire, on songe souvent à l'utilisation de produits cryptogamiques à action endothérapique ou systémique [Des produits à action systémique « substance pouvant circuler dans les vaisseaux des plantes et y inhiber le parasite déjà présent » ont été recommandés (bénomyl, thiophanates) et ont donné quelques résultats au cours d'expériences limitées contre l'agent du Bayoud *in vitro* (Saaïdi et Rodet, 1974 ; Surico, 1974 ; El Hadrami et *al.*, 2005) et même en palmeraie (Selvaraj, 1978 ; Fredericks et Denbrader, 1988). Mais leur utilisation pratique n'est guère envisageable] ; les raisons pour lesquelles nous pensons qu'il y a actuellement peu d'espoir dans cette voie pour lutter contre le Bayoud ont été données par plusieurs auteurs :

- Impossibilité de protéger pendant toute leur vie l'ensemble de l'appareil végétatif du palmier ce qui nécessiterait des applications répétées, étant donné la biodégradabilité des fongicides (Louvet et Toutain, 1973).
- Le coût très élevé des fongicides (Saaïdi, 1979).
- Le traitement des fusarioses à l'aide de fongicides induit souvent l'apparition de souches parasites résistantes (Tramier et Bettachini, 1977).
- Les fongicides sont souvent toxiques et peuvent migrer à différents niveaux de la plante ou être entraînés dans les nappes phréatiques.

5.4. La lutte génétique

Elle consiste en la sélection de variétés résistantes. Bien que prometteuse, cette méthode s'est heurtée à plusieurs inconvénients :

- La rareté des variétés résistantes (voir introduction générale)
- La lenteur de croissance du Palmier ; d'après Saaïdi, (1979), il faut 10 ans pour s'assurer de la résistance d'une variété.
- Cette espèce végétale est dioïque, elle est donc allogame obligatoire et chaque arbre est hybride.
- Pour la même variété la qualité du fruit peut varier avec les conditions pédologiques, écologiques et climatiques (chaque oasis possède son propre microclimat).

Une possibilité de multiplication végétative rapide peut être envisageable par la culture de tissus. (Djerbi et *al.*, 1991)

5.5. La lutte biologique

La remise en cause des méthodes de lutte génétique (par sélection de variétés résistantes) et chimique (par l'apparition de souches ou de races nouvelles et résistantes des pathogènes et par pollution) et le développement de l'écologie des champignons phytopathogènes, a donné un élan aux études sur le contrôle biologique (Baker, 1968 et 1981 ; Baker et Cook, 1974 ; Bruehl, 1976).

Cette forme de lutte n'a à notre connaissance pas été envisagée pour le Bayoud. Néanmoins, des études ont été réalisées en vue du contrôle biologique d'autres maladies cryptogamiques. Nous en donnons un aperçu historique. Le développement des connaissances en écologie microbienne, en particulier sur les relations antagonistes entre les microorganismes du sol (Tims, 1932 ; Waksman, 1948 ; Clark, 1969), a fait naître l'idée d'utiliser ces antagonismes pour lutter contre les maladies des plantes d'origine tellurique.

De très nombreux articles ont déjà été consacrés aux microorganismes antagonistes et à leurs modes d'action. Nous citerons seulement deux ouvrages collectifs : « Faune et flore auxiliaires en agriculture » et « les antagonismes microbiens, mode d'action et d'application à la lutte biologique contre les maladies des plantes » respectivement publiés par l'ACTA et l'INRA en 1983.

Très tôt, l'imprégnation des graines par des germes antagonistes du parasite a donné des résultats satisfaisants (Param et Mehpotra, 1980). D'autre part, l'étude des transformations de l'équilibre microbien du sol après traitement chimique a permis de comprendre l'intérêt de cette forme de lutte. C'est ainsi qu'en 1951, Bliss constate que la fumigation d'un sol par *Armellaria mellea* avec du sulfure de carbone n'aboutit à la disparition complète de ce champignon pathogène que 24 jours après fumigation. Or cet effet coïncide avec la colonisation massive du sol traité par *Trichoderma viride*. L'auteur en déduit qu'*A. mellea* a disparu, non sous l'effet direct du sulfure de carbone mais victime de l'antagonisme de *T. viride* [l'activité antagoniste des *Trichoderma spp.* vis-à-vis d'autres champignons comme *Rhizoctonia solani* repose vraisemblablement sur plusieurs mécanismes, l'un d'entre eux étant le parasitisme. En effet, il a été démontré (Chet et Elad, 1983) que certaines souches de *Trichoderma* s'enroulent autour des hyphes de *Rhizoctonia*, dégradent la paroi cellulaire grâce à l'émission d'enzymes et lysent le mycélium très rapidement]. Toujours dans le même contexte, Mitchell (1979), est parvenu, en incorporant au sol de la chitine, à faire régresser sensiblement la population de *F. solani*.

L'efficacité des applications de ce composé dans la protection des végétaux contre les *Fusarium* a été vérifiée par Buxton et *al.*, (in Dommergues et Mangenot, 1970) qui attribuent l'effet favorable de cet amendement à une stimulation des actinomycètes antagonistes, dont un pourcentage très élevé de dégrader la chitine. Il semble possible d'intervenir contre certains agents phytopathogènes d'origine tellurique d'une manière indirecte en stimulant une fraction de la microflore du sol (Montealegre et *al.*, 2003).

Cette stimulation peut être obtenue grâce à des substances nutritives incorporées au sol et utilisées préférentiellement par certains groupes de microorganismes. Ainsi Jouan et Lemaire (1974) sont parvenus à modifier l'équilibre microbien du sol en incorporant diverses substances nutritives.

L'inoculation du sol par des microorganismes s'est souvent soldée par un échec (Mitchell, 1979) due en général à un rejet écologique de l'inoculum (Dommergues et Mangenot, 1970).

La mise en évidence de la résistance naturelle des sols de châteaurenard aux fusarioses de la tomate et du melon (Louvet et *al.*, 1976 ; Rouxel, 1978 ; Alabouvette, 1983) est à l'origine d'un vaste programme de recherche visant à analyser les mécanismes de cette résistance et à les utiliser pour lutter biologiquement contre les fusarioses vasculaires. La première approche suivie est basée sur la démonstration de la transmissibilité de la résistance, la technique de transfert de la résistance a été employée à titre expérimental, pour lutter contre la fusariose de la tomate dans une serre commerciale naturellement infectée par l'agent pathogène (Couteaudier et *al.*, 1985).

La deuxième approche est basée sur la démonstration du rôle indispensable des *F. oxysporum* et *F. solani* non pathogènes dans les mécanismes de résistance des sols de Châteaurenard (Rouxel et *al.*, 1979). Les résultats (Alabouvette et Davet, 1985b) laissent raisonnablement espérer la mise au point rapide d'un procédé de lutte biologique contre les fusarioses vasculaires compatibles avec les autres techniques culturales et faciles à commercialiser.

En raison des difficultés rencontrées au niveau des autres formes de lutte contre le Bayoud, le laboratoire de biologie végétale du LRZA (le laboratoire de botanique de l'université d'Alger, devenu par la suite CNRZA puis ARZA, puis URZA et enfin LRZA qui est rattaché à l'USTHB), a orienté une partie de ses recherches vers la lutte biologique.

C'est dans cet esprit qu'ont été conduits les travaux relatifs à la biologie des sols des palmeraies de Ben Abbés et Adrar. C'est ainsi que l'activité microbienne dans la rhizosphère du Palmier Dattier a été étudiée (Ali Haimoud et *al.*, 1979 ; Chami et Bounaga D., 1979) ; ce

travail a été complété par des analyses des exsudats racinaires de cette plante (Bennaceur, 1981), la flore fongique du sol et de la rhizosphère a été dénombrée et déterminée (Laoufi, 1978).

Des microorganismes antagonistes de *F.o.albedinis* ont été isolés et testés vis-à-vis de ce dernier (Sabaou, 1979 ; Sabaou et *al.*, 1980 ; Mahdi, 1984), l'étude des caractéristiques écologiques de différentes souches de *Fusarium* a été mise en évidence par Amir et Mahdi, (1992a, et 1992b). L'influence de différents amendements sur le développement du *F.o. albedinis* dans le sol de différentes palmeraies a été étudiée par Badji, 1990.

L'influence de la salinité des sols de palmeraies sur les *Fusarium* a été mise en évidence, par Riba (1991) et également les conséquences sur l'expression du Bayoud ont été étudiées. Nous envisageons cette lutte dans le sens suivant : Le parasite se comporte dans le sol comme tous les autres saprophytes et son abondance ou sa régression sont étroitement liées d'une part aux facteurs pédologiques qu'il est difficile de transformer, d'autre part à ses interactions avec la microflore environnante. Or, il est possible de transformer au moins temporairement l'équilibre microbiologique du sol et d'influencer ainsi le développement du parasite.

En effet dans les sols, en particulier en zones arides les substances nutritives nécessaires à la survie des différents germes sont rares ; il s'ensuit donc une compétition nutritive importante entre différentes souches microbiennes du sol ; les souches les plus adaptées et les plus compétitives vont donc se développer tandis que les souches faibles seront plus ou moins éliminées. En inoculant dans le sol des germes très compétitifs et très adaptés, on peut ainsi provoquer la régression d'autres germes rigoureux (Fravel et Larkin, 2002 ; Ownley et *al.*, 2003)

Jusqu'ici les essais d'inoculation de souches antagonistes dans le sol, effectués pour d'autres maladies ont le plus souvent échoués en raison du rejet écologique rapide de la souche inoculée (Mitchell, 1979). Ce rejet serait probablement dû à l'inadaptation de la souche et au fait que l'écosystème du sol est fermé ; c'est-à-dire que chaque fonction du sol est remplie par un groupe de germes précis. L'inoculation induirait le déséquilibre d'une ou plusieurs de ses fonctions, ce qui provoquerait une réaction de l'ensemble de la microflore tendant à rejeter le nouveau venu.

Afin d'éviter ce rejet écologique rapide on propose d'utiliser des antagonistes du même genre que le parasite mais qui soient à la fois plus adaptés, plus compétitifs et capables d'assimiler plus rapidement les mêmes substrats que *F.o. albedinis*.

On pourrait aboutir ainsi au remplacement d'un germe pathogène par un germe semblable mais inoffensif sans altérer l'équilibre écologique initial.

Le rôle de la compétition intra générique dans la protection des plantes contre les agents pathogènes a déjà été signalé dans le cas de fusarioses (Rouxel et *al.*, 1979). Ces auteurs ont apporté la preuve que la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire était liée à la compétition entre les *Fusarium* saprophytes (*F. solani* et *F. oxysporum*) et les souches parasites de *F. oxysporum*.

Par ailleurs Molot et Mas (1974) montrent qu'une souche peu virulente de *F. o. f. sp. melonis* est capable d'empêcher partiellement une autre souche plus virulente d'infecter la plante.

C'est dans cette optique que nous avons proposé de sélectionner des souches de *F. solani* et de *F. oxysporum* antagonistes de *F.o. albedinis* (Mahdi, 1984).

Comme l'ont signalé Moody et Gindrat (1977), il est essentiel, pour mettre au point un procédé de lutte biologique efficace, d'étudier les caractéristiques écologiques des souches antagonistes afin de définir les conditions de leur implantation ; dans ce contexte nous avons étudié les liaisons qui peuvent exister entre les aptitudes écologiques de différentes souches de *Fusarium* et leurs efficacité dans la protection de plants de lin contre la fusariose vasculaire (Amir et Mahdi, 1992b), on a également analysé les corrélations entre les caractéristiques écologiques de différentes souches de *Fusarium* avec la référence particulière à leur persistance dans le sol (Amir et Mahdi, 1992a).

Il faut souligner que jusqu'à présent, les critères de sélection des souches en vue d'une lutte biologique n'ont pas été définis avec rigueur.

Une sélection a été réalisée à partir d'une cinquantaine de souches de *F. solani* et *F. oxysporum* (Mahdi, 1984), nous a conduit aux conclusions suivantes.

- Les souches de *F. solani* sont plus compétitives et plus adaptées aux sols des palmeraies que les souches de *F. oxysporum*.
- Les aptitudes des différentes souches de *F. solani* testées sont nettement différentes, certaines apparaissent faibles d'autres au contraire sont puissantes.
- Plusieurs souches particulièrement performantes sont nettement plus compétitives et plus adaptées que les trois souches étudiées.
- Elles sont en outre capables de persister en densité suffisante dans un sol pendant plus de neuf mois même s'il est soumis à des dessiccations répétées

Pour ce qui est de ce travail que nous présentons, nous avons fixé un but qui consiste à augmenter la rigueur dans la sélection des antagonistes afin d'obtenir des souches ayant toutes les aptitudes nécessaires sur le parasite et leur persistance dans le sol une fois inoculées.

Ces études sont essentielles car l'efficacité du traitement biologique dépend entièrement de la sévérité dans la sélection des souches antagonistes.

CHAPITRE I

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1. Les sols

Les sols utilisés pour l'isolement des souches de *Fusarium* antagonistes, sont ceux des palmeraies de Béni-Abbes et Adrar. Il s'agit de régions se situant dans l'étage bioclimatique aride à pluviosité faible (moins de 100 mm/an) et à saison chaude dominante, les amplitudes thermiques entre le milieu de la journée et la fin de la nuit étant importantes.

Ces sols ont été conservés secs pendant plus d'une année. Les souches ainsi isolées seront déjà caractérisées par une certaine résistance à la dessiccation.

Certains échantillons de ces sols avaient été traités avec des résidus pétroliers et des litières de volaille en vue d'une lutte biologique. (5% de résidus pétroliers et 10% de litières).

L'utilisation de souches isolées de ces échantillons, nous est suggérée par l'éventuelle possibilité de combiner le traitement par des antagonistes avec des amendements organiques.

La terre utilisée le plus souvent est issue de l'oasis de Béni-Abbes située au sud-ouest du pays et touchée par le Bayoud depuis plusieurs décennies. Elle est prélevée à l'extrémité sud de la palmeraie, dans un jardin proche de la piscine municipale.

Le choix de ce sol est justifié par sa réceptivité relativement élevée à la fusariose vasculaire (Amir, 1991) et par la faible densité de sa flore fusarienne (Tableau 1).

Tableau 1 : Importance relative des principaux groupes microbiens dans le sol de Béni-Abbes

Principaux Groupes	Sol de Béni-Abbes
Biomasse microbienne (Valeurs relatives)	3,0 ± 1,3
Bactéries ($\times 10^5$)*	38,6 + 2,2
Actinomycètes ($\times 10^5$)*	17,4 + 1,7
Champignons ($\times 10^3$)*	5,3 + 1,3
<i>Fusarium</i> ($\times 10^2$)*	3,8 + 0,4

La connaissance précise des caractéristiques physicochimiques de ces sols, ayant peu d'intérêt pour les travaux que nous présenterons, nous n'en donnons que les caractères essentiels (Tableau 2).

Caractéristiques physico - chimiques :

Structure sablo-limoneuse (Avec prédominance de sables fins).

- Nature calcaire, pH basique
- Capacité d'échange faible
- Pauvres en matière organique, mais leur C/N bas, indique une activité biologique notable.

Tableau 2 : Caractères physico- chimiques du sol utilisé (Béni - Abbes).

Caractère	Contenu
Granulométrie (%)	
Argile	2,5
Limon fin	0,3
Limon grossier	1,2
Sable fin	83,1
Sable grossier	12,9
Caractéristiques physico-chimiques	
Carbone organique (Ann) (%)	0,23
Azote total (Kjedhal) (%)	0,019
C / N	12,9
pH eau (1 / 2.5)	8,8
Calcaire total(%)	2,1
Conductivité électrique (dS/m)	0,13

1.2. Les souches de *Fusarium*

Les souches de *Fusarium* utilisées appartiennent aux espèces *F. oxysporum* et *F. solani*. Elles sont issues de clonages monospores et sont conservées sur milieu P.D.A à 4°C. La souche FoaT1 pathogène est utilisée pour infecter les plantules de Palmier Dattier.

1.2.1. Les souches parasites

M₂ : *F.o.f.sp. albedinis* : Isolée en mai 1973 par Bounaga N. à partir de rachis de la variété de Palmier (TAFAZOUANE) provenant de Metlili.

Fo66 : *F.o.albedinis* : Souche connue comme virulente, collection de Louvet.

Foln₂ : *F.o.f.sp.lini* : Souche parasite de lin, utilisée comme modèle pour l'étude des fusarioses vasculaires. (Collection : Pathologie Végétale, INRA, Rennes).

Fo47 : *F. oxysporum*, sol de Châteaurenard, France. Flore pathogène, INRA, Dijon, souche sélectionnée, utilisée en lutte biologique. Elle sert de référence.

1.2.2. Les souches saprophytes

La majorité des souches sont isolées par nous-mêmes des sols de béni-Abbes et d'Adrar, cependant un certain nombre d'entre elles appartiennent à la collection de Amir (1981), et sont isolées également des mêmes sols, puis conservées par repiquages réguliers sur P.D.A (*Potato dextrose Agar*), il s'agit des souches suivantes : 34, RB, F.020, FoTKP2, FoTKG, Tim6 (*Fusarium oxysporum* saprophytes).

H, W, F₃, 3, 26, 28, 33 (*Fusarium solani* saprophytes) souches sélectionnées, utilisées en lutte biologique servent de référence. Elles sont utilisées comme antagonistes.

1.3. La plante

Les plantules du Palmier Dattier sont issues de graines (Femelle Deglet Nour x Mâle indéterminé), prélevées d'un régime unique de dattes. Selon Louvet et Toutain (1973), l'homogénéité obtenue pour un tel matériel est suffisante.

1.4. Les milieux de culture utilisés

1.4.1. Le milieu P.D.A

Toutes les souches sont maintenues en culture par repiquages réguliers sur milieu P.D.A de composition suivante :

- 250 g de Pomme de terre (P)
- 10 g de Dextrose (Glucose) (D)
- 20g de Gélose nutritive (Agar-Agar) (A)
- 1000 ml d'eau distillée

Le milieu est stérilisé à l'autoclave pendant une heure à 120°C, puis distribué dans des boîtes de Pétri ou des tubes stériles (Pochon et Tardieux, 1962).

1.4.2. Le milieu sélectif à base de peptone -Extrait de levure, pour *F. oxysporum* et *F. solani*

Pour le dénombrement des Fusarium, nous avons utilisé le milieu de composition suivante :

- Peptone : 5g
- Extrait de levure : 2g
- Agar-Agar : 20g

Un milieu similaire est utilisé par Snyder et *al.* (1959) et Smith et *al.*, (1975) pour la numération de ce genre fongique.

Après stérilisation, 10 ml d'une solution contenant :

- Streptomycine : 100 mg afin d'éliminer toutes les bactéries, parfois d'autres bactéries résistantes à l'antibiotique apparaissent, dans ce cas on rajoute au milieu le chlorampénicol.
- TCNB (Tetrachloronitrobenzène) : 80 mg, le TCNB est préalablement broyé dans quelques gouttes d'éther di-éthylique et de Triton x100.

1.4.3. Milieu extrait de terre

On utilise ce milieu pour la majorité des tests in-vitro, afin d'être plus proches des conditions naturelles.

➤ Préparation

La terre est mélangée à poids égal, avec de l'eau du robinet (pH proche de la neutralité). On laisse macérer pendant 24 heures. Le mélange est autoclavé pendant une heure à 130°C. A la sortie de l'autoclave, le mélange est filtré sur papier filtre (jusqu'à obtention d'un extrait limpide), on rajoute 20 g d'Agar à un litre d'extrait, puis le tout est autoclavé pendant 30 minutes à 120°C (Pochon et Tardieux, 1962).

2. Méthodes

Nous avons fixé un but qui consiste à augmenter la rigueur dans la sélection des antagonistes, afin d'obtenir des souches ayant toutes les aptitudes nécessaires sur le parasite et leur persistance dans le sol une fois inoculées.

Le travail a été effectué sur un lot de souches assez important et varié, (tenir compte du maximum de différences « aspect macroscopique », forme de la colonie, différents types de pigmentation, aspect du *mycélium*, absence ou présence de sporodochies)

Une culture monospore a été envisagée pour chaque souche (afin d'éliminer tout problème relatif à la variabilité génétique qui pourra entacher nos résultats dans l'avenir). Les tests ont été revus (augmentation du nombre) et améliorés.

Les sols des palmeraies de Béni-Abbes et Adrar, d'où l'isolement des souches a été effectué, ont subi différents types de traitements.

2.1. Incubation en conditions optimales

- Sol non traité : Aéré légèrement, incubation pendant 15 jours, 01 mois, 03 mois.

(Isolement de souche « témoin »).

- Sol additionné de fins fragments de palmes sèches : Ce sol devra être souvent mélangé une fois par semaine.

(Sélection de souches adaptées à ce substrat).

- Sol additionné de Chitine.

(Sélection de souches insensibles à l'antagonisme des Actinomycètes).

- Sol autoclavé et additionné de 1 à 5% de sol normal.

(Sélection des souches les plus aptes à la colonisation saprophytique du sol).

- Sol comme le N°(4), mais agité 02 fois par semaine pour la dispersion des spores produites.

(Sélection des souches les plus aptes à produire des spores de dissémination).

- Sol planté avec des plantules de Palmier Dattier.

(Sélection des souches qui dominent la rhizosphère exsudante).

- Sol dans lequel sont plantés verticalement des morceaux de racines subérifiées.

(Sélection des souches qui dominent dans la rhizosphère non active)

2.2. Incubation en conditions non optimales

- Sol incubé 15 jours en conditions optimales jusqu'à dessèchement, puis réhumidifié et réincubé jusqu'à dessèchement, puis incubé pendant 1 mois desséché en atmosphère sèche.

(Sélection des souches résistantes à la dessiccation et variation de l'humidité).

- Sol incubé en humidité optimale :

- 1^{er} temps : Chambre froide
- 2^{ème} temps : Incubation à 30°C
- 3^{ème} temps : Incubation à 40°C

(Sélection des souches résistantes aux variations de la température).

Les différents échantillons ont été soumis à des réhumidifications aux périodes régulières, traitement avec précaution.

Après le temps d'incubation nécessaire pour chaque échantillon, un dénombrement a été réalisé.

Pour chaque cas de sol traité, des isollements de souches ont été réalisés, ainsi que des purifications, les souches sont soumises à des tests permettant d'apprécier leur intérêt, en tant qu'antagonistes de *F.o.albedinis*, en vue de les utiliser dans la lutte biologique contre le Bayoud.

Dans ce sens, l'espèce *F. Solani* nous paraît plus avantageuse que *F.oxysporum*, car elle est facilement différenciable du parasite sur milieu de culture. D'autre part, les souches de *F.oxysporum* isolées du sol peuvent elles mêmes appartenir à la forme pathogène.

Pour ces raisons, le lot de souches qui seront soumises aux tests, est constitué en grande partie d'isolats de *F. Solani*.

Les souches antagonistes sélectionnées devraient posséder les aptitudes suivantes :

- Adaptation aux conditions arides en particulier à la dessiccation.
- Pouvoir compétitif élevé et pouvoir antagoniste vis-à-vis de *F.o.albedinis*.
- Capacité d'assimiler plus rapidement les mêmes substrats que le parasite.

Etant donné la nécessité de sélectionner les souches à partir de lots initialement importants, il est essentiel d'arriver à mettre au point des tests assez rapides et simples pour l'appréciation de leurs aptitudes, pour cela 09 tests ont été réalisés.

- **1^{er} test** : Mesure de la croissance mycélienne sur milieu extrait de terre.
- **2^{ème} test** : Appréciation de l'aptitude à sporuler sur milieux extraits de terre.

Après ces deux premiers tests qui sont simples, et nous permettent d'apprécier grossièrement le pouvoir compétitif des souches, une première sélection est réalisée afin d'avoir un lot plus restreint pour les tests suivants, qui sont plus complexes.

- **3^{ème} test** : Mesure du pouvoir germinatif des conidies.
- **4^{ème} test** : Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores du *F.o.albedinis*
- **5^{ème} test** : Mesure de l'activité respiratoire
- **6^{ème} test** : Mesure du développement saprophytique.
- **7^{ème} test** : Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel.
- **8^{ème} test** : Mesure de l'action antagoniste dans le sol vis-à-vis du *F.o.albedinis*.

Une analyse factorielle a été réalisée afin de déterminer les corrélations entre les caractères écologiques des différentes souches, avec référence particulière à leur persistance dans le sol.

- 9^{ème} test : Mesure de l'aptitude à protéger le Palmier contre le Bayoud.

2.3. Isolement, purification et détermination des souches

2.3.1. Isolement des souches

L'isolement a été fait à partir des sols qui ont été traités « chapitre I ». On utilise un milieu sélectif à base de peptone, extrait de levure, additionné de streptomycine afin d'éliminer toutes les bactéries et de TCMB (Tetrachloronitrobenzene) permettant d'avoir uniquement des *F. solani* et *F. oxysporum* (Bouhot et Rouxel, 1971).

La technique utilisée est celle des suspensions dilution et étalement sur milieu gélosé (Pochon et Tardieux, 1962), pour cela nous utilisons des seringues automatiques « CORNWALL », qui ont l'avantage de permettre un travail rapide et de laisser passer la terre en proportion normale d'une dilution à une autre.

Un gramme de terre est introduit stérilement dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile : c'est la dilution 10^{-1} . Ensuite, 1 ml de la première dilution est prélevé est mis dans 9 ml d'eau distillée stérile, on obtient la dilution 10^{-2} que l'on agite au vortex. En prélevant toujours ce même volume, on prépare ainsi des dilutions successives.

2.3.2. Purification des souches

Après 8 à 10 jours d'incubation les colonies de *Fusarium* apparues sont reprises séparément sur boîte de Pétri et sont purifiées 2 ou 3 fois par repiquage en stries (méthode classique) sur le même milieu.

Pour un même échantillon de sol, les colonies les plus grandes « ayant une croissance relativement rapide » et les plus distinctes sont choisies. On a tenu compte dans notre choix tous les aspects macroscopiques que la souche peut présenter à savoir, la couleur des pigmentations, la forme et l'aspect général du mycélium dans un souci d'avoir le maximum de souches variées.

2.3.3. Détermination des souches

Selon Booth (1971), le genre *Fusarium* comprend 44 espèces. La distinction entre les espèces de *Fusarium* bien que basée essentiellement sur des critères morphologiques est très délicate. Cependant grâce à la sélectivité du TCNB qui ne permet le développement que de *F. solani*

et *F. oxysporum*, le travail de détermination est considérablement simplifié. En effet chez *F. solani*, les phialides porteuses de microconidies sont longues tandis qu'elles sont très courtes chez *F. oxysporum* (figure 6 et 7) ; ce caractère est facile à apprécier par observation au microscope optique des colonies sur boîte de Pétri à faible grossissement.

Chez *F. solani* : les phialides érigées vers le haut apparaissent longues et bien distinctes du mycélium tandis que chez les *F. oxysporum* les phialides sont camouflées par l'amas des spores ou apparaissent très courtes et peu dissociées de la masse mycélienne. Une observation à plus fort grossissement nous permet de confirmer la ressemblance des caractères de toutes les souches de *F. solani* et *F. oxysporum* isolées.

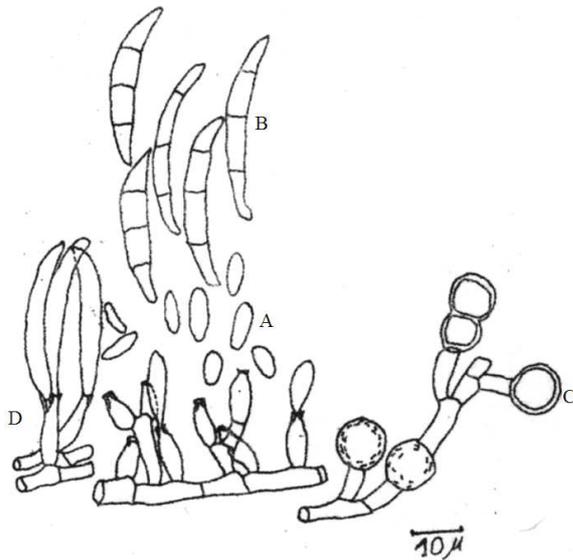


Figure 6 : *Fusarium oxysporum* (Booth, 1971)

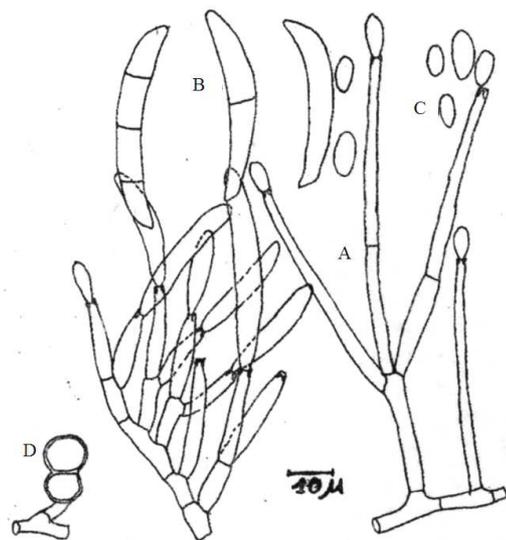
A : Microconidies ; B : Macroconidies

C : Chlamydospores ; D : Conidiophores

Figure 7 : *Fusarium solani* (Booth, 1971)

A : Conidiophores ; B : Macroconidies

C : Microconidies ; D : Chlamydospores



2.4. Cultures monospores

Toutes les souches retenues au nombre de 96 ont subi une culture monospore avec soin de sorte qu'à chaque souche on prélève uniquement la microconidie, on note que certaines souches de *F.solani* produisent des microconidies avec une cloison «microconidies bicellulaires en plus des microconidies sans cloison «microconidies monocellulaires», mais pour que la collection soit homogène toutes les souches ont été traitées de la même manière pour éviter les problèmes relatifs à la variabilité génétique, bien que toujours est-il que les *Fusarium* resteront un matériel microbiologique très délicat et ceci de l'avis des experts.

CHAPITRE II

Etude de la croissance et de la sporulation et selection des souches de *Fusarium*

Comme nous l'avons déjà signalé, l'efficacité du contrôle du Bayoud par des antagonistes du parasite nécessite une sélection rigoureuse des souches en fonction de leur adaptation au sol des palmeraies et leur aptitude à la colonisation saprophytique du sol. Dix et Mitchell (1976) définissent la notion suivante :

Indice de colonisation saprophytique = taux de germination x longueur du tube germinatif

Le taux de germination est directement lié au taux de sporulation. La longueur du tube germinatif correspond à la croissance mycélienne. En effet il ya tout lieu de croire que le pouvoir compétitif des souches est déterminé en grande partie par la croissance mycélienne qui permet la colonisation rapide d'un milieu et la capacité de produire des spores de résistance qui constitue un moyen de dissémination et aussi un moyen de résistance dès que surviennent des conditions défavorables, phénomène fréquent dans les sols des zones arides.

D'après Alabouvette et *al.* (1980), l'activité et le développement des *Fusarium* dans le sol se font par intermittence. En général, ils se trouvent dans le sol sous forme de chlamydospores, les spores germent lorsqu'il ya apport des substances énergétiques et que les conditions de température et d'humidité le permettent ; ils donnent alors un mycélium qui se transforme de nouveau en spores dès que les conditions redeviennent défavorables, s'il en est ainsi la rapidité de croissance du mycélium et la quantité de chlamydospores produites seraient directement liées à l'abondance d'une souche dans le sol.

Nous avons choisi de caractériser d'abord les souches par leur aptitude à croître et à sporuler sur milieu à base d'extrait de terre. Ces deux tests étant relativement simples ils nous permettront de faire une présélection qui conduira à réduire le lot pour les tests suivants qui sont plus complexes.

1. Méthode

1.1. Mesure de la croissance mycélienne

On utilise le milieu extrait de terre qui est coulé en boîtes de Pétri à raison de 15 ml par boîte. A partir de cultures obtenues sur ce même milieu, des pastilles de 5 mm de diamètre sont prélevées à la périphérie des colonies de façon à prendre du mycélium jeune. Une pastille est ainsi déposée au centre de chaque boîte de pétri.

Après deux jours d'incubation à 28°C, les bords de la petite colonie formée sont délimités avec précaution sur le fond de la boîte avec un feutre marqueur très fin. Cette marque constitue le point de départ de la croissance, ce qui permet d'éviter des fluctuations dues à une reprise plus ou moins lente du mycélium initial à partir des pastilles.

La mesure de la croissance est réalisée au 8^{ème} jour et consiste à effectuer, avec une règle plate précise, et pour chaque boîte, 4 mesures de la distance entre la marque au feutre et la limite externe de la colonie. 5 répétitions par souche permettent d'obtenir une moyenne à partir de 20 mesures.

1.2. Mesure de la production de microconidies et de macroconidies

Les souches sont ensemencées sur milieu extrait de terre par dépôt d'un explant au centre de la boîte de Pétri. Après 10 jours d'incubation à 28°C, un secteur de milieu de 4 cm allant de l'extérieur de la colonie vers le centre de la boîte est découpé et introduit dans 10 ml d'eau stérile puis soumis à une forte agitation « vortex » pendant 3 minutes. La densité en spores est alors estimée sur cellule de Thoma. Les spores sont classées comme macroconidies lorsqu'elles ont au moins deux cloisons. Les valeurs correspondant à la moyenne de 5 essais sont rapportées au mm² de surface.

1.3. Mesure de la production de chlamydospores

Les souches sont ensemencées sur milieu extrait de terre par dépôt d'un explant au centre de la boîte de Pétri puis incubées pendant 20 jours à 28°C. Un secteur de milieu allant de l'extérieur vers le centre de la boîte est alors découpé et déposé sur une lame de microscope il est imprégné avec quelques gouttes de bleu de coton puis recouvert avec une lamelle. Auparavant, nous prenons soin de tracer sur la face supérieure de la lamelle, à l'aide d'un crayon feutre fin, une ligne droite avec des repères tous les 2 mm environ. La lamelle est disposée de telle façon que le premier repère coïncide avec le centre de la colonie et que la ligne soit orientée dans le sens de la croissance. En partant du premier repère, nous explorons

une quinzaine de champs à l'objectif 40 (grossissement 400) en progressant d'un repère à chaque fois le long de la droite.

Cette procédure est justifiée par le fait que la quantité de chlamydozoaires produites, varie selon l'âge de la zone mycélienne et qu'il faut donc effectuer des mesures exactement de la même façon pour toutes les boîtes. Les chlamydozoaires fortement colorés par le bleu de coton sont relativement faciles à dénombrer, car le mycélium croissant sur l'extrait de terre, n'est pas dense. Pour diminuer les risques d'erreurs et compte tenu du caractère relatif des mesures, seules les chlamydozoaires formées sur la surface du milieu ou au-dessus sont comptées. 5 répétitions par souche sont réalisées.

2. Résultats

Tous les résultats de la croissance et de la sporulation sont portés en annexes vu le nombre important des souches (96 souches).

2.1. La croissance mycélienne

Le tableau en annexe 1 indique que la vitesse de croissance du front mycélien des 96 souches de *Fusarium* testées varie entre 19,5 mm et 37,7 mm. Les souches les plus performantes (9Ba5, 8Ad1, 8Ad8, 9Ba3, 9Ba8, 9Ad1, 9Ad2...) sont les souches de *F. solani*, d'autres souches de *F. oxysporum* sont performantes aussi (Tim6, FO47). Les plus faibles, souches 3, 33, 26, ont une croissance nettement au-dessus des autres souches. Chaque groupe possédant des souches à croissance lente et des souches à croissance rapide, Ainsi l'espèce *F. oxysporum* ne forme pas un groupe distinct de celui du *F. solani*. Nous notons également qu'il n'y a pas de différence nette entre les souches originaires du sol de Béni-Abbès et celle originaire du sol d'Adrar. La majorité des souches parasites possèdent une croissance un peu plus de la moyenne.

2.2. Estimation de la sporulation

2.2.1. Production de microconidies

Cette aptitude varie beaucoup selon les souches, elle passe de 17600 microconidies par mm² pour FoTKG à 343 pour FsB. Les souches de *F. oxysporum* sont les plus performantes.

2.2.2. Production de macroconidies

D'une façon générale les macroconidies sont produites en moindre quantité que les microconidies. Peu de souches en produisent un nombre élevé (12a3-1, 9Ba8, 9Ba5, 2Ad3, BaFs2, 7Ba1.).

Les souches 34, 3, 33 n'en donnent que 60 mm² tandis que les souches RB, Fo47, 8Ad2 et 26 n'en produisent pas du tout.

L'espèce *F.oxysporum* est caractérisée par une production très faible ou nulle de macroconidies.

2.2.3. Production de chlamydozoozores

Comme pour les autres types de spores, la quantité de chlamydozoozores formées par les différentes souches varient énormément. Certaines en produisent plus de 1000 / mm² (12a2-1, 12b1-1, Fs59, Foln2) d'autres en donnent moins de 50 / mm² (3Ad4, 26, 1Ad4, HR8). Parmi les souches de *F. oxysporum*, deux sont performantes et une est faible.

3. Discussion

L'aptitude à la sporulation apparaît très variable selon les souches. Certaines comme les souches parasites ne produisent pas de macroconidies, d'autres produisent très peu de chlamydozoozores. Dans ce test nous nous intéressons particulièrement aux macroconidies et aux chlamydozoozores, étant donné que le mode de résistance et de dissémination dans le sol correspond aux chlamydozoozores. Les macroconidies étant capables de se transformer en chlamydozoozores (Booth, 1971 ; Rouxel, 1978), les microconidies sont des spores de dissémination certes mais connu beaucoup plus comme peu résistantes dans le sol (Rouxel, 1978 ; Amir, 1981), Bien que Tello-Marquina et *al.* (1980) aient montré qu'elles sont elles mêmes capables d'engendrer de petites chlamydozoozores.

Comme pour la croissance il n'apparaît pas de différence nette entre les souches de *F. solani* et *F. oxysporum*, ni entre les souches issues du sol d'Adrar et celles issues du sol de Ben-Abbés. Par contre les souches parasites sont connues comme ne produisant pas de macroconidies (Bounaga, 1975 ; Rouxel, 1978). Les souches de *F.o.albedinis* produisent peu de chlamydozoozores.

Conclusion

Les aptitudes à la croissance et à la sporulation des souches testées (96) sont différentes. Ce qui nous permet de dégager les souches les plus performantes pour les deux premiers tests. Les souches parasites se révélant moyennes pour la croissance et faible pour la sporulation par rapport aux autres souches de *F. solani*. On peut penser que leur pouvoir compétitif est nettement inférieur à celui des souches les plus performantes.

16 souches ont été dégagées pour les tests suivants (il pourrait y avoir plus, mais plusieurs contraintes nous ont obligé à réduire le nombre : Délicatesse des techniques et matériel réduit).

Les résultats des mesures de la croissance mycélienne et de la sporulation des 96 souches de *Fusarium*, qui sont rapportés en annexe 1, nous ont servi essentiellement à dégager un lot plus restreint caractérisé par une forte variabilité.

Les souches ayant différentes performances ont été choisies.

Pour l'espèce *Fusarium solani* :

- Des souches à forte croissance et forte aptitude à sporuler : 9Ba5, BaFs2.
- Des souches à forte croissance : H, F3, 26
- Des souches à faible croissance et faible sporulation : 33, 3
- Des souches moyennes pour les deux aptitudes : W et 28
- Des souches à forte croissance et faible sporulation : 8Ad2

Pour l'espèce *F.oxysporum*, nous avons choisi 3 souches du sol et 3 souches pathogènes. Cette espèce semble montrer moins de variabilité que *F.solani*. Par ailleurs, certaines souches (Fo47, Fo66, M2) ont été prises d'office pour des besoins de références. FoLn 2 a été sélectionnée pour sa forte aptitude à produire des chlamydospores sur extrait de terre.

RB et 34 ont une croissance mycélienne et une aptitude à sporuler relativement élevée par rapport à leur groupe.

(On note qu'on pouvait pas aller au-delà du nombre de 16 souches, bien que dans le lot il y avait d'autres souches qui sont beaucoup plus variables et intéressantes pour les deux tests, néanmoins, pour d'autres travaux, il est utile d'avoir au laboratoire un lot de souches dont on connaît au départ quelques caractéristiques : Croissance et sporulation, et caractéristiques macroscopiques).

CHAPITRE III

Etude de quelques caractères écologiques

Analyse factorielle

Etude de quelques caractères écologiques de différentes souches présélectionnées et analyse de ces caractères avec la référence particulière de leur persistance dans le sol.

I. Etude des caractères écologiques des souches présélectionnées

En général, les classifications concernant les relations entre les organismes vivants reposent sur la question de savoir, si le rapport est néfaste, neutre ou avantageux, pour l'un des deux ou pour les deux organismes considérés. Selon Clark (1969), il existe 04 types d'antagonismes entre les microorganismes :

- La compétition nutritive proprement dite
- L'antibiose
- Le parasitisme
- La prédation

L'antibiose est le résultat de la production par un organisme, d'un composé nocif capable d'inhiber la croissance d'un autre organisme ou de le détruire (Clark, 1969). Le parasitisme entre microorganismes (Sabaou, 1980) et la prédation étant plus rares, ce sont essentiellement les deux autres phénomènes qui déterminent la dominance ou la régression des souches fongiques dans le sol (Dommergues et Mangenot, 1970).

Il nous semble donc essentiel de rechercher les souches de *Fusarium* capables de limiter le développement du parasite par la sécrétion de substances inhibitrices.

Par ailleurs Amir (1981) a démontré que certaines souches de *Fusarium* ont un effet stimulateur de *F.o.albedinis* par leur sécrétion. Ce type de souches doit être évité dans notre sélection, sinon nous risquons de provoquer un effet contraire à celui attendu en inoculant dans le sol de telles souches.

C'est dans cette optique que nous étudions l'effet des sécrétions des souches antagonistes sur la germination des spores parasites.

En vue de la lutte biologique contre le Bayoud, notre démarche comme nous l'avons présentée, était basée sur la recherche de souches de *Fusarium* antagonistes du *F.o.albedinis*, pour les inoculer dans le sol afin de freiner la progression du parasite vers la plante.

Les agents phytopathogènes d'origine tellurique possèdent généralement un cycle comprenant une phase saprophytique se déroulant dans le sol. Au cours de cette phase, les interactions

avec la microflore vont conditionner à la fois la survie et l'expression des capacités infectieuses du parasite.

Bien que nous avons utilisé un milieu à base d'extrait de terre pour les tests de croissance et de sporulation, nous ne pouvons être certains que les souches performantes sont capables de persister dans le sol longtemps après l'inoculation.

En effet, dès leur incorporation dans le sol, ces souches subissent l'antagonisme des peuplements microbiens déjà en place qui parviennent souvent à l'élimination rapide de ces souches étrangères (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Jouan et Lemaire, 1974). Or la persistance des souches dans le sol est un facteur essentiel pour la lutte biologique, en particulier dans le cas du Palmier où il s'agit de rechercher un traitement à action durable. Il est donc essentiel de quantifier cette aptitude de façon plus directe.

En réalité, elle traduit plusieurs capacités qui conditionnent la persistance des souches dans le sol :

- Le pouvoir de colonisation saprophytique (Mesure de la production de chlamydospores sur milieu extrait de terre et mesure du développement saprophytique dans un sol désinfecté).
- La résistance aux actions antagonistes des germes de la microflore tellurique.
- La résistance à la dessiccation.

Ce travail nous permettra par ailleurs, de vérifier le degré de corrélation entre les résultats des tests effectués sur milieu de culture et ceux obtenus après inoculation dans le sol. Cette corrélation est d'un grand intérêt pour la connaissance plus précise de l'écologie microbienne du sol, connaissance indispensable pour la mise au point d'un traitement biologique efficace et durable contre la Bayoud.

1. Méthode

Les seize souches monospores de *Fusarium* présélectionnées précédemment sont soumises aux différents tests permettant d'apprécier leurs aptitudes écologiques. Pour certains tests, les souches sont préalablement incorporées dans du talc selon la technique décrites par Tello-Marquina et Alabouvette (1984) qui permet d'avoir des inoculum stables pour leurs introduction dans le sol. Le talc est un support physico-chimique inerte qui n'apporte aucune autre microflore que la souche incorporée et permet d'effectuer des dilutions précises avec une bonne répartition de l'inoculum dans le sol considéré. Pour avoir une biomasse assez

importante, les souches sont d'abord cultivées sur milieu liquide (250 g de pomme de terre, cuite pendant 45mn dans un litre d'eau distillée, puis filtrée ; le filtrat est additionné de 20g de glucose puis homogénéisé avant d'être distribué dans des erlen de 500ml à raison de 150 ml par erlen). Ce milieu est légèrement acidifié (pH= 5) puis stérilisé. Après huit jours d'incubation en culture agitée à 28° C, le milieu est centrifugé à 3500 ev min^{-1} pendant 15mn. Le culot est trituré à l'aide d'un broyeur de type ultra-turax puis remis en suspension dans un peu d'eau stérile puis incorporé dans du talc à raison de 1ml pour 2g de talc. Ce dernier est mis à sécher dans une étuve ventilée à 20°C puis broyé, tamisé à 200 μm et conservé en chambre froide. Avant l'emploi, la densité en propagule est déterminée par ensemencement d'une aliquote sur un milieu gélosé non spécifique. Elle varie entre 3×10^6 et 10^8 cfu/g de talc selon les souches.

La mesure de l'aptitude des 16 souches à croître et à sporuler a été étudiée précédemment au chapitre II, car les 16 souches sont issues du lot initial sur la base des résultats obtenus pour ces deux tests.

(Mesure de la croissance mycélienne, mesure de la production de microconidies et de macroconidies et mesure de la production de chlamydo-spores sur milieu extrait de terre).

1.1. Mesure de la production précoce de chlamydo-spores au contact du sol non désinfecté

Des cultures réalisées ponctuellement en boîte de Pétri sur milieu malt (malt 1%, agar 1,5%) sont incubées 10 jours. Le mycélium de la souche est alors recouvert d'une mince couche de sol de Béni Abbès après 24h à 28°C, le sol est éliminé puis le mycélium est lavé avec un jet d'eau stérile. La lecture du nombre de chlamydo-spores produites est réalisée comme dans le test précédent.

1.2. Mesure du pouvoir germinatif des conidies

Des résultats préliminaires ont révélé qu'il y avait peu de différence entre les souches quant à l'aptitude à germer de leurs chlamydo-spores. Ce sont donc uniquement les conidies qui sont étudiés dans ce test.

10 ml d'eau distillée stérile sont introduits dans un tube contenant une culture de la souche à tester âgée de 10 jours et poussant sur un extrait de terre gélosée. Après une agitation au vortex, la suspension est filtrée aseptiquement sur tamis à maille de 20 μm puis la densité en spores est estimée sur cellule de Thoma.

A partir de cette suspension, des boîtes de Pétri contenant une couche fine de d'extrait de terre gélosé sont ensemencées de façon à obtenir une densité d'environ 10 spores par champ du microscope (objectif 40).

Les boîtes sont alors incubées à 28°C pendant 6 à 9h (après 6h, des observations régulières sont nécessaires afin d'arrêter l'incubation, lorsque la souche la plus avancée atteint un taux de germination de 80 à 90%). Des secteurs de milieu sont alors déposés sur des lames ; les spores sont fixées avec quelques gouttes d'alcool puis colorées au bleu coton. Le taux de germination est déterminé après observation de 5 fois 100 spores.

1.3. Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis*

La souche à tester est ensemencée ponctuellement à la périphérie de cinq boîtes de Pétri. Après 4 jours à 28°C, quelques gouttes d'une suspension de conidies de *F.o.albedinis* titrant 2×10^5 spores par ml et obtenue à partir d'une culture de 10 jours, sont étalées sur la surface non colonisée du milieu en prenant soin de ne pas toucher la souche antagoniste. Les boîtes sont de nouveau incubées 6 à 8h puis une section de milieu contenant la colonie antagoniste et sa zone d'influence est découpée et mise sur une lame.

Quelques gouttes d'alcool puis de bleu coton sont alors déposées sur la surface du milieu. Le pourcentage de germination est estimé sur 100 spores observées au voisinage immédiat de la colonie antagoniste (zone située entre 0,5 et 3 mm du bord de cette dernière). Le témoin correspond aux boîtes traitées de la même façon, mais non ensemencées avec la souche antagoniste. Les résultats sont exprimés par la différence entre l'essai et le témoin rapportée en % de ce dernier.

1.4. Mesure de l'activité respiratoire

100 g de sol désinfecté dans un flacon sérum sont ensemencés avec une suspension de conidies de la souche à tester de façon à obtenir une densité initiale d'environ 1000 cfu g⁻¹ de sol. L'humidité est ajustée à 80% de l'humidité équivalente, puis les flacons, bouchés dans un premier temps avec du coton stérile sont mis à incuber à 25°C. La mesure de l'activité respiratoire est effectuée au cinquième jour, pendant la phase exponentielle de croissance. Pour cela, les flacons sont fermés hermétiquement avec des bouchons stériles en caoutchouc surmontés de bagues à vis. Après 6h, un échantillon de l'atmosphère interne du flacon est prélevé. Le CO₂ Produit est alors dosé par catharométrie au chromatographe en phase gazeuse muni d'une colonne de 4,5m remplie de porapak Q 100-120 mesh. Le gaz vecteur étant

l'hélium, les températures du four de l'injecteur et du détecteur atteignent respectivement 40, 110 et 110°C.

Les résultats, correspondant à la moyenne de 3 essais, sont exprimés en nanomoles de CO₂ dégagé g⁻¹ sol h⁻¹.

1.5. Mesure de développement saprophytique en sol désinfecté

Le sol réparti à raison de 50g par flacon est désinfecté puis inoculé avec une quantité précise de talc contenant la souche et calculée de façon à obtenir 1000 cfu g⁻¹ de sol. Après ajustement de l'humidité à 80% de l'humidité équivalente, les flacons sont incubés à 25°C.

Le développement de la souche est estimé grâce à des numérations par suspensions dilutions et ensemencement sur milieu gélosé (Malt : 1,5%, Agar : 2%). Pour chaque souche, trois répétitions de dix boîtes sont réalisées. Seule la densité au 22^{ème} jour correspondant au maximum atteint (plateau) est exploitée ici.

1.6. Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel

Chaque souche est inoculée dans trois (3) flacons contenant 50 g de sol par apport d'une quantité de talc calculée de façon à obtenir une densité de 10⁵ cfu g⁻¹. Après ajustement de l'humidité à 80% de l'humidité équivalente, les flacons sont incubés à 25°C pendant quatre mois. Des numérations périodiques permettent de suivre l'évolution des souches. Après dilutions, le sol est ensemencé sur un milieu gélosé (Peptone : 5g, extrait de levure : 2g, amidon : 5g, agar : 20g, eau distillée q.s.p. : 11) rendu sélectif par addition de 1000 mg⁻¹ de streptomycine et de 80 mg⁻¹ de tetrachloronitrobenzène. Cet antifongique permet uniquement le développement de *Fusarium oxysporum* et *F. solani* (Bouhot et Rouxel, 1971). Pour chaque souche, trois répétitions de cinq boîtes sont réalisées. Le sol utilisé contenant très peu de *F. sp. autochtones* (Tableau 1), la densité de ces derniers est négligeable par rapport à celle des souches inoculées.

La valeur exploitée dans ce travail est la densité en fin d'expérience (quatrième mois), elle est rapportée en % du niveau d'inoculum initial.

L'analyse des corrélations totales, partielles et multiples (Dagnelie, 1975) est effectuée avec l'aide du logiciel Statitcf (version 3 ; 1987).

2. Résultats

Les résultats condensés dans le tableau en annexe III vont nous servir de base aux études de corrélations.

2.1. Croissance mycélienne

La figure 8 indique que la vitesse du front mycélien des 16 souches de *Fusarium* testées varie entre 19,5mm et 37,8mm en 6 jours. Les souches les plus performantes sont 9Ba5, Fo47 et BaFs2. Les plus faibles (3, 33 et 26) ont une croissance nettement au dessous des autres souches. *F.oxysporum* ne forme pas un groupe distinct de *F.solani* ; cependant les 3 souches pathogènes (Fo66, Fo47, M2) donnent des valeurs légèrement au dessous de celles des souches issues du sol.

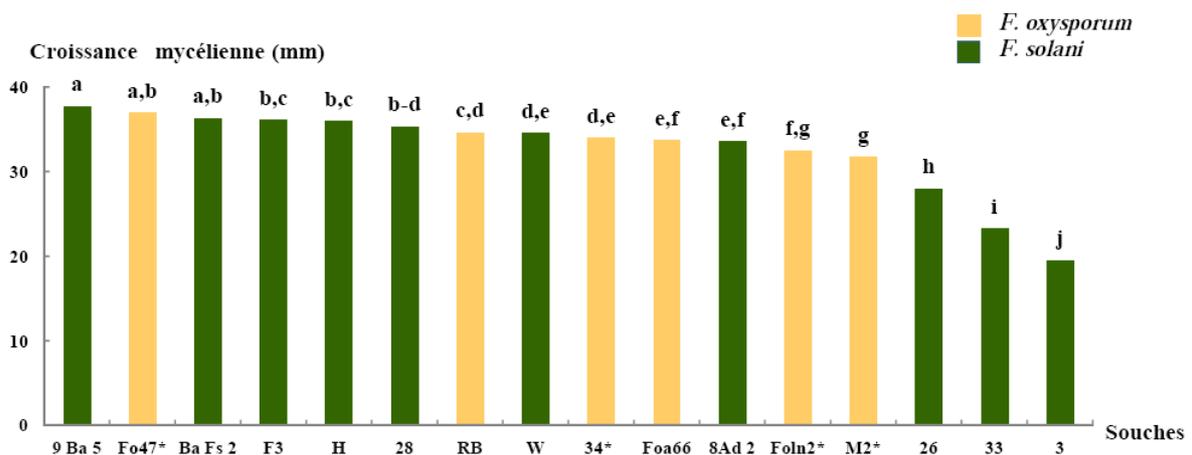


Figure 8 : Croissance mycélienne

2.2. Production de mi

Cette aptitude varie beaucoup selon les souches (figure 9). Elle passe de 13820 microconidies /mm² de milieu pour F047 à 1290 pour F3. Les souches de *F.oxysporum* sont parmi les plus performantes puisqu'elles produisent toutes plus de 2500 microconidies/mm², alors que pour l'espèce *F.solani*, seules les souches W et 28 dépassent cette valeur.

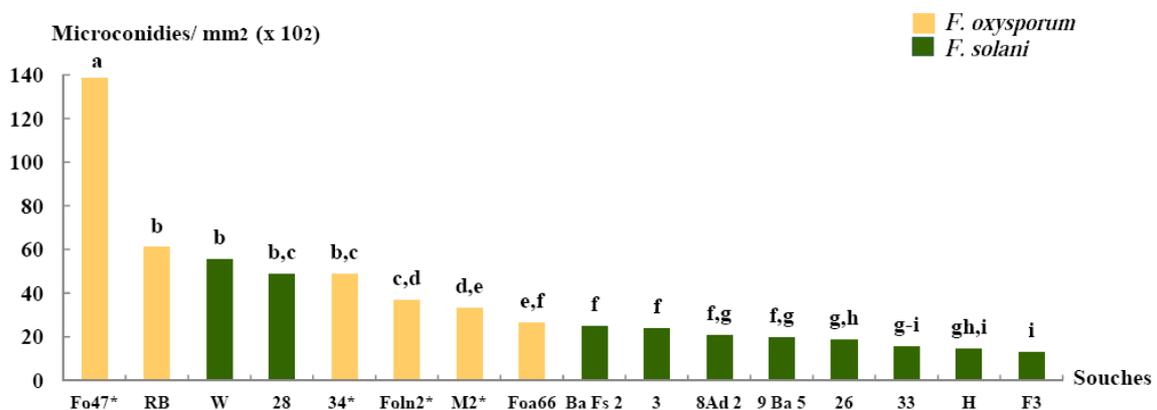


Figure 9 : Production de microconidies

2.3. Production de macroconidies

D'une façon générale, les macroconidies sont produites en moindre quantité que les microconidies (Figure 10). Peu de souches en produisent plus de 1000/mm² (9Ba5, BaFs2 et H). Les souches 34,3 et 33 n'en donnent que 60/ mm² de milieu, tandis que les souches RB, Fo47, 8Ad2 et 26 n'en produisent pas du tout.

L'espèce *F.oxysporum* est caractérisée par une production très faible ou nulle de macroconidies.

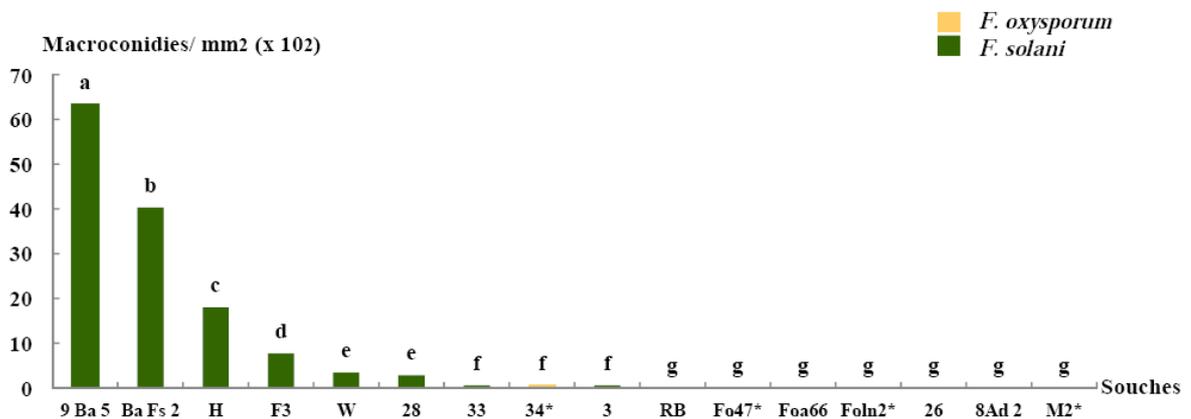


Figure 10 : Production de macroconidies

2.4. Production de chlamydospores sur extrait de terre

Comme pour les autres types de spores, la quantité de chlamydospores formées sur extrait de terre gélosé par les différentes souches, varie énormément (Figure 11). La souche pathogène Fohn2 en produit plus de 1000 /mm² de milieu. 33, Fo47 et 34 sont également performantes. Par contre 8Ad2, 26 et 3 en donnent moins de 50/mm². Les souches de *F.oxysporum* ne forment pas un groupe distinct pour ce test.

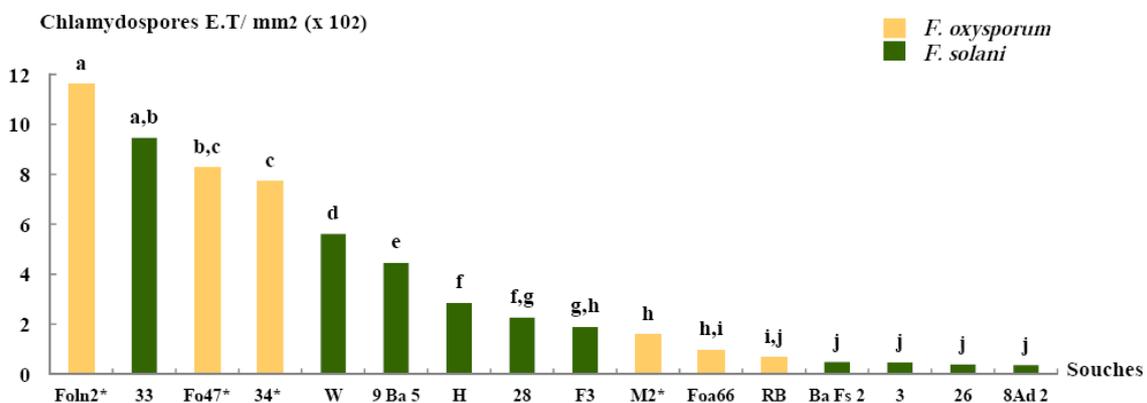


Figure 11 : Production de chlamydospores sur extrait de terre

2.5. Production précoce de chlamydo-spores au contact du sol

La quantité de chlamydo-spores produites en 24 heures au contact du sol, est d'une façon générale, nettement inférieure à celle formée progressivement sur extrait de terre (Figure 12). Ce sont les souches 9Ba5, BaFs2 et W (*F.solani*) qui montrent les meilleures performances (un peu plus de 100 chlamydo-spores /mm²). 33, 34, F3, Fo66 et M2 en produisent moins de 10/mm². Parmi les souches de *F. oxysporum*, certaines sont moyennes, d'autres faibles pour ce test

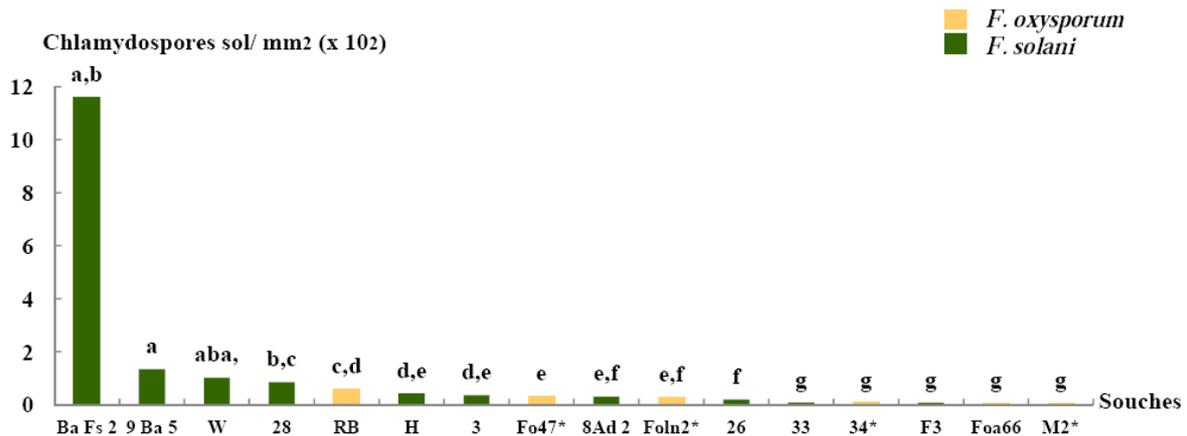


Figure 12 : Production de chlamydo-spores au contact du sol

2.6. Mesure du pouvoir germinatif des conidies

Après 8h d'incubation à 28°C, le taux de germination des spores des différentes souches se situe entre 35,3% (Fohn2) et 90,7% (9Ba5) comme le montre la figure 13.

Les souches du *F.oxysporum* révèlent une aptitude à la germination plus lente en général que celles du *F. solani*.

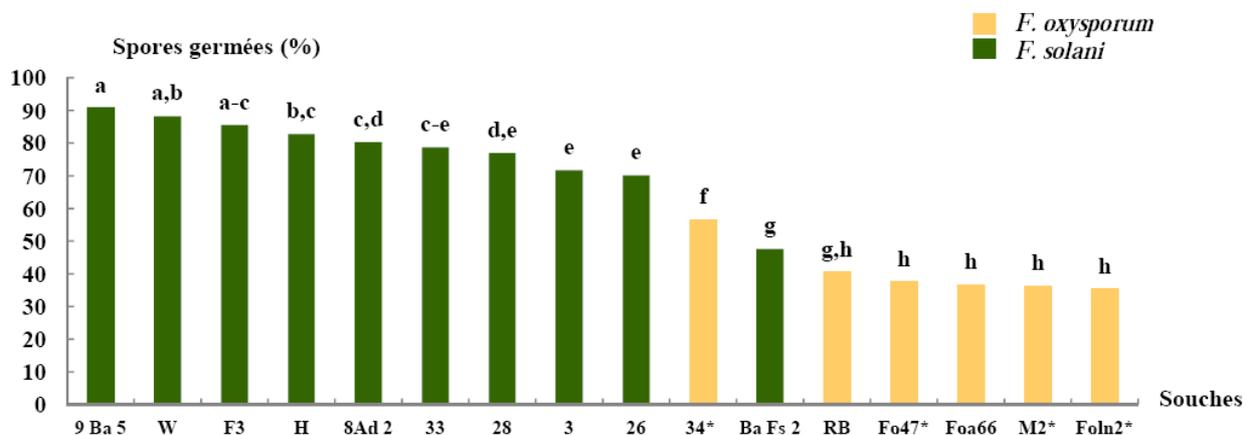


Figure 13 : Mesure du pouvoir germinatif des conidies

2.7. Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis*

Toutes les souches testées se révèlent capables d'influencer négativement la germination des spores du *F.o.albedinis* sur extrait de terre gélosé (figure 14). Il faut souligner que le pH du milieu ne varie que de 0,2 à 0,3 en présence des antagonistes au cours de l'incubation, l'extrait de terre étant naturellement tamponné.

Les souches les plus performantes 9Ba5 et 33, induisent une diminution du taux de germination de 76,2% et 56,3%, respectivement, tandis que les souches les plus faibles n'entraînent que 20% d'inhibition BaFs2 et Fo47.

Les souches de *F.oxysporum* ne forment pas un groupe distinct pour ce test.

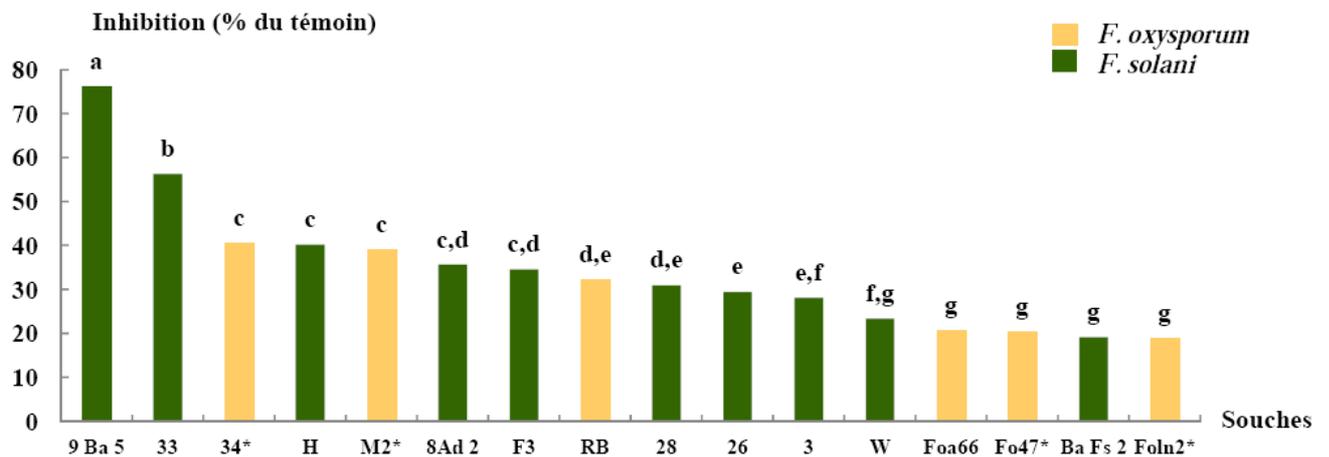


Figure 14 : Mesure de l'effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis*

2.8. Mesure de l'activité respiratoire

Après 05 jours d'incubation en sol préalablement désinfecté, les souches inoculées produisent entre 29,5 (souche 03) et 242,5 () nmoles de CO₂ par gramme de sol et par heure (Figure 15)

L'activité des trois souches de *F.oxysporum* se révèle faible (34) à moyenne (RB et Fo47).

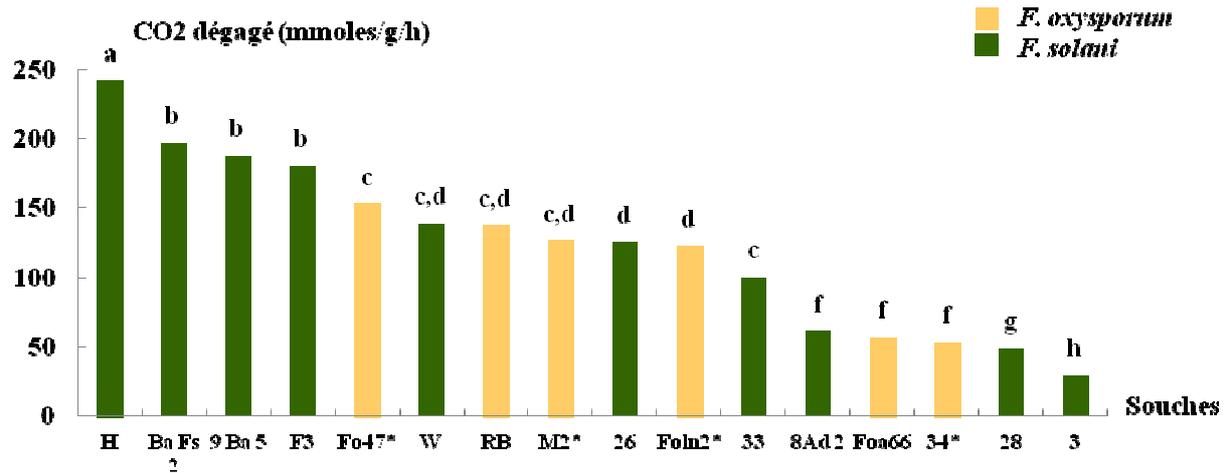


Figure 15 : Mesure de l'activité respiratoire

2.9. Mesure de développement saprophytique en sol désinfecté

La figure 16 indique que les niveaux atteints par les populations des différents *Fusarium* sont divers, ce sont les souches de *F.oxysporum* qui montrent les densités les plus élevées après 22 jours d'incubation (plus de 2×10^5 cfu/g de sol). La souche la moins performante 8Ad2 ne donne que 10^4 cfu/g de sol.

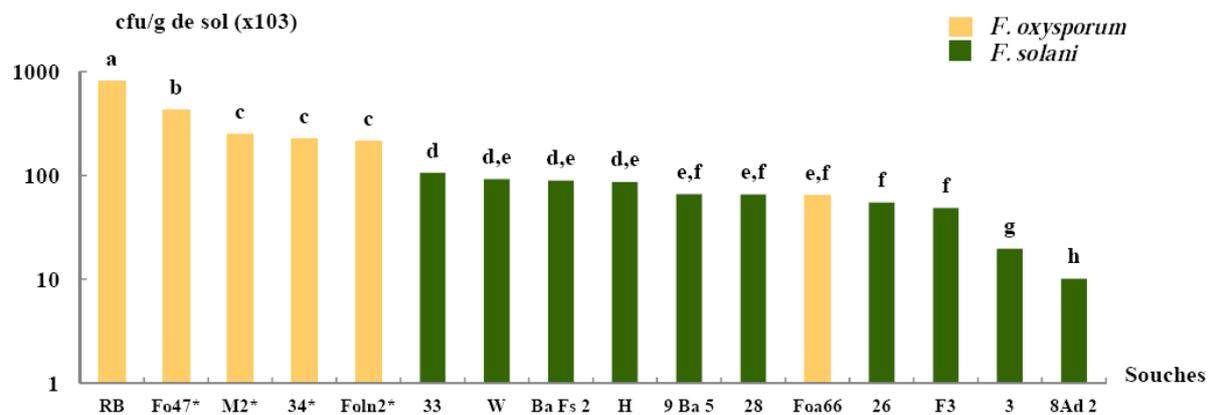


Figure 16 : Mesure de développement saprophytique en sol désinfecté

2.10. Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel

04 mois après leur introduction dans un sol non désinfecté, sablonneux et pauvre en matière organique, les *Fusarium* affichent une baisse de densité plus ou moins grande par rapport au niveau initial (figure 17). La population des souches les plus performantes (BaFs₂, W et 9Ba5) diminue moins de deux fois, alors que seuls 5% environ des propagules persistent encore après 4 mois pour les souches 8Ad₂ et 3. Les trois souches de *F.oxysporum* se révèlent relativement peu performante pour ce test.

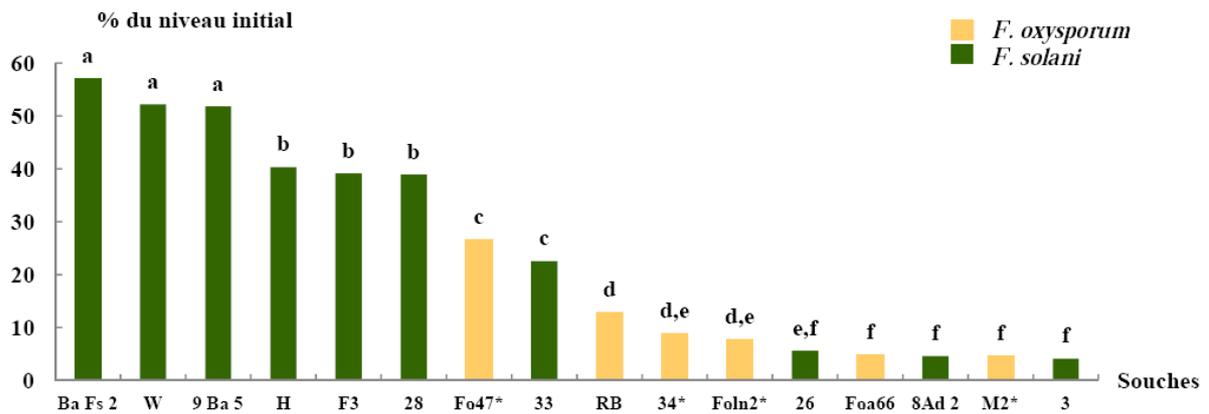


Figure 17 : Mesure de l'aptitude à persister dans un sol naturel

II. Analyse des corrélations entre quelques caractéristiques écologiques de différentes souches de *Fusarium* avec référence particulière à leur persistance dans le sol

Le tableau 3 donne les corrélations totales entre les différentes aptitudes testées. Les liaisons significatives obtenues sont les suivantes :

Tableau 3 : Matrice des corrélations locales entre les différentes aptitudes testées des souches de *Fusarium*

	CROIS	MICRO	MACRO	CHLA1	CHLA2	SPTOT	SPRES	GERMI	INHIB	ARESP	DSAPR	PERSI
(A) Avec <i>F.solani</i> + <i>F. oxysporum</i> (16 souches)												
CROIS	1.000											
MICRO	0.300	1.000										
MACRO	0.400	-0.258	1.000									
CHLA1	0.001	0.357	-0.103	1.000								
CHLA2	0.403	0.050	<u>0.736</u>	-0.113	1.000							
SPTOT	<u>0.509</u>	0.842	0.293	0.393	0.435	1.000						
SPRES	0.400	-0.186	0.979	0.103	0.713	0.373	1.000					
GERMI	-0.076	-0.438	0.303	-0.119	0.310	-0.263	0.279	1.000				
INHIB	-0.020	-0.359	<u>0.530</u>	0.106	0.172	-0.037	<u>0.552</u>	<u>0.522</u>	1.000			
ARESP	<u>0.517</u>	-0.025	<u>0.572</u>	0.030	0.359	0.288	<u>0.578</u>	0.128	0.175	1.000		
DSAPR	0.213	<u>0.587</u>	-0.219	0.123	-0.050	0.447	-0.196	<u>-0.571</u>	-0.130	0.122	1.000	
PERSI	<u>0.515</u>	0.013	<u>0.681</u>	0.034	<u>0.767</u>	0.386	<u>0.689</u>	0.469	0.195	<u>0.639</u>	-0.198	1.000
(A) Avec <i>F.solani</i> uniquement (10 souches)												
CROIS	1.000											
MICRO	0.176	1.000										
MACRO	0.530	-0.190	1.000									
CHLA1	-0.131	0.102	0.023	1.000								
CHLA2	0.547	0.522	<u>0.726</u>	0.017	1.000							
SPTOT	0.572	0.451	0.784	0.188	0.972	1.000						
SPRES	0.505	-0.174	0.991	0.158	0.720	0.800	1.000					
GERMI	0.188	0.074	-0.057	0.450	-0.091	0.048	0.004	1.000				
INHIB	0.071	0.402	0.541	0.538	0.105	0.274	0.581	0.548	1.000			
ARESP	0.615	-0.329	0.606	0.097	0.267	0.356	0.611	0.042	0.194	1.000		
DSAPR	0.205	0.189	0.215	<u>0.689</u>	0.307	0.413	0.342	0.052	0.14	0.529	1.000	
PERSI	<u>0.726</u>	0.328	<u>0.640</u>	0.279	<u>0.729</u>	<u>0.806</u>	<u>0.670</u>	0.048	0.101	<u>0.663</u>	<u>0.659</u>	1.000

CROIS : Croissance mycélienne ; MICRO : Production de microconidies ; MACRO : Production de macroconidies ; CHLA1 : Production de CHLAMYDOSPORES 24 h après mise en contact avec un sol non désinfecté ; CHLA2 : Production de chlamydospores sur extrait de terre ; SPOT : Production totale de spores ; SPRES : Production de spores considérées comme résistantes ; GERMI : Taux de germination des spores ; INHIB : Effet inhibiteur sur extrait de terre vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis* ; ARESP : Activité respiratoire en sol désinfecté ; DSAPR : Développement saprophytique en sol désinfecté ; PERSI : Aptitude à persister dans le sol non désinfecté
 Seuils de signification pour un risque de 5 % : (A) 0.497 ; (B) 0.631
 Seuils de signification pour un risque de 1 % : (A) 0.622 ; (B) 0.764
 Les corrélations significatives ayant un intérêt sont soulignées

L'aptitude à persister dans le sol est corrélée positivement avec la croissance mycélienne, la production de macroconidies, la production précoce de chlamydo-spores au contact du sol, la production de spores résistantes (Chlamydo-spores + macroconidies), l'activité respiratoire et la production totale de spores (Cette dernière corrélation étant obtenue pour l'espèce *F.solani* uniquement).

Le développement saprophytique en sol désinfecté est corrélé positivement avec la production de microconidies, la production de Chlamydo-spores sur extrait de terre (notée pour *F.solani* uniquement) et négativement avec le taux de germination des spores.

Il en ressort une corrélation positive entre l'activité respiratoire d'une part et la croissance mycélienne, la production de macroconidies et la production de spores résistantes d'autre part.

L'effet vis-à-vis de *F.o.albedinis* a un lien direct avec la production de macroconidies, la production de spores résistantes et le taux de germination de spores.

On note également une corrélation positive entre production totale de spores et la croissance mycélienne et entre la production précoce de chlamydo-spores au contact du sol et la quantité de macroconidies formées.

On constate que les aptitudes les plus complexes et les plus globales, comme la persistance dans le sol, sont corrélées à un plus grand nombre de caractères que les aptitudes simples.

Nous avons réuni dans le tableau 4 des combinaisons de caractères donnant des corrélations multiples élevées avec le développement saprophytique des souches en sol désinfecté. L'association « production de chlamydo-spores sur extrait de terre - Activité respiratoire - Taux de germination des spores - Production de microconidies » donne une corrélation multiple de 0,974 ramenant le risque P de 2,69% (Valeur obtenue pour le caractère production de chlamydo-spores seul) à 0,28%. La production de chlamydo-spores sur extrait de terre, le taux de germination des spores et la croissance mycélienne réunis donnent une corrélation multiple de 0,906 ($P = 1,26\%$ au lieu de 2,69% au palier 1).

Le développement des souches en sol désinfecté apparaît donc lié à différents caractères écologiques.

Tableau 4 : Corrélations multiples et partielles* entre le développement saprophytiques des souches *F.solani* et leur caractères écologiques

	r Multiples avec le		r²	P Partiel
	développement saprophytique		Partiels	(%)
(A)				
(1) Chlamydo E.T	palier 1 :	0.689	0.910	0.12
(2) Activ.res.	pal.2 (1+2):	0.831	0.853	0.35
(3) Germin.spores	pal.3 (1+2+3):	0.924	0.773	0.97
(4) Microconidies	pal.4(1+...4):	0.974	0.656	2.73
p (palier 1) = 2.69% ; p (palier 4)= 0.28%				
(B)				
(1) Chlamydo E.T	palier 1 :	0.689	0.811	0.26
(2) Germin.spores	pal.2 (1+2):	0.799	0.590	2.58
(3) Croiss. myc.	pal.3 (1+2+3):	0.906	0.504	4.75
p (palier 1) = 2.69% ; p (palier 3)= 1.26%				

Chlamydo E.T : Chlamydospores produites sur extrait de terre ; **Activ resp :** Activité respiratoire en sol désinfecté ; **Germin.spores :** Taux de germination des spores ; **Microconidies :** Production de microconidies ; **Croiss.myc :** Croissance mycélienne

*Sont rapportés ici les paramètres susceptibles de traduire le caractère complexe du développement saprophytique comme résultante de différents caractères écologiques : Coefficient de corrélation multiple (r multiple) indiquant la liaison générale entre la résultante des aptitudes et le développement saprophytique, r^2 partiel indiquant le degré de participation de chacune des aptitudes à cette résultante et le risque P partiel (%) correspondant. P (palier n) donne le risque que la corrélation multiple obtenue soit due au hasard ; la différence avec (palier 1) rend compte de l'amélioration apportée par la corrélation multiple par rapport à la corrélation simple.

Le groupe des *F.oxysporum* étant trop distinct de celui des *F.solani* en ce qui concerne le développement saprophytique, nous n'avons pas trouvé de corrélations multiples nettes en considérant l'ensemble des 16 souches.

Le tableau 5 rapporte les corrélations multiples et partielles entre l'aptitude des souches à persister dans le sol et les autres aptitudes. Il révèle que les corrélations obtenues sont améliorées lorsqu'on associe deux ou trois caractères. Ainsi l'activité respiratoire combinée avec la production de chlamydospores au contact du sol permet d'obtenir une corrélation multiple de 0,861 hautement significative ($P = 0,02\%$).

L'association « Spores résistantes - Taux de germination des conidies - Effet inhibiteur vis-à-vis de *F.o.albedinis* améliore la corrélation par rapport au palier 1, ramenant P de 0,32% à 0,14%. Enfin, croissance mycélienne et taux de germination de spores ensemble sont fortement corrélés avec l'aptitude à persister dans le sol ($P = 0,79\%$). En considérant ; l'espèce *F.solani* uniquement, différentes associations de deux caractères permettent une amélioration des corrélations simples initiales : « Spores totales - Activité respiratoire » ; « Croissance mycélienne - Développement saprophytique en sol désinfecté » ; « Production de chlamydospores au contact du sol - Activité respiratoire » et « Production de chlamydospores au contact du sol - Développement en sol désinfecté ». Ce tableau révèle donc le caractère complexe de l'aptitude des souches à persister dans le sol qui semble dépendre de différents caractères écologiques dont la croissance mycélienne, la sporulation, le pouvoir germinatif des spores et l'activité respiratoire.

Tableau 5 : Corrélations multiples et partielles* entre l'aptitude des souches de *Fusarium* à persister dans le sol et leurs caractères écologiques

Avec <i>F. solani</i> + <i>F. oxysporum</i> (16 souches)				Avec <i>F. solani</i> uniquement (10 souches)					
r Multiples avec		r ²	P Partiel	r Multiples avec		r ²	P Partiel		
l'aptitude à persister dans le sol		Partiels	(%)	l'aptitude à persister dans le sol		Partiels	(%)		
(A)				(A)					
(1) Chlamydo. sol	palier 1 :	0.767	0.562	0.14	(1) Spores tot.	palier 1 :	0.806	0.663	0.76
(2) Activ. resp.	pal.2 (1+2):	0.861	0.369	1.58	(2) Activ. resp.	pal.2 (1+2):	0.901	0.461	4.32
p (palier 1)** = 0.06% ; p (palier 2) = 0.02%				p (palier 1) = 0.49% ; p (palier 2) = 0.33%					
(B)				(B)					
(1) Spores resist.	palier 1 :	0.688	0.634	0.07	(1) Croiss. myc.	palier 1 :	0.726	0.646	0.91
(2) Germin. Spores	pal.2 (1+2):	0.746	0.405	1.40	(2) Dévelop. sapr.	pal.2 (1+2):	0.894	0.576	1.75
(3) Effet inhib.	pal.3 (1+2+3):	0.846	0.359	2.27	p (palier 1) = 0.70% ; p (palier 2) = 0.40%				
p (palier 1) = 0.32% ; p (palier 3) = 0.14%									
(C)				(C)					
(1) Croiss. myc.	palier 1 :	0.515	0.392	1.22	(1) Chlamydo. sol.	palier 1 :	0.729	0.585	1.62
(2) Germin. Spores	pal.2 (1+2):	0.725	0.354	1.85	(2) Activ. resp.	pal.2 (1+2):	0.876	0.503	3.16
p (palier 1) = 3.93% ; p (palier 2) = 0.79%				p (palier 1) = 1.64% ; p (palier 2) = 0.65%					
				(D)					
				(1) Chlamydo. sol.	palier 1 :	0.729	0.514	2.34	
				(2) Dévelop. sapr.	pal.2 (1+2):	0.861	0.449	4.78	
				p (palier 1) = 1.64% ; p (palier 2) = 0.93%					

Chlamydo.sol : Chlamydo-spores produites 24h après mise en contact avec un sol non désinfecté ; **Activ. resp.** : activité respiratoire en sol désinfecté ; **Spores résist.** : Production de spores considérée comme résistante (macroconidies + chlamydo-spores) ; **Germin. spores** : Taux de germination de spores ; **Effet inhib.** : Effet inhibiteur vis-à-vis de *F.o.albedenis* ; **Croiss. myc.** : croissance mycélienne ; **Spores tot.** : Production totale de spores ; **Dévelop. sapr.** : Développement saprophytique en sol désinfecté.

*Sont rapportés ici les paramètres statistiques susceptibles de traduire le caractère complexe de l'aptitude à persister dans le sol comme résultante de différents caractères écologiques : Coefficient de corrélation multiple (*r* multiple) indiquant la liaison générale entre la résultante des aptitudes et la persistance dans le sol, *r*² partiel indiquant le degré de participation de chacune des aptitudes à cette résultante et le risque *P* partiel (%) correspondant. *P* (palier *n*) donne le risque que la corrélation multiple obtenue soit due au hasard ; la différence avec (palier 1) rend compte de l'amélioration apportée par la corrélation multiple par rapport à la corrélation simple.

Discussion

L'objet de la présente étude étant l'analyse des corrélations, entre les caractères écologiques testés, nous ne reviendrons pas sur les résultats concernant chaque test pris séparément.

Les cinq caractères écologiques de base que nous avons tenté d'apprécier (croissance mycélienne, sporulation, taux de germination des spores, effet inhibiteur vis-à-vis de *F.o.albedinis* et activité globale) ne sont pas indépendants les uns des autres. Ainsi, l'activité respiratoire produit l'énergie qui permet la croissance mycélienne et la sporulation d'où les corrélations observées entre ces facteurs. Cependant si la biomasse formée est étroitement liée à l'activité globale, la croissance mycélienne, elle ne prend pas en compte le facteur densité du mycélium (Griffin, 1972) et des spores, ce qui explique que la valeur de la corrélation croissance – activité ne soit pas très élevée.

La corrélation hautement significative entre la production précoce de chlamydospores au contact du sol et la production de macroconidies est plus difficile à cerner. Il est possible que la plus grande activité des souches fortes productrices de macroconidies leur permette de réagir efficacement au stress induit par le contact du sol non désinfecté par une formation rapide de chlamydospores. L'absence de corrélation apparente entre la production de macroconidies et la production de chlamydospores sur extrait de terre indiquerait que les deux tests ne correspondraient pas exactement au même processus, l'un exprimant la capacité de réagir rapidement à un stress d'origine microbienne, l'autre exprimant l'aptitude à former progressivement des structures de résistance dans un milieu appauvri, mais exempt de composés et de germes agressifs. Le calcul des corrélations met en évidence un rapport entre la sécrétion de composés inhibiteurs par les *Fusarium* d'une part (effet inhibiteur vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis*), et par la production de spores résistantes et le pouvoir germinatif d'autre part. Les souches qui produisent plus de macroconidies, notamment, seraient plus agressives. Etant donné l'absence de travaux sur les relations physiologiques entre ces différents phénomènes, il est difficile de commenter ces liaisons. Si les corrélations mises en évidence ne permettent pas toujours d'aller plus loin que le simple constat, elles ont tout au moins l'avantage de mettre l'accent sur l'intérêt d'un approfondissement de ces aspects sur le plan physiologique.

Le développement saprophytique des souches en sol désinfecté est lié d'abord à la production de microconidies. Cette liaison est particulièrement nette au cours des premiers jours, avant que le sol ne soit recolonisé par d'autres germes (Amir et Mahdi, 1992b).

Couteaudier et Steinberg (1990) et Couteaudier et Alabouvette (1990b) ont révélé également l'importance de la production de conidies chez les *Fusarium* en sol désinfecté. La corrélation négative entre l'aptitude à coloniser le sol et le taux de germination des conidies peut paraître surprenante. Elle serait due essentiellement au fait que les souches qui donnent de petites spores à pouvoir germinatif faible auraient tendance à en produire plus d'où une densité plus grande dans le sol (Rangajaran et *al.*, 2003).

Le développement des souches en sol désinfecté est également lié à d'autres caractères. Ainsi, des corrélations partielles élevées entre cette aptitude d'une part et la production de chlamydospores sur extrait de terre, l'activité respiratoire et la croissance mycélienne d'autre part, sont mises en évidence. Ce serait donc l'ensemble de ces caractères qui, intervenant de façon complémentaire, conditionnent cette capacité. Il importe de signaler que probablement, la prépondérance du facteur sporulation dans ce cas, notamment chez les *F.oxysporum*, est accentuée par la technique de suspensions dilutions qui reflète plus le nombre de propagules dissociées que la biomasse précise du champignon.

Nagao et *al.* (1990) ; Flaver et Larkin (2002) ont signalé que les différences d'aptitude à coloniser le sol désinfecté entre *F.oxysporum* et *F.solani*, obtenues par cette technique, ne seraient pas dues à la supériorité de la première espèce quant à la production de biomasse, mais à sa plus grande capacité à produire des microconidies. D'après Couteaudier et Steinberg (1990), le développement des *Fusarium* dans le sol désinfecté est caractérisé par une phase de germination, puis une phase de croissance et de production intense de conidies puis enfin la production de chlamydospores avec l'arrêt du développement. Les différentes corrélations obtenues rejoignent donc les observations de ces chercheurs.

En sol non traité à la chaleur, la densité des souches étudiées diminue au cours de l'incubation. En effet, les sols sableux pauvres en matière organique ont une faible capacité d'accueil aux *Fusarium* (Amir et Amir, 1989). La présence de substances mycotoxiques et le stress dû à la compétition nutritive conduit à la lyse des spores (Stover, 1959 ; Lockwood et Filonow, 1981 ; Oritsejafor, 1986). Contrairement à ce qui se passe en sol désinfecté, les souches de *F.solani* sont généralement plus aptes à persister en sol naturel que celles de *F.oxysporum*, ce qui suggère que les comportements des souches dans ces deux milieux n'ont pas la même signification, une souche capable d'atteindre des densités élevées dans le premier n'étant pas nécessairement capable de stabiliser sa population après inoculation dans le deuxième. Cette apparente contradiction pourrait être également liée à la taille des spores.

Les petites conidies produites parfois en grande quantité notamment chez *F.oxysporum* peuvent se maintenir et se développer en milieu désinfecté mais ne parviendraient pas à survivre en présence d'une microflore antagoniste.

En effet, plusieurs études (Griffin, 1972 ; Lockwood, 1990) ont montré que l'énergie emmagasinée par les spores en absence de flux nutritif s'épuise progressivement notamment par exsudation ; les petites spores, renfermant peu de réserves, seraient ainsi plus fragiles et sujettes à l'autolyse. Trois souches de *F.solani* apparaissent cependant inaptes à se maintenir à un niveau élevé dans le sol (26, 8Ad2 et 3), mais elles correspondent précisément à celles qui ne produisent pas de macroconidies et forment peu de chlamydospores. Le rôle de ces deux derniers caractères est révélé par des corrélations totales très significatives avec l'aptitude des souches à persister dans le sol, ce qui n'est pas le cas pour la colonisation du sol désinfecté.

La croissance mycélienne et l'activité respiratoire donnent également des corrélations significatives avec cette capacité. On sait, actuellement, que le développement des champignons dans le sol est caractérisé par une alternance entre des phases de développement très courtes faisant suite à un flux d'énergie et des phases de résistance (Wainwright, 1988). L'importance de la biomasse d'une espèce fongique dans le sol est ainsi conditionnée par la complémentarité de la croissance mycélienne et de la production de spores résistantes. C'est ce que semblent mettre en évidence les corrélations obtenues. Toutefois, ces deux aptitudes ne suffiraient pas à expliquer totalement la capacité de persister dans le sol. Les corrélations partielles et multiples révèlent des liaisons avec le taux de germination des conidies et l'effet inhibiteur vis-à-vis de *F.o.albedinis*, caractère qui serait indicateur d'un pouvoir agressif par sécrétion de composés. Ce dernier caractère, peu important en sol désinfecté, jouerait donc un rôle en sol naturel. Les recherches sur l'importance écologique de l'antibiose et de la compétition ont, selon les auteurs et les conditions d'étude, donné plus d'importance à l'une ou à l'autre de ces aptitudes (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Williams et Vickers, 1986 ; Basin et al., 1990 ; El Hadrami et al., 2005). Notre conception, rejoignant celle de Bruehl et al. (1969) et de Griffin (1972), consiste à considérer l'antibiose comme un moyen de s'approprier les substrats riches en éléments nutritifs et donc comme une composante du pouvoir compétitif global. Une étude de Thomashow et Weller (1988) qui montre qu'une souche mutante de *Pseudomonas* non sécrétrice de phénazine, est moins apte à coloniser la rhizosphère que la souche sécrétrice semble confirmer cette perception.

L'aptitude des souches *Fusarium* à se maintenir dans le sol qui est un aspect du pouvoir compétitif serait une propriété complexe conditionnée par différents caractères écologiques dont : La croissance mycélienne, la production de macroconidies et de chlamydozoospores, le pouvoir germinatif des spores, l'activité respiratoire et l'action inhibitrice à distance.

Mitchell (1979), considère que l'aptitude d'un champignon à se maintenir dans le sol dépend de sa rapidité de germination et de croissance lors des flux nutritifs, de l'aptitude à produire des enzymes appropriées pour la décomposition des sources de carbone les plus résistantes, de la sécrétion de composés inhibant les germes concurrents et de sa tolérance aux substances fongostatiques sécrétées par d'autres microorganismes. Nos résultats rejoignent également les conceptions de Garrett (1970) et Griffin (1972) concernant la C.S.A (Competitive Saprophytic Ability).

Conclusion

Les études basées sur les corrélations ont l'avantage d'être synthétiques mais elles ont l'inconvénient de ne pas être approfondies. Ce travail nous semble constituer une assise pour des recherches plus précises sur l'écophysiologie des souches de *Fusarium* après leur introduction dans le sol en vue d'une lutte biologique et plus précisément sur la physiologie de la compétitivité, domaine qui reste encore à explorer. Il n'est pas certain que les différentes relations entre caractères écologiques mises en évidence ici soient des faits généraux ; l'utilisation de lots plus importants de souches et d'autres sols est nécessaire pour vérifier nos résultats. Par ailleurs, il est probablement possible de démontrer le rôle de certaines caractéristiques écologiques dans l'aptitude des souches à persister dans le sol, en utilisant des mutants déficients pour ces caractères comme l'on fait d'autres auteurs pour des bactéries (Howie et al., 1987 ; Defago et al., 1990 ; Ownley et al., 2003 ; Saravanan et al., 2004) ; toutefois une telle approche n'est probablement pas réalisable actuellement pour des caractères complexes dépendant de nombreux gènes.

CHAPITRE IV

ESSAIS SUR LE PALMIER DATTIER

L'agent pathogène mène une vie active et saprophytique dans le sol, avant d'attaquer la plante-hôte.

Selon les conditions génétiques, climatiques et culturales, la plante hôte peut être réceptive à la maladie ou non, mais comme toutes les autres plantes, le Palmier Dattier possède des mécanismes de résistance contre les facteurs biotiques et abiotiques, aussi il met en œuvre des systèmes de défense en réaction aux agressions déclenchées par l'agent pathogène du Bayoud *F.o.albedinis*.

Ces réactions rentrent dans les voies métaboliques primaires (lipides) et secondaires (phénylpropanoïdes) (Gaceb-Terrak, 2010), elles permettent la mise en place de barrières physiques et/ou chimiques en vue de stopper ou de ralentir la prolifération du pathogène (Benhamou et al., 2002). De ce fait la gravité de la maladie d'origine tellurique occasionnée par un agent pathogène est fonction d'interactions qui s'exercent au niveau des plantes et dans le sol (El Hassni, 2007) ; En effet, la rhizosphère est un site très convoité par les microorganismes et dans lequel s'expriment généralement de nombreux antagonistes (Amir, 1991).

Selon Horuby (1990), elle constitue une formidable barrière contre les agents pathogènes. L'équilibre microbiologique y est différent de celui du sol, non prospecté par les racines.

Les *Fusarium*, notamment l'espèce *F.oxysporum*, sont connus comme étant de bons colonisateurs de la rhizosphère des plantes cultivées (Nagao et al., 1990). Les propagules dormantes du parasite ayant échappé au stress nutritif dans le sol peuvent donc germer et se développer grâce aux exsudats racinaires (Benhamou, 2001), pour atteindre des sites d'infection.

Les *Fusarium* antagonistes sont-ils capables de limiter le taux de colonisation des racines par le pathogène ? Alabouvette (1983) considère que le rapport :

Densité de la population pathogène

Densité de la population fusarienne totale

Conditionne la réceptivité des sols à la fusariose vasculaire.

S'il en est ainsi, le taux d'infection des plantes serait d'autant plus réduit par le *Fusarium* antagoniste que sa densité est élevée.

Plusieurs auteurs accordent à l'aptitude des souches à coloniser la rhizosphère, un rôle dans leur efficacité (Mandel et Baker, 1991 ; Garibaldi et *al.*, 1990 ; Amir et Mahdi, 1992b ; Landa et *al.*, 2004 ; Jaiti et *al.*, 2008).

Des souches qui limitent le développement de la maladie lorsqu'elles sont inoculées dans le sol, le sont-elles aussi lorsqu'elles sont apportées directement sur les racines ?

Les réponses à ces questions devraient contribuer à une meilleure connaissance du mode d'action des *Fusarium* non pathogènes.

Ces essais s'appuient sur la culture de la plante (variété la plus sensible : Deglet - Nour) dans un sol préalablement inoculé avec l'antagoniste à tester et infecté ensuite avec une souche pathogène FoT1 (souche connue comme très virulente). Une notation de plantes malades étant effectuée périodiquement.

1. La graine

La datte est un fruit simple, il s'agit d'une baie monosperme, constituée d'un mésocarpe charnu protégé par un fin épicarpe (Figure 18a), renfermant la graine (Figure 18b). La graine recouverte par l'endocarpe fin du péricarpe est aussi appelée noyau. Elle est formée de deux parties distinctes, l'albumen et les téguments (Gaceb-Terrak, 2010).

L'albumen corné, de consistance dure (mannane) et l'embryon dorsal forment la partie vivante de la graine. Les téguments forment l'enveloppe externe, inerte, qui protège l'albumen ; leur origine est maternelle (palmier femelle), qui dérivent, après fécondation, des deux téguments protégeant l'ovule (Figure 18c) (Munier, 1973 in Gaceb-Terrak, 2010).

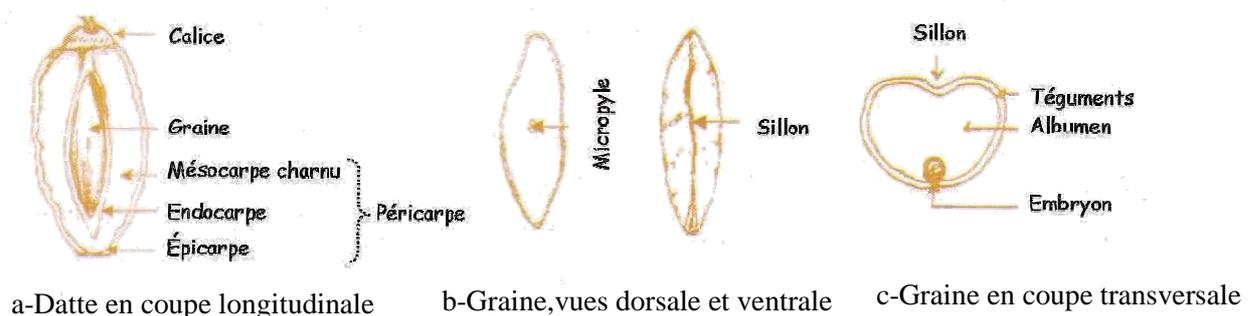


Figure 18 : Fruit et graine du Palmier Dattier

2. Mise en germination

Les graines de Palmier (Issues des régimes d'un même palmier : Deglet Nour d'El Goléa dattes un peu sèches) sont préalablement grattées pour éliminer les fibres sucrées qui persistent à leur surface. Elles sont ensuite trempées dans de l'eau de Javel à 12° chlorométrique pendant 20 minutes puis rincées à l'eau stérile. Elles subissent alors un trempage de 20 minutes dans l'alcool à 95°. Après plusieurs rinçages à l'eau stérile, les graines sont déposées dans des boîtes de Pétri tapissées avec du coton hydrophile imbibé d'eau stérile. Ces dernières sont placées dans une étuve à 38°. Cette température, favorable à la germination des graines de Palmier, évite un développement rapide de champignons qui risqueraient de tuer les jeunes plantules. Lorsque la racine atteint environ 5 cm, les graines germées sont transférées dans des bassines (50 cm de diamètre) à raison de 30 graines / bassine, contenant de la vermiculite et placées en serre. Elles sont arrosées régulièrement avec de l'eau et une fois par semaine avec une solution minérale contenant les éléments nécessaires à la croissance des plantes.

Les plantules sont transférées dans le sol infesté lorsqu'elles atteignent le stade « 2 feuilles » soit environ 3 mois après le semis, cette mise en terre tardive est justifiée par le fait que les très jeunes plantules de palmier sont résistantes au Bayoud (Kada et Dubost, 1975 ; N'Lendi, 1975) et puis que le niveau de l'inoculum pathogène diminue dans ce type de sol au cours de l'expérience (Amir et Amir, 1988). Il est donc préférable de mettre en contact le parasite avec la plante qu'au moment où celle-ci est réceptive.

La terre est préalablement inoculée avec les souches antagonistes à tester puis avec la souche pathogène.

Les doses sont supérieures à celles utilisées pour les plantes annuelles ; car l'expérience dure plus longtemps et la densité de l'inoculum pathogène diminue sensiblement avant même que la maladie ne commence à s'exprimer : $2 \cdot 10^7$ cfu/g de talc pour la souche pathogène, $5 \cdot 10^6$ cfu/g de talc pour la souche antagoniste 9 Ba 5 et $7 \cdot 10^6$ cfu/g de talc pour la souche antagoniste 34.

Les plantules sont ensuite repiquées délicatement dans des bassines. Le dénombrement des plantes infectées est effectué tous les mois jusqu'au 9^{ème} mois après semis. Les symptômes typiques correspondent à un jaunissement unilatéral des feuilles avec brunissement des vaisseaux.

3. Réisolement du parasite

A chaque fois que le taux de mortalité est enregistré, toutes les plantules sont soigneusement arrachées du sol. Leur système racinaire et le collet sont lavés d'abord à l'eau courante, puis à l'eau distillée stérile (03 lavages). Ils sont, ensuite désinfectés par trempage de 20 secondes dans l'hypochlorite de Sodium à 12%, trois rondelles effectuées au niveau du collet de chaque plante morte ont été placées sur milieu sélectif à base de peptone – extrait de levure.

La détermination des colonies développées à partir des rondelles sur le milieu est réalisée après 7-10 jours d'incubation à 28°C.

4. Préparation de l'inoculum

Les souches sont intégrées au sol sous forme d'inoculum stabilisé dans le talc selon la technique décrite au chapitre III.

Le talc ainsi préparé contient à la fois des chlamydozoaires, des fragments mycéliens, des microconidies et des macroconidies

Avant d'infester le sol, un comptage du talc est effectué, ce qui permet de déterminer la quantité précise à apporter au sol.

5. Mise en culture

Les plantules au stade 2 feuilles sont extraites de la vermiculite en bloc (Tout le système racinaire des 30 plantules est enchevêtré, Nous avons jugé nécessaire de les laisser dans cet état pour ne pas endommager le système racinaire de chaque plantule). Après avoir été débarrassées de la vermiculite puis trempées dans de l'eau courante pour lavage, elles sont mises en bloc également dans de nouvelles bassines. Le sol de Béni Abbes (séché et tamisé) est préparé ; chaque quantité destinée à une bassine a été préparée séparément (10 Kg de sol + 10% d'argile « il s'agit de la couche superficielle du lit de l'oued Saoura » pilée et tamisée) plus la quantité nécessaire de talc. Selon Amir (1991), la texture du sol conditionne l'effet inhibiteur qu'exerce une souche de *F.solani* sur l'inoculum pathogène, l'argile semble constituer une barrière aux différents facteurs de stress qui tendent à limiter l'activité et la survie du parasite.

A chaque fois le mélange (sol + argile + talc) s'effectue à sec dans une grande bassine. La souche pathogène est incorporée au sol à la dose 2.10^7 cfu/g de talc. Le nombre de plantules est fixé pour chaque test à 60 (02 bassines par test).

6. Résultats

Dans le sol de Beni Abbes non désinfecté, infesté par la souche FoaT1de *F.oxysporum f.sp. albedinis*, les symptômes de Bayoud apparaissent lorsque les plantes atteignent l'âge de 1 mois (figure 19).

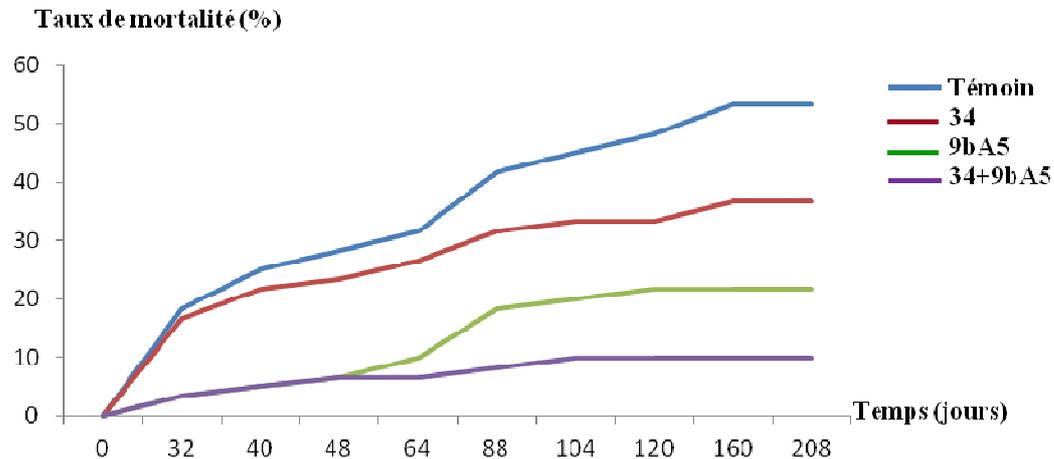


Figure 19 : Influence du traitement du sol de Beni Abbes avec deux souches de *Fusarium* antagonistes (34 et 9Ba5), apportées séparément ou en mélange, sur la gravité de la Fusariose vasculaire du palmier (taux de mortalité)

La maladie évolue progressivement et relativement lentement atteignant 53 % après 7 mois, au niveau du témoin sans antagoniste.

Les souches 9Ba5 (*Fusarium solani*) et 34 (*Fusarium oxysporum*) induisent toutes les deux une diminution de la vitesse d'évolution de la maladie, le taux d'infection en fin d'expérience étant respectivement de 21 % et 36%.

Le mélange des deux souches paraît efficace puisque seuls 10% meurent dans ce cas.

7. Discussion

Les difficultés inhérentes à la lenteur de croissance et d'infection du Palmier Dattier rendent l'étude du Bayoud, en conditions contrôlées, lente et contraignante (près d'une année pour une expérience).

Par ailleurs, on considère généralement que l'hétérogénéité des graines peut constituer un inconvénient car elle pourrait induire une variabilité élevée des valeurs de mortalité, ce qui empêcherait la prise en évidence de différences entre les sols.

La variabilité due à l'hétérogénéité génétique, minimisée par l'utilisation de graines issues d'un même régime serait donc répartie de manière uniforme de sorte qu'elle n'affecte pas fortement la variance générale des valeurs de mortalité.

Conclusion

Les souches de *Fusarium* antagonistes se sont révélées capables de diminuer le taux de survie du parasite dans le sol et d'induire une réduction du développement du Bayoud.

Les résultats obtenus permettent de considérer que la compétition est vraisemblablement le principale mode d'action de ces souches.

Dans la rhizosphère, le flux énergétique est plus important que dans le sol mais les populations microbiennes sont également plus nombreuses de sorte que cette compétition devrait également s'y exprimer (Couteaudier, 1989).

Cette interprétation est en accord avec les hypothèses avancées pour expliquer la résistance de certains sols à la maladie notamment de Châteaurenard et Noirmoutier en France, Marrakech au Maroc et Tolga, Adrar en Algérie pour lesquels le rôle des *Fusarium* saprophytes a été démontré (Alabouvette, 1986 ; Hatimi, 1989 ; Tamietti et Pramotton, 1990 ; Amir, 1991).

La compétition pour les composés énergétiques ne nous semble cependant pas être le seul mécanisme en jeu. La sécrétion de composés inhibiteurs peut jouer un rôle important dans la rhizosphère (Basin et *al.*, 1990).

L'induction d'une résistance de la plante par les souches antagonistes n'est également pas à exclure (Ogawa et Komada, 1985) bien que notre protocole ne soit pas favorable à une telle action.

Nous avons remarqué, que le mélange des souches 34 (*Fusarium oxysporum*) et 9Ba5 (*Fusarium solani*) est plus efficace que chacune d'elle prise séparément.

Cook et Baker (1983) ont attiré l'attention sur l'intérêt des mélanges de souches antagonistes en lutte biologique, traitement qui aurait notamment comme avantage une plus grande stabilité et un plus large spectre d'action.

Amir (1991) a noté que l'espèce *F.solani* est mieux adaptée au sol des palmeraies alors que *Fusarium oxysporum* colonise mieux les racines des plantes. Leur mélange cumulerait donc ces deux avantages écologiques. La diversité des aptitudes des souches de *Fusarium* que nous avons étudié, montre également qu'un mélange de souches antagonistes judicieusement choisies pour leur complémentarité peut améliorer les performances du traitement.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La phase saprophytique du cycle des *F.oxysporum* pathogène qui se déroule dans le sol a une importance considérable dans l'expression des capacités infectieuses de ces champignons, agents des fusarioses vasculaires. En effet, un inoculum parasite arrivant en terre à la faveur de plantations, de débris végétaux ou de matériels infestés subit obligatoirement les influences des nombreuses espèces microbiennes qui vivent dans ce milieu. Pour infecter de nouvelles plantes, les propagules de ce pathogène doivent germer et croître suffisamment pour franchir la barrière constituée par la microflore relativement dense qui habite la rhizosphère.

En plus d'un antagonisme global dû à l'activité de cette microflore, différentes espèces peuvent exercer sur le parasite un effet inhibiteur spécifique. La compétition intragénérique entre *Fusarium* jouerait, dans ce contexte, un rôle important dans la réceptivité des sols à la maladie (Alabouvette et al., 1987).

Les travaux exposés dans ce mémoire, permettent de saisir quelques uns des aspects fondamentaux qui régissent les interactions entre populations pathogènes et non-pathogènes du genre *Fusarium* dans le sol, et l'influence de ces interactions sur l'expression de la fusariose vasculaire. Deux niveaux sont ainsi ciblés :

La sélection des souches de *Fusarium* ayant un effet répressif dans le sol vis-à-vis du *F.o.albedinis* et l'amélioration de la connaissance des interactions microbiennes dans le sol, ce qui à plus long terme nous aidera à trouver une solution efficace.

Dans les différentes parties, nous avons tenté de quantifier quelques aptitudes qui traduisent tout un aspect du pouvoir compétitif global des souches de *Fusarium*.

Pour aboutir à une sélection efficace, il était nécessaire de tenir compte de toutes les aptitudes à la fois et en particulier des plus déterminantes d'entre elles, comme la croissance et la résistance dans le sol, ensuite, l'analyse des corrélations qui existent entre les différentes aptitudes écologiques étudiées, nous a permis d'estimer la variabilité de différents caractères écologiques chez les *Fusarium*, et de comprendre le déterminisme de leur aptitude à persister dans le sol.

Pour cela, l'utilisation d'un lot de souches important et l'amélioration de la précision de certains tests permettraient vraisemblablement de faire ressortir plus nettement ces liaisons.

Sur le plan méthodologique, la démarche que nous avons suivie paraît prometteuse, car elle nous a permis de cerner la majorité des capacités qui déterminent le pouvoir compétitif et le pouvoir antagoniste des souches.

On peut évidemment se demander si les deux premiers tests (croissance et sporulation sur extrait de terre), sont nécessaires dans la mesure où le développement des souches dans le sol intègre ces facteurs. Cependant, il y a lieu de signaler que le test de développement dans le sol est relativement lent et difficile à réaliser pour un lot de souches élevé.

Or, l'existence d'une corrélation positive assez nette entre le développement dans le sol et l'aptitude des souches à la croissance et à la sporulation sur milieu extrait de terre gélosé, nous permet d'utiliser ces deux derniers tests simples pour effectuer une présélection à partir d'un lot de souches assez important (96). Cette présélection permet d'éliminer assez rapidement les souches les moins performantes.

En ce qui concerne l'action des souches sur *F.o.albedinis* par l'intermédiaire des sécrétions, une étude approfondie doit être effectuée afin de cerner les facteurs qui induisent la variabilité des résultats obtenus.

Jusqu'à présent, les interactions entre champignons sont étudiées généralement sur des milieux artificiels ou en sol désinfecté. L'utilisation de sols naturels nous a permis de mettre en évidence quelques relations entre les facteurs physicochimiques et les facteurs microbiologiques, relations jouant un rôle important dans l'expression de l'antagonisme entre *Fusarium*. Ainsi la texture du sol conditionne l'effet inhibiteur qu'exerce une souche de *F.solani* sur l'inoculum pathogène, l'argile semble constituer une barrière aux différents facteurs de stress qui tendent à limiter l'activité et la survie du parasite.

Ces résultats ont des conséquences en ce qui concerne la stratégie de sélection des souches antagonistes en vue d'une lutte biologique contre la fusariose vasculaire.

Pour des raisons de commodités, il est normal qu'on recherche des moyens de sélection les moins contraignants possibles. Dans ce sens, le fait que certaines aptitudes soient mieux corrélées avec l'efficacité que d'autres, indiquerait que celles-ci pourraient être plus importantes ; il faut donc les considérer en premier.

Cependant, à notre sens, la stratégie de tri des souches devrait comporter plusieurs étapes. Nous préconisons la démarche suivante :

- Chercher à obtenir un lot de souches le plus polymorphes possible en isolant celles-ci, par exemple, à partir de plusieurs échantillons maintenus préalablement dans des conditions différentes afin de permettre à des souches habituellement rares de se développer. Ces conditions peuvent constituer une première phase de sélection. Par exemple, il est possible de soumettre des échantillons à de fortes variations d'humidité et de température pour rendre dominantes les souches résistantes à ces conditions, d'amender l'échantillon avec un substrat donné afin d'augmenter la fréquence des souches aptes à le dégrader, etc..
- Partir d'un lot le plus grand possible et réalisé une présélection avec un ou deux tests simples. Le test le plus intéressant pour cette présélection serait l'activité respiratoire, si l'on arrive à le simplifier. En effet, on peut probablement éviter l'emploi du sol en réalisant ce test sur un extrait de terre liquide agitée. Par ailleurs, si ce test traduit essentiellement l'importance de la biomasse produite, il est possible qu'une mesure suffisamment précise de cette biomasse, par dosage des protéines, par exemple, soit suffisante. La corrélation négative entre l'aptitude à produire des microconidies et l'efficacité mise en évidence pour le *F.solani*, si elle s'avère générale, aurait un intérêt particulier en raison de la simplicité du test correspondant. Une grande partie des souches seraient éliminées dans cette étape.
- Les couches présélectionnées seraient alors soumises à d'autres tests, tels que l'effet inhibiteur sur le parasite, la colonisation d'un sol désinfecté ou la colonisation des racines elles mêmes, puisque d'autres auteurs ont montré l'importance de cette aptitude (Schneider, 1984 ; Nagao et *al.*, 1990).
- Enfin, les meilleures souches subiraient des tests plus complexes comme l'aptitude à persister dans le sol naturel, aptitude importante pour la lutte biologique.

Une telle approche est comparable à celle préconisée par Camporota (1982), lequel conseille un tri en 04 étapes des souches de *Trichoderma*, pour la lutte biologique. La stratégie proposée par Merriman et Russel (1990) se rapproche également de notre conception.

Cette étude a permis d'estimer la variabilité de différents caractères écologiques chez les *Fusarium*, de mettre en évidence un certain nombre de liaisons simples et complexes entre ces caractères et l'efficacité des souches dans la protection des plants de Palmier contre la

fusariose vasculaire. D'autres travaux sont nécessaires pour vérifier si ces résultats sont généralisables. Pour cela, l'utilisation d'un lot de souches plus grand et l'amélioration de la précision de certains tests permettraient vraisemblablement de faire ressortir plus nettement ces liaisons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ACEA M.J., ALEXANDER M., 1988a. Growth and survival of bacteria introduced into carbon amended soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 20, 703-709.

ACEA M.J., MOORE C.R., ALEXANDER M., 1988b. Survival and growth of bacteria introduced into soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 20, 509-515.

AIT KETTOUT T., 2011. Isolement et identification des exométabolomes de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (Killian et Maire) Gordon, agent causal du Bayoud, fusariose du Palmier Dattier (*Phoenix Dactylifera L*), thèse doctorat USTHB, ALGER, 145p.

ALABOUVETTE C., ROUXEL F., LOUVET J., 1980. Recherches sur la résistance du sol aux maladies. VI : Mise en évidence de la spécificité de la résistance d'un sol vis-à-vis des fusarioses vasculaires. *Annales phytopathologiques*, 12, 11-19.

ALABOUVETTE C., 1983. La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse Doctorat d'état, Université de NANCY I, 158 p.

ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER Y., LOUVET J., 1985a. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XII : Activité respiratoire dans un sol résistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires enrichis en glucose. *Agronomie*, 5, 69-72.

ALABOUVETTE C., DAVET P., 1985b. Perspectives de lutte biologique et intégrée contre les maladies d'origine telluriques en cultures protégées. La défense des végétaux n°234, I.R.R.A.

ALABOUVETTE C., 1986. *Fusarium* wilt suppressive soils from the Chatearenard region : Review of a 10 years study. *Agronomie*, 6, 273-284.

ALABOUVETTE C., DE LA BROISE D., LEMANCEAU P., COUTEAUDIER Y., LOUVET J., 1987. Utilisation de souches non pathogènes de *Fusarium* pour lutter contre les fusarioses ; situation actuelle dans la pratique. *Bulletin Org. Eur. Méditerran. Prot. Plant.* 17, 665-674.

ALI-HAIMOUD A., CHAMI M., DJELLALI N., BOUNAGA D., 1979. Le palmier dattier et la fusariose. VI : Activité microbiologique de la rhizosphère de quelques variétés de palmiers dattiers (*Phoenix dactylifera*). *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, 78, 3-36.

AMIR A., 1991. Rôle des facteurs biotiques et abiotiques dans le déterminisme de la réceptivité de quelques sols de palmeraies algériennes aux fusarioses vasculaires. Thèse doctorat ès-sciences, USTHB, ALGER, 129p.

AMIR H., 1981. Antagonismes de divers microorganismes vis-à-vis de *Fusarium Oxysporum f.sp.albedinis* (KILIAN et MAIRE) GORDON, agent du Bayoud. Thèse Magister., Alger, USTHB.

AMIR H., SABAOU N., 1983. Le palmier dattier et la fusariose. XII. Antagonisme dans le sol de 2 actinomycètes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*, responsable du Bayoud. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 13, 47-60.

AMIR H., BENNACEUR M., LAOUFI Z., AMIR A., BOUNAGA N., 1985. Le palmier dattier et la fusariose. XIII : contribution à l'étude de l'écologie microbienne du sol de 2 palmeraies sahariennes atteintes de Bayoud. Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol, 22, 313-330.

AMIR H., AMIR A., 1988. Le palmier dattier et la fusariose. XIV : Antagonisme dans le sol de souches de *Fusarium solani* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol, 25, 161-174.

AMIR H., AMIR A., 1989. Influence de la désinfection et du type de sol sur l'antagonisme d'un actinomycète vis-à-vis d'une souche de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol, 26, 57-74.

AMIR H., 1991. Interactions entre population du genre *Fusarium* dans les sols sahariens. Déterminisme de l'aptitude des souches non pathogènes à limiter l'expression de la fusariose vasculaire. Thèse de docteur és-sciences naturelles, U.S.T.H.B, ALGER, 122p.

AMIR H., MAHDI N., 1992a. Corrélation entre quelques caractéristiques écologiques de différentes souches de *Fusarium* avec référence particulière à leur persistance dans le sol. Soil Biology and Biochemistry, 24, 3, 249-258.

AMIR H., MAHDI N., 1992b. Liaison entre les aptitudes écologiques de différentes souches de *Fusarium* et leur efficacité dans la protection de plans de lin contre la fusariose vasculaire. Canadian Journal Of Microbiology, 39, 234-244.

APG II, 2003. An Update of Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants. Bot. J. Linn. Soc., 141, 399-436.

APG III, 2009. An Update of Angiosperm Phylogeny Group classification for orders and families of flowering plants. Bot. J. Linn. Soc., 161, 105-121.

BADJI B., 1990. Influence de différents amendements sur le développement de deux souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* dans le sol des palmeraies. Thèse Magister, USTHB, Alger, 131p.

BAKER R., 1968. Mecanisms of biological control of soil born pathogens. Ann. Rev. Phytopathol., 6, 263-294.

- BAKER K.F., COOK R.J., 1974. Biological control of plants pathogens. San Francisco, FREEMAN Ed., 433p.
- BAKER K.F., 1981. Biological control in fungal diseases of plants. Edit. by MACE M. E., BELL A. A., BECKMANN C. H., Academic Press. New-York.
- BASIN M.J., MARKHAM P., SCOTT E. M., LYNCH J. M., 1990. Population dynamics and rhizosphere interactions. In The Rhizosphere (J. M. LYNCH, Ed.), 99-127. Wiley, Chichester.
- BELARBI R., 1986. Ultra structure du pneumatode son rôle dans du Palmier Dattier : Relation haute-parasite. Thèse doctorat és-sciences, Université de Nancy I, 216p.
- BENHAMOU N., GARRAND C., 2001. Cytological analysis of defense – related mechanisms induced in pea root tissues in response to colonization by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. Phytopathology, 91, 730-740.
- BENHAMOU N., GARRAND C., GOULET A., 2002. Hability of non pathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 to induce resistance against *Phythium ultimum* infection in cucumber appl. Environ. Microbiol. 68, 4044-4060.
- BENNACEUR M., 1981. Les exsudats racinaires du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*). Thèse Doctorat, 3^{ème} Cycle, Université de Montpellier.
- BLISS D.E., 1951. The destruction of *Armillaria mellea* in citrus soils. Phytopathology, 41, 665-683.
- BONNEMAIN J.L., CHOLLET J.F., 2003. The arsenal of agrochemical products versus the plant enemies : General considerations. C. R. Biology, 326, 1-7.
- BOOTH C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, 273p.
- BOUHOT D., ROUXEL F., 1971. Technique sélective et quantitative d'analyse des *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* dans le sol : Mode d'emploi. Annales phytopathologiques, 2, 251-254.
- BOUNAGA N., 1970. Quelques aspects de la physiologie d'une souche de *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*, agent de la maladie du Bayoud. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 60, 137-183.
- BOUNAGA D., BOUNAGA N., 1973. Le palmier dattier et la fusariose. I : Les vaisseaux. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 64, 3-23.
- BOUNAGA N., 1975. Comportement du *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (KILIAN et MAIRE) GORDON, en présence de composés glucidiques. Thèse doctorat, 3^{ème} Cycle, Université d'Alger.

- BOVÉ J., 2001. Introduction à la séance commune consacrée aux agents pathogènes des plantes : Découverte, pathogénie, problèmes de sociétés. C. R. Acad. Sci., Paris, Ser. Cér. III, 324, 873-874.
- BROCHARD P., DUBOST D., 1970. Progression du Bayoud dans la palmeraie d'In Salah. El Awamia, 35, 143-153.
- BRUEHL G.W., MILLAR R.L., CUNFER B., 1969. Significance of antibiotic production by *Cephalosporium graminearum* to its saprophytic survival. Canadian Journal of Plant Science, 49, 235-246.
- BRUEHL G.W., 1976. Managment of food ressources by fungal colonists of cultivated soils. Annales phytopathologiques, 14, 247-264.
- BULIT J., LOUVET J., BOUHOT D., TOUTAIN G., 1967. Recherches sur les fusarioses. I : Travaux sur le Bayoud. Fusariose du palmier dattier en Afrique du Nord. Annales Epiphyties, 18, 213-239.
- BURGESS L.W., 1981. General ecology of the Fusaria in : *Fusarium* : Disease biology and taxonomy. Edit. by NELSON P.E., TOUSSOUN T.A., COOK R.J.. The Penn. State Univ. Press. Univ. Park and London.
- CAMPOROTA P., 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma* sp. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. Agronomie, 5, 613-620.
- CHAMI M., BOUNAGA D., 1979. Amylolyse dans la rhizosphère su palmier dattier : Etude préliminaire. Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol, 16, 17-21.
- CHEN M., ALEXANDER M., 1973. Survival of soil bacteria during prolonged desiccation. Soil Biology and Biochemistry, 5, 213-221.
- CHET I., ELAD Y., 1983. Les mécanismes du mycoparasitisme. In : Les Antagonismes microbiens. Colloque INRA n° 18, 35-40.
- CLARK F.E., 1969. Associations écologiques entre microorganismes du sol. In : Biologie des sols. Comptes rendus de recherches U.N.E.S.C.O, 125-164.
- CLEYET-MAREL J.C., CROSAT Y., 1982. Etude écologique en immunofluorescence de *Rhizobium Japonicum* dans le sol dans le sol et la rhizosphère. Agronomie, 2, 243-248.
- COOK R.J., BAKER K.F., 1983. The nature and practice of Biological control of plant pathogens. American Phytopathological Society, St Paul, Minn.
- COUTEAUDIER Y., LETARD M., ALABOUVETTE C., LOUVET J., 1985. Lutte biologique contre la fusariose vasculaire de la tomate. Résultats en serre de production : Agronomie, 5, 151-156.

- COUTEAUDIER Y., 1989. Interactions microbiennes dans le sol et la rhizosphère : Analyse du déterminisme de la compétition entre populations de *Fusarium*. Thèse Doctorat, Université de Lyon. 96p.
- COUTEAUDIER Y., ALABOUVETTE C., 1990a. Quantitative comparaison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation to carbon utilization. Féd. Eur. Microbiol. Soc. Microbiol. Ecol, 74, 261-268.
- COUTEAUDIER Y., ALABOUVETTE C., 1990b. Survival and inoculum potential of conidia and chlamydospores of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lini*. Canadian Journal of Microbiology, 36, 551-556.
- COUTEAUDIER Y., STEINBERG C., 1990. Biological and mathematical description of the growth pattern of *Fusarium oxysporum* in a sterilized soil. FEMS Microbiology Ecology, 74, 253-260.
- CRONQUIST A., 1991. The evolution and classification of flowering plants. New phytologist, 117, 3, 513p.
- DAGNELIE P., 1975. Théorie et méthodes statistiques : Application agronomique, Vol.2, Gembloux, Presses agronomiques de Gembloux.
- DÉFAGO G., BERLING C.H., BURGER U., HAAS D., KAHR G., KEEL C., VOISARD C., WIRTHNER P.H., WUTRICH B., 1990. Suppression of black root rot of tobacco by a *pseudomonas* strain : Potential application and mechanisms. In Biological Control of Soil-Borne plant pathogens. Editeur : D. HORNBY. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, 93-108.
- DIX N.J., MITCHELL C.P., 1976. Soil fungistasis and the theoretical colonization index of some fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 67, 136-139.
- DJERBI M., AOUAD L., FILALI H., SAAIDI M., CHTIOUI A., SEDRA M.H., ALLAOUI M., HAMD AOUI T., OUBRICH M., 1986. Preliminary results of selection of high quality Bayoud resistant clones among natural dates palm population in Morocco. In : Proceedings of the second symposium of the date palm, Saudi Arabia, 383-399.
- DJERBI M., 1991. Biotechnologie du Palmier Dattier (*Phoenix Dactylifera L.*) : Voies de propagation des clones résistants au Bayoud et de haute qualité dattière. Options méditerranéenne, 14, 31-38.
- DOMMERGUES Y., MANGENOT F., 1970. Ecologie microbienne du sol, Paris, Ed. Masson et Cie.
- ELENA K., 2004. *Fusarium* wilt de *Phoenix Canariensis* : Premier rapport en Grèce. Rapport des maladies nouvelles, 10, 31p.

- EL HADRAMI A., EL IDRISSEI-TOURANE A., EL HASSENI M., DAAYF F., EL HADRAMI I., 2005. Toxine-based in vitro selection and its potential application to date palm for resistance to the Bayoud *Fusarium* wilt – a review. C. R. Biol. 328, 732-744.
- EL HASSENI M., EL HADRAMI A., DAAYF F., CHERIF M., AIT BARKA E., EL HADRAMI I., 2007. Biological control of Bayoud disease in Date Palm : Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. Environmental and experimental botany, 59, 224-234.
- ÉSQUERRÉ-TUGAY M.T., 2001. Plantes et agents pathogènes, une liaison raffinée et dangereuse : Exemple des champignons. C. R. Acad. Sci., paris, Sér. III, 324, 899-903.
- FLORES R., 2001. A naked plant - specific RNA ten-fold smaller than the smallest known viral RNA : The viroid. C. R. Acad. Sci., Paris, Sér. III, 324, 943-952.
- FRAVEL D.R., LARKIN R.P., 2002. Reduction of *Fusarium* wilt of hydroponically-grown basil by *Fusarium oxysporum* strain CS-20. Crop protection. 21, 539-543.
- FREDERICKS M., DENBRADER K., 1988. Efficacité du bromure de méthyle et d'un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine sur le *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (Bayoud) dans le sol. Table ronde sur le Bayoud, compte rendu des journées nationales sur la fusariose du Palmier Dattier, URZA-INRA, ALGER, 19-20 Septembre, Ed. Laphonic, 27-35.
- GACEB-TERRAK R., 2010. Contribution à la connaissance des interactions palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*)-agent causal du Bayoud (*Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*) par analyse phytochimique des lipides et des phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat d'état FSB, USTHB, Alger, 198p.
- GARIBALDI A., GUGLIELMONE L., GULINO M.L., 1990. Role of rhizosphere competence and antagonistic activity of saprophytic Fusaria. Première conférence de la fondation européenne de phytopathologie. Hollande, 26 Février-02 Mars.
- GARRET S.D., 1970. Pathogenic Root-Infecting Fungi. Cambridge University Press, London.
- GORDON W.L. 1965. Pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. Canadian Journal of Botanic, 43, 1309-1318.
- GRIFFIN D.M., 1972. Ecology of soil fungi. Chapman and Hall, London.
- HATIMI A., 1989. Etude de la réceptivité des sols de palmeraies marocaines au (Bayoud).Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle, Marrakech, 58p.
- HORUBY D., 1990. Root diseases. In : The rhizosphere. Editeur : Lynch J.M., Wiley and Sons, Chichester, 233-258.

- HOWIE W.J., COOK R.J., WELLER D.M., 1987. Effects of soil matrice potential and cell motility on wheat root colonization by fluorescent Pseudomanads suppressive to take-all. *Phytopathology*, 77, 286-292.
- JAITI F., KASSAMI M., MEDDICH A., EL HADRAMI I., 2008. Effetc of arbuscular mycorhization on the accumulation of hydroxycinnamic acid derivatives in date palm seedlings challenged with *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. *J. Phytopathol*, 156, 641-646.
- JOUAN B., LEMAIRE J.M., 1974. Modification des biocénoses du sol. I : Etude préliminaire de l'influe ce de l'incorporation de substrats nutritifs au sol et ses conséquences pour l'évolution d'agents phytopathogènes d'origine tellurique. *Annales phytopathologiques*, 6, 297-308.
- JOFFE A.Z., PALT I., ARBEL-SHERMAN R., 1974. *Fusarium oxysporum* SCHLECHT in Israël. *Phytoparasitica*. 2, 2, 91-107.
- KADA A., DUBOST D., 1975. Le Bayoud à Ghardaia. *Bull. Agr. Sahar.*, Alger, 29-61.
- KLARZYNSKI O., FRITIG B., 2001. Stimulation des défenses naturelles des plantes. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, Sér. III, 324, 953-963.
- LANDA B.B., NAVAS-CORTES J.A., JIMENEZ-DIAZ R.M., 2004. Influence of temperature on plant rhizobacteria interactions related to biocontrol potential for suppression of *Fusarium* wilt of chickpea. *Plant Pathol.*, 53, 341-352.
- LAOUFI Z., 1978. Les champignons de la Rhizosphère du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*). DES, USTA, Alger.
- LAVILLE E., LOSSOIS P., 1963. Méthode de Van Der Plank et mode de propagation du Bayoud. *Fruits*, 18, 249-253.
- LAVILLE E., 1977. Diseases pests and weeds in tropical crops. Edit. KRANV J., SCHMUTTERER H., KOCH W., VERLAG, PAUL PARAY. Berlin, Hamburg.
- LOCKWOOD J.L., FILONOW A.B., 1981. Responses of fungi to nutrient-limiting conditions and to inhibitory substances in natural habitats. In : *Advances in microbial Ecology*, Vol., 5, Editeur : M. ALEXANDER, Plenum Publishing Corporation, New Yord, 1-61.
- LOCKWOOD J.L., 1990. Relation of energy stress to behavior of soil-borne plant pathogens and to disease development. In : *Biological control of soil-borne plant pathogens*. Editeur : D. HORNBY. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, 197-214.
- LOUVET J., BULIT J., TOUTAIN G., RIEUF P., 1970. Le Bayoud, Fusariose vasculaire du palmier dattier : Symptômes et nature de la maladie, moyens de lutte. *Al Awamia*, Rabat, 35, 161-181.

- LOUVET J., BULIT J., 1972. Le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier : Symptômes et nature de la maladie. In : Le palmier dattier et sa fusariose vasculaire (Bayoud), DRA-Maroc, INRA-France.
- LOUVET J., TOUTAIN G., 1973. Nouvelles observations sur le Bayoud et précisions concernant la lutte. *Annales phytopathologiques*, 5, 35-52.
- LOUVET J., ROUXEL F., 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 phytopathologique*, 8, 425-436.
- MAHDI N., 1984. Essai de sélection de quelques souches de *Fusarium solani* et *Fusarium oxysporum* antagonistes du *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON, agent du Bayoud. DES, Alger, USTHB.
- MALENÇON G., 1934. Nouvelles observations concernant l'étiologie du Bayoud. C. R. Acad. Sci. Paris, 198, 1259p.
- MALENÇON G., 1950. Le Bayoud maladie fusarienne du palmier dattier en Afrique du Nord. *Fruits*, 6, 279-289.
- MANDEL Q., BAKER R., 1991. Mechanisms involved in biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81, 462-469.
- MERRIMAN P., RUSSEL K., 1990. Screening strategies for biological control. In : Biological control of soil-borne plant pathogens. Editeur : D. HORNBY. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, 427-435.
- MITCHELL J.E., 1979, The dynamics of the inoculum potential of populations of soil-borne plant pathogens in the soil ecosystem. In : Soil-Borne Plant Pathogen (B. Schippers and W. Gams, edition), academic press, London, 3-30.
- MOLOT P.M., MAS P.M., 1974. Atténuation de la sensibilité du melon (*Cucumis melo*) au *Fusarium oxysporum* SCHL. *f.sp.melonis* SN et HANS. II : Rôle de l'acide fusarique. *Annales phytopathologiques*, 6, 245-253.
- MONTEALEGRE J.R., REYES, PEREZ L.M., HERRERA R., SILVA P., BESOAIN X., 2003. Selection of bio-antagonistic bacteria to be used in biological control of *rhizoctonia solani* in tomato. *Electron J. Biotechnol.* 6, 115-127.
- MOODY A.R., GINDRAT D., 1977. Biological control of cucum black root rot by *Gliocladium roseum*. *Phytopathology*, 67, 1159-1162.
- MUNIER P., 1973. Le Palmier Dattier. *Techniques agricoles et productions tropicales*. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, 221p.

- NAGAO H., COUTEAUDIER Y., ALABOUVETTE C., 1990. Disparity in the ability of *Fusarium* strains to colonize steamed soil and flax roots. *Symbiosis*, 9, 343-354.
- NELSON P.E., TOUSSOUN T.A., COOK R.J., 1981. *Fusarium* : Disease, biology and taxonomy. The Pennsylvania State University Press, 457p.
- N'LENDI N., 1975. Recherches sur les relations entre l'ontogenèse vasculaire et le déroulement de la maladie chez le Palmier Dattier atteint de fusariose. DEA. Université de Dijon.
- OEPP/EPPO, 1992. Fiche informative sur les organismes de quarantaine : *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, préparée par le CABI et l'OEPP pour l'UE sous contrat 90/399003, 6p.
- OGAWA K., KOMODA H., 1985. Biological control of *Fusarium* wilt sweet potatoe by non pathogenic *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.*, 50, 1-9.
- ORITSEJAFOR J.J., 1986. Influence of soil moisture and pH on growth and survival of *Fusarium oxysporum f.sp. eleadis* in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 87, 511-517.
- OROZCO-CÁRDENAS M.L., NARVÁREZ-VÁSQUEZ J., RYAN C.A., 2001. Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes into tomato plant in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *Plant cell*, 13, 179-191.
- OWNLEY B.H., DUFFY B.K., WELLER D.M., 2003. Identification and manipulation of soil properties to improve the biological control performance of phenazine producing *Pseudomonas fluorescense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 3333-3343.
- PARAM J.S., MEHPOTRA R.S., 1980. Biological control of *Rhizoctonia hataticola* on Gram by coating seed with *Bacillus* and *Streptomyces* sp. and their influence on plant growth. *Plant and soil*, 56, 475-488.
- PERREAU-LEROY P., 1954. Recherche sur la fusariose du Palmier Dattier. *Ann. Inst. Fr. Agric. Colon.*, 8, 1-27.
- PERREAU-LEROY P., 1958. Le Palmier Dattier au Maroc. *Inst. France de recherches fruitières. Outre-mer (I.F.A.C.)*, 142p.
- PILLET P.E., 1971. Les parois cellulaires. Doin Paris, 173p.
- POCHON J., TARDIEUX, 1962. Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Paris, Masson et Cie.
- RAHMANIA F., 2000. Contribution à la connaissance des relations hyto-cytophysiologique entre le Palmier Dattier, *Phoenix Dactylifera L.* et l'agent causal du Bayoud, *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (Killian et Maire) Gordon. Thèse doctorat d'état, USTHB, Alger, 156p.

- RAMIREZ –SUERO M., 2009. Etude de l'interaction de *Medicago trunculata* avec *Fusarium oxysporum* et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques. Thèse de doctorat, INSAT Toulouse, 281p.
- RANGAJARAN S., SALEENA L.M., VASUDEVAU P., NAIR S., 2003. Biological suppression of rice disease by *pseudomonas spp.* Under saline soil conditions. Plant soil, 251, 73-82.
- RIBA O., 1991. Influence de la salinité des sols des palmeraies sur les *Fusarium*. Conséquences sur l'expression du Bayoud, fusariose du Palmier Dattier (*Phoenix Dactylifera* L), thèse magister, USTHB, ALGER.
- ROUXEL F., 1978. Etude de la résistance microbiologique des sols aux fusarioses vasculaires : Application aux sols de la basse vallée de la Durance. Thèse doctorat, Université de Dijon, 151 p.
- ROUXEL F., ALABOUVETTE C., LOUVET J., 1979. Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IV : Mise en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. Annales de phytopathologie, 2, 199-207.
- RYAN C.A., 2000. The systemin signaling pathway : Differential activation of plant defensive genes. Biochim. Biophys. Acta., 1477, 112-121.
- SAAIDI M., RODET J.R., 1974. Lutte contre le Bayoud. II Efficacité de 2 fongicides sur *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis*, agent du Bayoud « Invitro ». El Awamia, 53, 123-132.
- SAAIDI M., 1979. Contribution à la lutte contre le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thèse université de Dijon.
- SABAOU N., 1979. Le palmier dattier et la fusariose. IV : Antagonisme d'*Aspergillus Flavus* vis-à-vis du *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 68, 37-44.
- SABAOU N., 1980. Antagonisme de deux Actinomycètes vis-à-vis du *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis* (KILLIAN et MAIRE) GORDON et d'autres champignons. Thèse magister, Alger, USTHB.
- SABAOU N., AMIR H., BOUNAGA D., 1980. Le palmier dattier et la fusariose. X : dénombrement des Actinomycètes de la Rhizosphère, leur antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum f.sp.albedinis*. Annales de Phytopathologie, 12, 253-257.
- SARVANAN T., MUTHUSAMI M., MARIMUTHU T., 2004. Effect of *pseudomonas fluorescense* on *Fusarium* wilt patogen in banana rhizosphere. J. Biol. Sci., 4, 192-198.
- SCHNEIDER R.W., 1984. Effects of non pathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *Fusarium oxysporum*. sp. apii and a novel use of the Lineweaver Burk double reciprocal plot technique. Phytopathology, 74, 646-653.

- SELVARAJ J.C., 1978. Systemic fungicides in the control of Bayoud diseases of date palm. *World crops*, 30, 116-119.
- SMITH S. N., SNYDER W. C., 1975. Résistance of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Vasinfectum* in Fields in the absence of coton. *Pytopathology*, 65, 190-196.
- SNYDER W. C., SCHROTH M. N., CHRISTOV T., 1959. Effect of plants residues on root rot of beau. *Phytopathology*, 49, 755-756.
- STOVER R.H., 1959. Growth and survival of root disease fungi in soil. In : *Plant pathology : Problems and progress 1908-1958* (C.S. HOLTON, G.W. FISHER, R.W. FULTON, H. HART and S. e. A. MACCALLAN, edition), the University of Wisconsin Press.
- SURICO G., 1977. Sul possibile uso del Benomyl nella lotta contro il Bayoud (indotto da *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis*) della palma da dattero. II. Assorbimento e distribuzione del Benomyl in piante e risultati di lotta in serra. *Phytopath. Medit.* 16, 69-74.
- TAMIETTI R., PRAMOTTON R., 1990. La résistance du sol aux fusarioses vasculaires : Rapports entre la résistance et la microflore autochtone avec référence particulière aux *Fusarium* non pathogène. *Agronomie*, 10, 77-84.
- TANTAOUI A., 1993. Le Bayoud du palmier dattier. Densité et répartition de *Fusarium oxysporum* f.sp.*albedinis* au sein du peuplement des *Fusarium spp* dans le sol et perspectives de la lutte directe. *El Awamia*, 82, 3-24.
- TELLO- MARQUINA J.C., ALABOUVETTE C., LOUVET J., 1980. Aptitudes à la conversation des microconidies de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*. *Annales de Phytopathologie*, 12, 227-234.
- TELLO- MARQUINA J.C., ALABOUVETTE C., 1984. Observations sur la persistance dans le sol de microconidies de *Fusarium oxysporum*. *Agronomie*, 4, 885-890.
- THOMASHOW L.S., WELLER D.M., 1988. Role of a phenazine antibiotic from *pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacterial.*, 170, 3499-3508.
- TIMS E.C., 1932. An Actinomycete antagonistic to a *pythium* root parasit of sugar caue. *Phytopathologie*, 22, 17.
- TOUTAIN G., 1965. Note sur l'épidémiologie du Bayoud en Afrique du Nord. *Al Awamia*, Rabat, 15, 37-45.
- TOUTAIN G., 1967. Le palmier dattier : Culture et production. *Al Awamia*, Rabat, 25, 51-83.
- TOUTAIN G., BACHIR A., CHARI BENTERRAK, 1970. Cartographie variétale sur la palmeraie marocaine, Rapport polycopié.

TOUTAIN G., LOUVET J., 1974. Lutte contre le Bayoud. IV. Orientations de la lutte au Maroc. *El Awamia*, 53, 141-162.

TRAMIER R., BETTACHINI A., 1977. Mise en évidence d'une souche de *Fusarium oxysporum f.sp.dianthi*, Résistante aux fongicides systémiques. *Annales de phytopathologie*, 6, 221-231.

WAINWRIGHT M., 1988. Metabolic diversity of fungi in relation to growth and mineral cycling in soil – a review. *Transactions of the British Mycological Society*, 90, 159-170.

WARCKSMAN S. A., 1948. Antagonismes microbiens et substances antibiotiques. Sedes. Paris.

WEIDEMANN G.J., TEMPLETON G.E., 1988. Efficacy and soil persistence of *Fusarium solani f.sp.cucurbititae* for control of Texas gourd (*cucurbitae texana*). *Plant Disease*, 72, 36-38.

WIEBE W.J., 1984. Some potentials for the use of microorganisms in ecological theories. In *Current Perspectives in Microbial Ecology* (M. J. KLUG and C. A. REDDY, edition), 17-21. American Society of Microbiology, Washington.

WILLIAMS S.T., VICKERS J.C., 1986. The ecology of antibiotic production. *Microbial Ecology*, 12, 43-52.

ANNEXES

ANNEXE I : Croissance et sporulation de 96 souches de *Fusarium* sur milieu gélosé à base d'extrait de terre

Souches	Croissance	Microconidies/mm²	Macroconidies/mm²	Chlamydoespores/mm²
Foln2	32.5	3683	0	1160
Foa66	33.7	2617	0	96
M2	31.7	3310	0	159
HR8	32.3	3622	0	51
CHM1	32.1	2656	0	27
KHM5	30.5	4273	0	40
KHM1	30.9	3200	0	77
Foln1	31.4	4040	0	35
JT	29.5	6323	0	148
Fo47	36.9	13826	10	826
34	34	4880	60	772
RB	34.6	6093	10	68
Fo20	34	3583	40	553
FoTKP2	33.1	17166	0	453
FoTKG	29.1	17600	0	23
Tim6	37.5	4163	290	82
BaPs2	36	2490	4030	49
H	36	1445	1800	285
W	34.5	5521	340	561
F3	33.6	1292	770	188
8Ad2	33.5	2057	0	35
9Ba5	37.7	1955	6350	444

Souches	Croissance	Microconidies/mm²	Macroconidies/mm²	Chlamydo spores/mm²
3	19.5	2397	60	47
26	28	1864	0	38
28	33.5	4881	280	227
33	23.2	1551	60	945
BaFs1	35	3816	1720	211
AdTiss	36.5	2100	2590	309
Fs3	37.7	1060	310	87
Fs59	34.5	1453	290	1350
11	29.5	3856	340	950
FsA	35	1316	2870	369
FsB	37.5	343	0	339
FsC	30	2170	930	472
FsD	37	973	50	281
FsTGP1	37.5	2550	60	365
TGG3	35.5	4076	1490	215
1Ad1	34	2747	3560	55
1Ad3	37.6	2973	950	276
1Ad4	37.5	2506	280	35
1Ad9	37	2312	300	66
1Ba5	33.7	2583	60	344
1Ba6	36	1813	2220	356
1Ba9	35	5893	740	79
1Ba11	26.6	3653	160	270
2Ad1	37.6	2016	1140	263
2Ad3	29.5	2166	5330	97

2Ad4	30.8	1264	20	139
Souches	Croissance	Microconidies/mm²	Macroconidies/mm²	Chlamydospores/mm²
2Ad6	35.8	2790	1240	356
2Ba2	3505	1843	1200	257
2Ba4	30.1	2523	410	843
2Ba7	35	3630	930	406
2Ba8	35.6	2943	1490	409
3Ad4	37	3410	2370	9
3Ad6	35.8	2793	3200	380
3Ad7	36.3	1596	1100	329
3Ad9	32.2	2106	800	711
3Ba2	28.6	3126	560	260
3Ba4	33	1800	2830	264
3Ba5	31	1966	60	870
3Ba6	36.5	4010	2550	816
4Ad3	37.5	1730	220	698
4Ad4	37.5	2080	600	252
4Ad8	37	2610	2370	116
4Ba1	37.6	850	90	774
4Ba4	37.7	2093	1700	181
4Ba6	37.6	1823	1370	72
4Ba8	37.5	3183	40	551
5Ba1	37.7	940	140	290
5Ba3	37.5	2613	1870	165
5Ba5	36	1626	140	818
5Ad2	35.8	770	800	80

5Ad4	37.5	2093	2270	624
5Ad6	37.7	3243	800	129
Souches	Croissance	Microconidies/mm²	Macroconidies/mm²	Chlamydozspores/mm²
12a1-1	37.7	893	60	552
12a2-1	29.5	812	800	1225
12a3-1	37.1	2370	8740	166
12b1-1	28.3	820	0	1125
12b2-1	33.7	926	4100	767
Tim16	35.8	625	180	1064
7Ba1	35.5	1840	4260	438
7Ba2	37.7	2993	740	330
7Ad3	35.5	1160	3720	289
7Ad4	35.7	1116	720	300
7Ad6	35.3	1863	430	638
8Ba3	37	2050	1010	429
8Ba5	35.3	3120	850	575
8Ba12	37.7	1946	1200	112
8Ad1	37.7	1986	660	139
8Ad8	37.5	883	4140	60
9Ba3	36	1080	310	239
9Ba8	37.6	1010	7640	59
9Ad1	37.5	1226	110	195
9Ad2	36.3	1746	490	188

ANNEXE II : Composition de la solution minérale (utilisée pour la culture de plantules du Palmier Dattier).

KNO ₃	: 0,25g
Ca (NO ₃) ₂ 4 H ₂ O	: 1g
KH ₂ PO ₄	: 0,25g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	: 0,25g
Solution d'oligo-éléments	: 1ml
Eau Distillée qsp	: 1000ml

La solution d'oligo-éléments est composée comme suit :

H ₃ BO ₃	: 1,86g
MnSO ₄ , H ₂ O	: 1,69g
CuSO ₄ , 5 H ₂ O	: 0,25g
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	: 0,29g
(NH ₄) MO ₇ O ₂₄ , 4 H ₂ O	: 0,035g
AlCl ₃ , 6 H ₂ O	: 0,081g
CoCl ₂ , 6 H ₂ O	: 0,024g
Eau distillée qsp	: 1000ml

ANNEXE III : Performances obtenues par 16 souches de *Fusarium* pour les différentes aptitudes testées (Les souches sont classées par ordre décroissant d'aptitude à persister dans le sol)

Souches	(1) Croissance mycélienne	(2) Microconidies	(3) Macroconidies	(4) Chlamydo-spores sol	(5) Chlamydo-spores E.T	(6) Spores totales	(7) Spores résistantes	(8) Germinations spores	(9) Effet Inhibiteur	(10) Avtivité respiratoire	(11) Developpement saprophytique	(12) Persistance sol
Ba Fs 2	36.3 a,b	2490 f	4030 b	116 a,b	49 j	6569 c	4079 b	47,6 g	19.1 g	197.3 b	89.1 d,e	57.0 a
W	34.5 d,e	5521 b	340 e	102 a,b	561 d	6422 c	901 d,e	88.2 a,b	23.3 f,g	139.3 c,d	92.5 d,e	52.2 a
9 Ba 5	37.7 a	1944 f,g	6350 a	133 a	444 e	8738b	6794 a	90.7 a	76.2 a	188.2 b	65.7 e,f	51.8 a
H	36.0 b,c	1445 h,i	1800 c	43 d,e	285 f	3530 d,e	2085 c	82,7 b,c	40.1 c	242.5 a	86.0 d,e	40.3 b
F3	36.1 b,c	1292 i	770 d	6g	188 g,h	2250 g,h	958 d,e	85,5 a-c	34.5 c,d	180.7 b	48.7 f	39.1 b
28	35.3 b-d	4881 b,c	280 e	85 b,c	227 f,g	5388 c,d	507 f	77.0 d,e	30.9 d,e	48.8 g	65.2 e,f	38.9 b
Fo47*	36.9 a,b	13826 a	10 g	33 e	826 b,c	14652 a	826 e	37.5 h	20.4 g	153,3 c	422.4 b	26.6 c
33	23.2 i	1551 g-i	60 f	7 g	945 a,b	2409 g,h	1005 d,e	78.7 c-e	56.3 b	100.4 c	105.7 d	22.5 c
RB	34.6 c,d	6093 b	10 g	57 c,d	68i,j	6161 c	68 h,i	40.5 g,h	32.3 d,e	138.1 c,d	814.7 a	12.7 d
34*	34.0 d,e	4881 b,c	60 f	7 g	772 c	5980 c	832 e	56.5 f	40.4 c	53.3 f	222.2 c	8.8 d,e
Foln2*	32.5 f,g	3683 c,d	0 g	29 e,f	1160 a	4843 d	1160 d	35.3 h	18.9 g	122.9 d	214.18c	7.8 d,e
26	28.0 h	1864 g,h	0 g	19 f	38 j	1902 h	38 i	70.1 e	29.4 e	126.0 d	54,8 f	5.6 e,f
Foa66	33.7 e,f	2617 e,f	0 g	6 g	96 h,i	2713 f,g	96 g,h	36.5 h	20.7 g	57.0 f	64.5 e,f	4.9 f
8Ad 2	33.5 e,f	2057 f,g	0 g	30 e,f	35 j	2092 g,h	35 i	80.3 c,d	35.6 c,d	61.1 f	10.1 h	4.6 f
M2*	31.7 g	3310 d,e	0 g	4 g	159 h	3469 e,f	159 g	36.1 h	38.9 c	126.7 c,d	250.8	4.5 f
3	19.5 j	2397 f	60 f	35 d,e	47 j	2504 g,h	107 g,h	71.7 e	28.1 e,f	29.5 h	19.7 g	4.1 f

(1) : Croissance mycélienne : Distance parcourue par le front mycélien en 6 jours d'incubation. 2, 3,4,5,6, et 7 :Quantité de spores produite par mm² de milieu ; (2) : Microconidies ;(3) :Macroconidies (4) : Chlamydo-spores produites 24 h après mise en contact avec un sol non désinfecté ; (5) : Chlamydo-spores produites sur extrait de terre après 20 jours d'incubation ; (6) : Production totale de spores sur extrait de terre(2+3+5) ; (7) : Production de spores considérées comme résistantes(3+5) ; (8) : Taux de germination des spores(en %)estimé après 8h d'incubation ; (9) : Effet inhibiteur sur extrait de terre vis-à-vis de la germination des spores de *F.o.albedinis* exprimé par la différence de taux de germination entre l'essai avec antagoniste (E) et témoin (T) rapporté en % de ce dernier (T-E/T x100) ; (10) :Activité respiratoire en sol désinfecté estimée après 5 jours de croissance d'un inoculum initial de 1000cfu/g et exprimé en nmoles de CO₂ /g de sol /h ; (11) : Développement saprophytique en sol désinfecté estimé après 22 jours d'incubation (inoculum initial : 1000cfu/g) et exprimé en cfu/g de solx10³ ; (12) : Aptitude à persister dans le sol non désinfecté ; densité relative des souches après 4 mois d'incubation exprimée en % de l'inoculum initial.