

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MOULOUD MAMMARI de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

Activité antagoniste des bactéries rhizosphériques et effet de leur inoculation en pots chez la tomate

Travail réalisé par :

Melle : BOUBGUEL Dahbia

Melle : KACEL Sylia

Devant le jury :

Président : Mr DJENANE D Professeur à l'UMMTO.

Promoteur : Mr OUELHADJ A Maitre de conférences A à l'UMMTO.

Examineur : Mr BOUAZZA B Maitre de conférences B à l'UMMTO.

Examinatrice : Melle ASMANI K Maitre assistante B à l'UMMTO.

Année universitaire : 2015 - 2016

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu le bon Dieu de nous avoir donnés la santé, la volonté, la foi et le courage pour réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier également toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenus en particulier :

*Notre promoteur : Monsieur **OUELHADJ A** : Maitre de conférences A à l'UMMTO, pour avoir accepté de diriger notre travail par ses conseils, sa disponibilité et ses orientations.*

*Monsieur **DJENANE D** : Professeur à l'UMMTO, pour avoir accepté de présider le jury.*

*Monsieur **BOUAZZA B** : Maitre de conférences B à l'UMMTO, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Melle **ASMANI K** : Maitre-assistante B à l'UMMTO, pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Louange à Allah, seigneur de l'univers le tout puissant et miséricordieux, qui m'a inspiré et comblé de bienfait, je lui rends grâce.

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère ; qu'elle trouve ici hommage de ma gratitude qui, si grande qu'elle puisse être, ne sera à la hauteur de ses sacrifices et ses prières pur moi.

A celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière, mon cher papa.

A ma chère grand-mère « Fatima »

A la mémoire de ma grande tante « Djouher »

A celui qui a toujours été présent à mes côtés « Ramdane »

A ma belle famille

A mes sœurs adorées « Kamila, Lyasmine, Louiza » et à leurs maris

A mes petits neveux « Lisa & Mehdi »

A mon binôme « Sylia » que je remercie pour sa patience et son amitié

A mes copines « Aldjia, Célia, Dehbia et Hakima »

A Zehoua et Yasmine que je remercie pour leur aide dans ce travail

A toute la promotion

A toute personne qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie.

Dahbia

Dédicace

Je dédie ce travail à

Mes très chers parents, qui sont toujours présent et continuent de l'être pour faire mon bonheur. Que dieu les protège et leur donne une bonne santé et qu'ils trouvent ici la preuve de ma reconnaissance infinie.

Mes sœurs « Sabrina, Sihem, Soraya et ma petite lila » pour leur disponibilité, leur soutien moral, leur encouragement, d'être coopératives et d'assumer à ma place certaine de mes responsabilités familiales.

Mes milliers copines « Hassiba, Celia et Naima » pour leur soutien et amitié.

Amine qui est toujours à mes côtés pour me soutenir, pour m'aider dans la mesure du possible, mais surtout pour donner du goût à ma vie, j'espère qu'il trouve ici le témoignage de mon profond attachement et respect.

Mon binôme Dahbia, avec qui j'ai partagé les plus beaux et difficiles moments.

Tous ceux qui mon aidée de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Sylia

AAF :	Aéro-Anaérobie Facultatif.
ADN :	Acide Disoxy-ribo Nuclotide
AIA :	Acide indole acétique
ARN :	Acide Ribo-Nuclotide.
ATP :	Adénosine tri-phosphate.
BN :	Bouillon Nutritif.
EPE :	Eau Peptonnée Exemple d'indole.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
GN :	Gélose Nutritive.
H₂O₂ :	Eau oxygénée.
MH :	milieu Mueller-Hinton.
ND :	Non Déterminé.
NR :	Nitrate Réductase.
OF :	Oxydatif et Fermentatif.
ONPG :	Ortho-Nitrophenyl-B-D-Galactopyranoside.
PGPR :	Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (<i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i>).
pH :	Potentiel d'Hydrogène.
RM :	Rouge de Méthyle.
TSI :	milieu Triple Sugar Iron.
UI :	Urée Indole.
VOC :	Composées Volatiles Organiques (<i>Volatile Organic Compound</i>).
VP :	réactif Voges Proskauer.
HCN :	Cyanure d'Hydrogène.

Tableau I : Classification des Eubactériales sensulato	4
Tableau II : Principales caractéristiques des protistes inférieurs photosynthétiques	8
Tableau III : Systématique de ferrobactéries	10
Tableau IV : Bactéries responsables de la sulfo-oxydation	11
Tableau V : Les principaux genres d'Actinomycètes	13
Tableau VI : Milieux de culture utilisés	42
Tableau VII : Les appareils utilisés	44
Tableau VIII : Résultats de l'examen macroscopiques des souches bactériennes isolées après cultures sur milieu gélose nutritive (GN) à 37°C pendant 72 heures	60
Tableau IX : Résultats de l'examen microscopique des souches bactériennes étudiées	63
Tableau X : Tableau d'identification biochimique des souches bactériennes isolées à partir de sol de pomme de terre	66
Tableau XI : Tableau d'identification biochimique des souches bactériennes isolées à partir du sol de tomate.....	67
Tableau XII : Tableau représentant le taux d'inhibition de la croissance mycélienne par confrontation directe	69
Tableau XIII : Tableau représentant le taux d'inhibition de la croissance mycélienne en application VOC.....	74
Tableau XIV : Tableau représentant le taux d'inhibition en fonction du pH du milieu	77
Tableau XV : Résultats de la hauteur des plants de tomates après inoculation par <i>Pseudomonas</i> sp	80

Figure 1 : <i>Botrytis cinerea</i> sur le fruit de la framboise	18
Figure 2 : Mildiou de la tomate	20
Figure 3 : Attaque de mildiou sur feuillage de pomme de terre.....	21
Figure 4 : Les symptômes de la rouille du café causés par <i>Hemileia vastatrix</i> sur le feuillage	21
Figure 5 : Action systémique du fongicide	25
Figure 6 : Action du fongicide par contact.....	25
Figure 7 : Action du fongicide par pénétration	25
Figure 8 : Modes d'action biochimiques des fongicides céréales	26
Figure 9 : Carte de la localisation des régions d'échantillonnage.....	45
Figure 10 : Photos des échantillons prélevés.....	46
Figure 11 : Aspect de quelques souches bactériennesensemencées sur milieu GN (Gélose Nutritive)	61
Figure 12 : Coloration de Gram de la souche 3 montrant la présence des spores dans les cellules bactériennes.....	65
Figure 13 : Photos des champignons observés sous microscope photonique au grossissement 400.....	68
Figure 14 : Photos des résultats d'antagonisme fongique <i>in vitro</i>	70
Figure 15 : Représentation graphique des taux d'inhibition de la croissance mycélienne par confrontation directe	71
Figure 16 : Photos des résultats d'antagonisme par production de substances volatiles	74
Figure 17 : Représentation graphique des taux d'inhibition fongique par application VOC ...	75
Figure 18 : Photos illustrant l'effet du pH du milieu sur l'antagonisme fongique <i>in vitro</i>	78
Figure 19 : Effet du pH du milieu sur l'activité antagoniste du <i>Pseudomonas</i> sp. vis-à-vis des trois champignons phytopathogènes	79
Figure 20 : Photos illustrant l'effet de l'application de <i>Pseudomonas</i> sp. sur la croissance des plants de tomate.....	81
Figure 21 : Représentation graphique de la croissance des plants de tomate après inoculation par <i>Pseudomonas</i> sp.	82

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	
Chapitre 1: Les Bactéries du Sol	
1. Les Eubactérialessensu-lato (Eubactéries)	3
2. Les protistes inférieurs	9
2.1. Les Chlamidiobactériales	9
2.2. Les Beggiatoriales	9
2.3. Les Myxobactériales	9
2.3.1. Base de la classification des Myxobactériales	9
3. Les Actinomycètes	12
3.1. Classification	12
3.1.1. Les Mycobactériacées	12
3.1.2. Les Actinomycétacées	12
3.1.3. Les Actinoplanacées	14
Chapitre 2 : Les champignons phytopathogènes	
2.1. Généralités	15
2.2. Relation hôte-pathogène	16
2.2.1. Réaction compatible	16
2.2.2. Réaction incompatible	16
2.3. Les principaux genres de champignons phytopathogènes	16
2.4. Les maladies des plantes provoquées par les champignons phytopathogènes	17
2.4.1. Le flétrissement et le dessèchement	17
2.4.2. Les pourritures	17
2.4.3. Les chancre	18
2.4.4. Les nécroses	19
2.4.5. Les hypertrophies et hyperplasie	19
2.4.6. Les exsudations	19
2.4.7. Les changements de colorations et les tâches	20
Chapitre 3 : Les moyens de lutte	
3.1. La lutte chimique	23
3.1.1. Historique	23
3.1.2. Les fongicides	23
3.1.2.1. Action des fongicides au niveau des plantes	24
3.1.2.1.1. Les fongicides systémiques	24
3.1.2.1.2. Les fongicides de contact ou de surface	24
3.1.2.1.3. Les fongicides pénétrants	24
3.1.2.2. Mode d'action des fongicides face aux champignons pathogènes	26
3.1.2.2.1. Classement des fongicides selon leur mode d'action	27

3.1.2.3. Action des fongicides sur le développement de la maladie	27
3.1.3. Conséquences de la lutte chimique	28
3.1.3.1. Résistance des champignons pathogènes aux fongicides.....	28
3.1.3.2. Phytotoxicité.....	28
3.1.3.3. Effets négatifs des traitements répétés des fongicides sur l'environnement.....	28
3.1.3.3.1. Effet sur les organismes vivants.....	28
3.1.3.3.2. Effet sur les eaux	29
3.1.3.3.3. Effet sur l'écosystème	30
3.1.3.3.4. Effet sur la santé humaine	30
3.2. La lutte biologique	31
3.2.1. Définition	31
3.2.2. Historique de la lutte biologique	32
3.2.3. L'antagonisme.....	32
3.2.3.1. Production de substances inhibitrices ou toxiques.....	33
3.2.3.1.1. Substances à structure chimique simple	34
3.2.3.1.2. Antibiotiques	34
3.2.3.1.3. Enzymes lytiques	35
3.2.3.2. Le parasitisme	35
3.2.3.3. L'interférence hyphale	36
3.2.3.4. Mycostase ou fongistase.....	36
3.2.3.5. Compétition nutritive et spatiale	36
3.2.3.6. La prémunition	38
3.2.4. Produits commercialisés.....	39
3.2.5. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)	40
3.2.4.1. Interaction directes PGPR/Pathogène	40

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1.1. Matériel	42
1.1.1. Champignons test utilisés	41
1.1.2. Milieux de culture	41
1.1.3. Solutions et réactifs	42
1.1.4. Appareillage	43
1.2. Méthodes	43
1.2.1. Echantillonnage	43
1.2.2. Suspensions et dilutions	44
1.2.3. Isolement et purification des souches bactériennes.....	46
1.2.3.1. Ensemencement.....	46
1.2.3.2. Purification des souches bactériennes	46
1.2.3.3. Observation sous microscope des champignons tests	46
1.2.3.4. Conservation des souches bactériennes.....	46
1.2.4. Identification des souches bactériennes	46
1.2.4.1. Critères morphologiques	47
1.2.4.1.1. Examen macroscopique.....	47
1.2.4.1.2. Examen microscopique	47

1.2.4.2. Critères biochimiques.....	48
1.2.4.2.1. Etude des enzymes respiratoires.....	48
1.2.4.2.1.1. Test de catalase.....	48
1.2.4.2.1.2. Test d'oxydase.....	48
1.2.4.2.1.3. Nitrate réductase.....	49
1.2.4.2.2. Etude du type respiratoire	49
1.2.4.2.3. Etude de l'utilisation du citrate de sodium comme source de carbone	50
1.2.4.2.4. Etude des réactions catabolique	50
1.2.4.2.4.1. Métabolisme des glucides	50
1.2.4.2.4.1.1. Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides (MEVAG)	50
1.2.4.2.4.1.2. Etude des dérivés de l'acide pyruvique.....	51
1.2.4.2.4.1.3. Etude de la fermentation des glucides.....	52
1.2.4.2.4.1.4. Etude de la fermentation du mannitol	52
1.2.4.2.4.1.5. Recherche de la β -galactosidase (ONPG)	53
1.2.4.2.4.2. Métabolisme des protides.....	53
1.2.4.2.4.2.1. Recherche de l'uréase.....	53
1.2.4.2.4.2.2. Recherche de la production d'indole.....	53
1.2.4.2.5. Test de confirmation par hydrolyse de la gélatine	54
1.2.5. Etude de l'effet antagoniste des bactéries	54
1.2.5.1. Etude <i>in-vitro</i>	54
1.2.5.1.1. Potentiel antagoniste des bactéries (confrontation directe)	54
1.2.5.1.2. Antagonisme fongique par production des substances volatiles (confrontation indirecte)	55
1.2.5.1.3. Effet du pH sur l'activité antifongique.....	56
1.2.5.2. Etude <i>in-vivo</i>	56
1.2.5.2.1. Stimulation de la croissance des plants de tomate <i>in vivo</i> par <i>Pseudomonas</i> sp.....	56
1.2.6. Analyse statistique des données	58

Chapitre 2 : Résultats et discussion

2.1. Isolement et identification des souches bactériennes	59
2.1.1. Résultats des critères morphologiques	59
2.1.1.1. Examen macroscopique.....	59
2.1.1.2. Examen microscopique	62
2.1.2. Résultats des critères biochimiques.....	65
2.1.3. Résultats des tests de confirmation des souches bactériennes	68
2.1.4. Résultats de l'observation microscopiques des trois champignons tests	68
2.2. Antagonisme <i>in-vitro</i>	69
2.2.1. Potentiel inhibiteur des bactéries antagonistes.....	69
2.2.2. Action des substances volatiles	73
2.2.3. Effet du pH du milieu sur l'activité antagoniste des bactéries.....	77
2.3. Stimulation de la croissance de la plante de tomate <i>in-vivo</i> par <i>Pseudomonas</i> sp.....	80
Conclusion	85

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Les plantes subissent les attaques de nombreux bio-agresseurs. Parmi eux, les champignons pathogènes causent des maladies sur tous les organes des plantes. Ils appartiennent à de nombreux genres et espèces des différents phylums de champignons vrais et plus largement aussi au phylum des oomycètes (LEPOIVRE, 2003). Pour diminuer les pertes de rendement occasionnées sur les plantes d'intérêt agricole, des méthodes de lutte classique, comme l'utilisation de la résistance des plantes et l'application de fongicides, sont déployées. Leurs limites d'efficacité sont maintenant connues. Elles sont dues en grande partie aux difficultés d'application des fongicides par ailleurs potentiellement néfastes pour l'environnement et pour la santé, à l'évolution des populations des agents pathogènes sous différentes pressions de sélection.

Les maladies fongiques d'origine tellurique ont concentré l'intérêt des chercheurs pour la connaissance de communauté microbienne associée. Plus que tout autre environnement, le sol est le siège de compétitions microbiennes dues à la richesse biologique rencontrée. L'ampleur de cette compétition s'intensifie au voisinage des racines ou zone rhizosphérique de part l'apport de substrats carbonés par la plante. Le pathogène n'est donc jamais seul à interagir avec la plante. Mais c'est d'abord l'observation de la capacité de certains sols à réprimer l'expression de maladies qui conduit à impliquer fréquemment les bactéries non-pathogènes (COOK et ROVIRA, 1976). Ces souches bactériennes présentant pour la plupart des propriétés antagonistes vis-à-vis des champignons pathogènes ont très vite acquis un statut de vedette comme agent de lutte biologique. Les souches les plus étudiées relèvent des genres *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Sreptomycetes* spp. Depuis, l'inventaire s'élargit régulièrement à d'autres genres bactériens.

Les méthodes antifongiques disponibles à l'heure actuelle ne réunissent pas les critères définissant l'antifongique idéal : toxicité spécifique vis-à-vis du champignon pathogène, large spectre d'activité, absence de problèmes liés à l'apparition de souches résistantes et absence d'effets secondaire (BADJI *et al.*, 1983). Les fongicides chimiques peuvent contaminer l'environnement de par leur haute toxicité, et se retrouver sur les produits finis (fruits), et induire à la longue une résistance du pathogène (MOENNE-LOCCOZ *et al.*, 1998). Le traitement chimique représente une solution de facilité, qui correspond aussi au besoin d'absolu de l'homme désirant un résultat rapide et total. La lutte biologique au contraire n'a qu'une efficacité relative et demande davantage de connaissance et d'observations, mais à long terme, elle est plus intéressante sur tous les plants.

Plusieurs recherches ont montré que les rhizobactéries dites PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria) ont des effets bénéfiques sur les plantes, ces dernières peuvent procurer à la plante l'azote sous forme d'ammonium par leurs associations avec le blé (KENNEDY *et al.*, 2006). De plus, ces PGPR peuvent aussi synthétiser les hormones de croissance (phytohormones) pour stimuler la croissance de la racine et aussi la plante (BACA et ELMERICH, 2007).

Nous avons fixé comme objectif dans ce travail, l'isolement et la pré-identification de souches bactériennes à partir de deux sols de la région de Tizi-Ouzou. En second lieu, nous avons étudié l'effet antagoniste de ces souches bactériennes sur les 3 agents phytopathogènes : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp., et ceci par des confrontations *in vitro* et à l'aide de deux différentes méthodes (directe et indirecte). Une deuxième série d'essais *in vivo* afin d'apprécier l'effet stimulateur de la croissance des souches vis-à-vis de plantes tests (tomate).

Ce travail a pour finalité de contribuer à l'étude des effets antagonistes des bactéries rhizosphériques vis-à-vis des champignons phytopathogènes, d'étudier leurs effets sur la croissance des plantes via bactérisation.

Un grand nombre de microorganismes vivent dans le sol. On compte les virus, les bactéries, les champignons, les protozoaires et les algues. Les bactéries sont les organismes les plus nombreux et représentent en moyenne $6 \cdot 10^8$ cellules par gramme de sol et un poids de 10000 kg/ha équivalent à 5% du poids sec des composés organiques du sol (CHERIF, 2014). L'abondance des bactéries dans le sol s'explique par leur multiplication rapide et leur capacité à utiliser une grande variété de substrats comme sources d'énergie et d'éléments nutritifs (CHERIF, 2014). Ainsi, on peut trouver des bactéries dont les conditions d'existence s'excluent mutuellement, comme dans le cas des aérobies strictes et des anaérobies strictes ; elles peuvent parfois cohabiter à des distances d'une fraction de millimètres.

On admet généralement que des conditions aérobies sont meilleurs pour les sols et les bactéries qu'ils abritent (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

➤ **Les Eubactériales *sensu-lato*** : appelées aussi Eubactéries qui se subdivisent en deux ordres :

-Les Pseudomonadales qui se subdivisent essentiellement en 03 grands groupes : Pseudomonadales phototrophes, Pseudomonadales chimiolithotrophes et Pseudomonadales chimio-organotrophes (voir le tableau I).

-les Eubactériales *sensu stricto* subdivisé en 9 différentes familles : Azotobactériacées, Rhizobactériacées, Achromobactériacées, Entérobactériacées, Micrococcacées, Brevibactériacées, Lactobacillacées, Corynébactériacées, Bacillacées (voir le tableau I).

➤ **Les protistes inférieurs** : Que l'on range habituellement à côté des Eubactériales, à savoir :

- Les chlamidobactériales ou bactéries ferrugineuses filamenteuses.
- Les Beggiatoriales ou bactéries sulfureuses filamenteuses.
- Les Myxobactériales.

➤ **Les Actinomycètes** : qui se subdivisent en :

- Les Mycobactériacées.
- Les Actinomycétacées.
- Les Streptomycétacées.
- Les Actinoplanacées.

1. Les Eubactériales *sensu-lato* (Eubactéries)

➤ **Classification taxonomique**

Le tableau I, représente la classification simplifier des Eubactéries.

Tableau I : Classification des Eubactériales *sensu-lato* (DOMMERGES et MANGENOT, 1970).

Groupe	Famille	Principaux caractères distinctifs	Principaux genres vivants dans le sol
Pseudomonadales phototrophes (bactéries photosynthétiques).	Thiorhodacées	Renferment des sulfures.	<i>Chromatium.</i>
	Athiorhodacées	Renferment des composés organiques.	<i>Rhodospirillum.</i>
	Chlorobactériacées	Renferment des sulfures. (Voir le tableau II).	<i>Chlorobium.</i> (Voir le tableau II).
Pseudomonadales chimiolithotrophes (sauf exception)	Nitrobactériacées	Bâtonnets, Gram négatifs, Aérobie ; tirant leur énergie de l'oxydation : -de l'ammoniac en nitrite : bactéries nitrosantes ; -de nitrite en nitrate : Bactéries nitratantes.	<i>Nitrosomonas</i> <i>Nitrobacter</i>
	Thiobactériacées	Bâtonnets droits, Gram négatifs, sulfureuses, incolores, tirent leur énergie de l'oxydation du soufre élémentaire ou des composés minéraux réduit du soufre.	<i>Thiobacillus</i>
	Méthanomonadacées	Bâtonnets, Gram négatifs, chimiolithotrophes, tirent leur énergie de l'oxydation -du méthane ; -de l'hydrogène ; -de l'oxyde de carbone.	<i>Methanobacterium</i> <i>Methanobrevibacter</i>

(Suite Tableau I) : Classification des Eubactériales *sensu-lato* (DOMMERGES et MANGENOT, 1970).

Groupe	Famille	Principaux caractères distinctifs	Principaux genres vivants dans le sol
Pseudomonadales chimiolithotrophes (sauf exception)	Caulobactériacées et Sidérocapsacées	Bactéries appartenant au groupe des ferrobactéries et oxydant le fer ferrique : Parfois chimiolithotrophes facultatifs et chimio-organotrophes.	<i>Caulobacter.</i> <i>Siderocapsa.</i> (Voir le tableau III).
Pseudomonadales chimio-organotrophes	Pseudomonadacées	Bâtonnets droits, aérobies et produisent souvent des pigments hydrosolubles ou non qui diffusent dans le milieu.	<i>Pseudomonas</i> <i>Xanthomonas</i> <i>Acetobacter</i> <i>Azotomonas</i>
	Spirillacées	Bâtonnets ou courbés ou en hélice ; forment souvent des chaînettes Aérobie { -forme en virgule ; - Bâtonnets courbés ; long et mince cellulolytique ; - Bâtonnets courts cellulolytiques	<i>Vibrio</i> <i>Cellvibrio</i> <i>Cellfalcicula</i>
			Bâtonnets courts, aérobie stricts tirant leur énergie du couplage de l'oxygène ; de certains substrats organiques et parfois d'hydrogène gazeux avec la réduction du sulfate en hydrogène sulfuré. -longues cellules hélicoïdales.

(Suite Tableau I) : Classification des Eubactériales *sensu-lato* (DOMMERGES et MANGENOT, 1970).

Famille	Principaux caractères distinctifs	Principaux genres vivants dans le sol
Azotobactériacées	Gram négatifs, fixant l'azote moléculaire en présence du substrat carboné.	<i>Azotobacter</i> <i>Beijerinckia</i> <i>Derxia</i>
Rhizobactériacées	Batonnetes généralement Gram négatifs ; -Symbiotiques (légumineuses) aérobies ; -Saprophytes anaérobies facultatifs et produisant des pigments violets ; -Saprophytes ou parasites, anaérobies facultatifs, ne produisent pas des pigments.	<i>Rhizobium</i> <i>Chromobacterium</i> <i>Agrobacterium</i>
Achromobactériacées,	Bâtonnets Gram négatifs à faible pouvoir fermentaire vis-à-vis des hydrates de carbone. -Ne produisant pas de pigments ; -Produisant des pigments jaunes ou oranges.	<i>Achromobacter</i> <i>flavobacterium</i>
Entérobactériacées	Bâtonnets Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, fermentant activement les hydrates de carbone.	<i>Escherichia</i> <i>Proteus</i> <i>Acrobacter</i> <i>Serratia</i>
Micrococcacées	Cocci sphérique Gram positif. -Cellule en paquets irréguliers ou en tétrades produisant quelques fois des pigments jaunes, oranges ou rouges. -Cellules en paquets cubiques (division dans trois plans perpendiculaires).	<i>Micrococcus</i> <i>Sarcina</i>

(Suite Tableau I) : Classification des Eubactériales *sensu-lato* (DOMMERGES et MANGENOT, 1970).

Famille	Principaux caractères distinctifs	Principaux genres vivants dans le sol
Brevibactériacées	Bâtonnets Gram positifs, quelques fois de morphologie coccoides ou filamenteuses souvent pigmentés, aérobies ou anaérobies facultatifs.	<i>Brevibacterium</i>
Lactobacillacées	Gram positifs effectuant une fermentation lactique des sources, microaérophiles ou aérobies. -Cocci en chainettes (division dans un seul plan) ; -Bâtonnets droits et minces.	<i>Streptococcus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Lactobacillus</i>
Corynébactériacées	Bâtonnets Gram positifs de morphologies irrégulières ; cellules souvent disposées en rangées parallèles ou opposées en V en raison d'un type de division particulier ; surtout aérobies ; pouvoir fermentaires souvent médiocre ; présentant une certaine parenté avec les Mycobactériacées.	<i>Corynebacterium</i> <i>Cellulomonas</i> <i>Arthrobacter</i>
Bacillacées	Principales familles formant des endospores, gros bâtonnets droits Gram positifs souvent mobiles. -Aérobies ; a spores ovales dont le diamètre est inférieur à celui de la cellule végétative (<i>B. megaterium</i> ; <i>B. cerus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. licheniformis</i>) ou supérieur (<i>B. macerans</i> , <i>B. polymix</i>) ou spores sphériques (<i>B. pasteurii</i>). -Anaérobies stricts, cellules en générale déformées par la spore qui peuvent être terminale ou subterminale, sphériques ou ovale ; de nombreuses espèces fixent l'azote atmosphérique.	<i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i>

Les différents genres sont très inégalement représentés dans les divers types pédologiques. Parmi les bactéries qui dominent, on signalera plus particulièrement les *Pseudomonas* ; les bactéries sporulantes et notamment les *Bacillus* ; les bactéries corynéformes et notamment les *Arthrobacter*. Les genres *Clostridium*, *Achromobacter*, *Micrococcus* ; *Xanthomonas*, *Chromobacterium* ; et *Sarcina* sont relativement bien représentés.

Les micro-organismes sont impliqués dans la fixation de l'azote (*Rhizobium*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Azotomonas*) et surtout ceux qui interviennent dans la nitrification (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter*) représentent, dans bien des cas, une faible fraction de l'ensemble des populations bactériennes ; elles n'en jouent pas moins un rôle très important (ALEXANDER, 1961).

1. Les protistes inférieurs

1.1 Les Chlamidobactériales (bactéries ferrugineuses filamenteuses)

La différence immanente entre les Chlamidobactériales et les Eubactéries est la présence de la gaine dans le présent ordre (Tableau III). Les Chlamidobactériales sont essentiellement aquatique, particulièrement répandues dans certaines sources, dans les eaux et les boues de marais ou d'étangs ou elles oxydent le fer ferreux en hydroxyde ferrique et de là on reconnaît le rôle de cet ordre dans le cycle du fer.

1.2 Les Beggiatoriales (bactéries sulfureuses filamenteuses)

La différence principale avec l'ordre des Chlamidobactériales est le fait qu'elles oxydent les formes réduites du soufre en soufre élémentaire puis en sulfate 3 les bactéries responsables de la sulfo-*oxydation* sont représentées dans le tableau IV.

1.3 Les Myxobactériales

Elles sont très proches des Eubactériales ; les Myxobactériales (Slim bacteria, des auteurs anglo-saxons), en diffèrent cependant par deux caractères : (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

- Leur mobilité très particulière n'est pas due à des flagelles (ces microorganismes en sont dépourvus) mais correspond à une sorte de reptation au contact des surfaces solides.
- Leur flexibilité est due à la finesse de leur paroi cellulaire.

Tableau III : Systématiques des ferrobactéries (ALEXANDER, 1961).

Ordre	Famille	Principales caractéristiques		Principaux genres
Pseudomonadales (proteobactéries)	Caulobactériacées	Bactéries Gram négatifs en bâtonnets, essentiellement aquatiques, non filamenteuses reliées au substratum par un pédoncule (site d'accumulation de l'hydroxyde de fer) ou flottant en zoogées à la surface de l'eau.		<i>Caulobacter</i> <i>Gallionella</i> <i>Siderophacus</i>
	Sidérocapsacées	Bactéries Gram négatifs en bâtonnets, sphériques ou ellipsoïdales.	Capsule renfermant des sels de fer et de magnésiums.	<i>Siderocapsa</i> <i>Siderosphaera</i> <i>Ferribacterium</i> <i>Naummaniella</i> <i>Ochrobium</i> <i>Sidromonas</i> <i>Sidronema</i>
			Pas de capsule	<i>Ferrobacillus</i> <i>Siderobacter</i> <i>siderococcus</i>
	Chlamydobactériacées	Bactéries filamenteuses enfermées dans une gaine souvent imprégnée de sels, ferriques ou manganique ; ressemblent à des algues.		<i>Leptothrix</i> <i>Sphaerotilus</i> <i>Toxothrix</i>
Chalmydobactériales (bactéries ferrugineuses filamenteuses)	Crénothrichacées	Famille très proches des Chalmydobactériacées mais différent par l'absence de mobilité des conidies.		<i>Crenothrix</i> <i>Clonothrix</i>

Tableau IV : Bactéries responsables de la sulfo-oxydation (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

	Familles ou groupes	Principaux genres	Exigence vis-à-vis de l'oxygène	Sols habités
Autotrophes Photosynthétiques (photolithotrophes)	Chlorobactériacées (bactéries sulfureuses vertes)	<i>Chlorobium</i>	anaérobies	hydromorphes
	Thiorthodacées (bactéries sulfureuses pourpres)	<i>Chromatium</i> <i>Thiocystic</i> <i>Lamprocystic</i> <i>Thiospirillum</i>	anaérobies	hydromorphes
Autotrophes non Photosynthétiques (chimiolithotrophes)	Beggiatoacées	<i>Beggiatoa</i> <i>Thioplaca</i> <i>Thiothrix</i> <i>Thiospirillopsis</i>	anaérobies	hydromorphes
	Thiobactériacées	<i>Thiobacillus</i>	Aérobies à l'exception de <i>Thiobacillus denitrificans</i> (anaérobies facultatif).	Exondés et parfois hydromorphes
Hétéromorphes	Genres divers dont <i>Pseudomonas</i> <i>Micrococcus</i>		Aérobies et semi-aérobies.	Exondés et hydromorphes

2.13. Base de la classification des Myxobactériales

Selon le cycle végétatif on distingue deux groupes de Myxobactériales.

➤ **Myxobactériales avec fructification et cellules de repos**

Pendant la phase végétative, les cellules sont indépendantes ; mais à un certain moment elles s'associent pour former des organes de fructification constitués de microkystes ; petits, arrondis qui sont des organes de repos. Parmi les genres les plus connus dans le sol on citera : *Myxococcus*, *Chondrococcus*, *Archangium*, *Polyangium* et *Sarangium*.

➤ **Myxobactéries sans fructification ni cellules de repos**

Elles sont pour la plupart, spécialisées dans la cellulolyse et chitinolyse et sont représentées par le genre *Cytophaga*.

2. Les Actinomycètes

On définit sous ce nom les Eubactéries Gram positif à structure végétative de type mycélien.

2.1 Classification

Elles sont subdivisées, en générale en quatre familles (tableau V).

2.1.1 Les Mycobactériacées

Ils se différencient de toutes les autres bactéries et des autres Actinomycètes, à l'exception de certaines *Nocardia* ; par leurs acido-résistances

(alcoolo-acido-résistance). Une certaine famille est présentée par le genre *Mycobacterium* qui renferme plusieurs espèces pathogènes dont la plus connus *M.tuberculosis*.

2.1.2 Les Actinomycétacées (ou Proactinomycètes)

Cette famille représentée par les genres *Nocardia* et *Actinomyces*, occupe une position intermédiaire entre la première famille Mycobactériacées (caractérisée par une structure bactérienne) et la troisième famille les Stréptomycétacées (caractérisée par une structure pseudomycélienne).

Tableau V : Les principaux genres d'Actinomycètes (STANIER *et al.*, 1966).

Familles	Développement mycélien	Mode de reproduction	Acido-résistance	Autre caractères	Genres
Mycobactériacées	Transitoire limité	Scission binaire	+	/	<i>Mycobacterium</i>
Actinomycétacées (proactinomycètes)	Extensif	Fragmentation massive des hyphes	+ -	Aérobies	<i>Nocardia</i>
	Extensif	Fragmentation massive des hyphes	-	anaérobies	<i>Actinomyces</i>
Streptomycétacées	Extensif	Conidies	-	Conidies en chainettes	<i>Streptomyces</i>
	Extensif	Conidies	-	Conidies isolées ou en groupes	<i>micromonospora</i>
Actinoplanacées	Extensif	Sporangiospores mobiles	-	Formation de sporangs	<i>Actinoplanes</i>

Le genre *Nocardia* comprend de nombreuses espèces très répandues dans le sol. Ces espèces se rapprochent des *Mycobactériacées* tellurique par leurs caractères physiologiques.

Le genre *Actinomyces* ne représente aucun intérêt pour la microbiologie du sol, il est constitué d'espèces anaérobies ou microaérophiles parasites.

3.1.3 Les Actinoplanacées

Représentées par un seul genre : *Actinoplane* qui est aquatique ; de part son mycélium, il se rapproche du genre *Streptomyces* dont il diffère par la formation du sporange.

Tableau II : Principales caractéristiques des protistes inférieurs photosynthétiques (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

	Cyanophycées (algues bleu-vert)	Chlorobactériacées (bactéries sulfureuses vertes)	Bactéries pourpres	
			Thiorhodacées (bactéries sulfureuses pourpres)	Athiorhodacées (bactéries non sulfureuses pourpres)
Habitat	Ne renfermant pas de sulfure ; les composés organiques sont inutiles.	Renfermant des sulfures.	Renfermant des sulfures.	Renfermant des composés organiques.
Besoin en oxygène	Aérobies.	Anaérobies.	Anaérobies.	Anaérobies et parfois aérobies facultatifs.
Photosynthèse avec production d'oxygène	+	-	-	-
Type de chlorophylle	Chlorophylle a.	Chlorophylle <i>Chlorobium</i> .	Bactéριο-chlorophylle.	
Présence phycobiline	+	-	-	-
Fixation d'azote moléculaire	Démontrée chez de nombreuses espèces.	Démontrée chez certains <i>Chlorobium</i> .	Démontrée chez certains <i>Chromatium</i> .	Démontrée chez certains <i>Rhodospirillum</i> <i>Rhodopseudomonas</i> <i>Rhodomicrobium</i> .
Sulfo-oxydation	-	+	+	+

2.1. Généralités

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes. Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des *eumycocètes* ou « champignons vrais » : *ascomycètes*, *basidiomycètes*, *chytridiomycètes*, *zygomycètes* et *deutéromycètes* (champignons imparfaits). Les agents pathogènes responsables de maladies cryptogamiques comprennent aussi des protistes *plasmodiophoramycètes*, dont les genres les plus importants sont *Plasmodiophora* et *Spongospora*, et oomycètes, qui comprennent notamment la famille des *Peronosporaceae* (agents des mildious) (ANONYME, 2005). Les champignons sont responsables de près de la moitié des maladies connues à ce jour chez les plantes cultivées (LEPOIVRE, 2003). Ils sont à eux seuls responsables de 70% de pathologie végétale. Par conséquent, des pertes notables, comprises entre 10 % et 30 % ou plus, variables entre cultures et entre continents (ESQUERRE-TUGAYE, 2001).

Les champignons phytopathogènes sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante. La plupart des champignons possèdent deux modalités de reproduction : la reproduction asexuée (dite « imparfaite » ou végétative) et la reproduction sexuée (dite « parfaite ») (LEPOIVRE, 2003).

La phytopathologie ou étude des maladies des plantes n'est cependant pas ancienne en tant que science. Dans un premier temps les savants ont décrit les différentes maladies et les agents infectieux, éventuellement les moyens de les combattre. Ce n'est qu'ensuite que les études furent entreprises sur les mécanismes d'infection, les relations hôte-parasite, sur la physiologie, les phénomènes de sensibilité ou de résistance et bien d'autres sujets qui forment l'essence même de la phytopathologie (CORBAZ, 1990).

Les maladies des plantes sont aussi vieilles que l'agriculture. En effet, dès son origine, l'agriculture créa des conditions favorables aux maladies des plantes cultivées en concentrant des populations de plantes sur des surfaces limitées et en effectuant des cultures successives de la même plante (XHAARD, 2011). Celles-ci sont à l'origine de pertes de rendement qui entraînent des pertes économiques, voire des famines dans les cas les plus dramatiques. Le cas le plus tristement célèbre est celui de l'introduction en Europe en 1844 de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, puis de la Grande Famine Irlandaise de 1845 à 1852, qui fit près d'un million de morts et poussa deux millions d'Irlandais à émigrer vers d'autres continents.

Encore aujourd'hui, la principale maladie du riz, la pyriculariose causée par *Magnaportheoryzae*, cause des pertes mondiales annuelles équivalentes à l'alimentation de 60 millions de personnes. De même, une nouvelle souche de rouille noire du blé apparue en Ouganda en 1999 représente une nouvelle menace de famine dans certains pays d'Asie (XHAARD, 2011).

2.2. Relation hôte-pathogène

Le processus d'infection d'une plante par un pathogène débute en générale par des échanges de signaux moléculaires. Dès contact, l'entrée se fait par des ouvertures naturelles (stomates, lenticelles, ...), des blessures (poils cassés, dégâts du gel, ...) ou par attaque de la couche protectrice (cutinases et pectinases, injection par vecteur). Des échanges moléculaires s'opèrent également lors de cette contamination pénétration. Le pathogène se multiplie ou non après une phase de latence, la colonisation se poursuit et des symptômes apparaissent. Deux types de relations peuvent s'établir : BIOTROPHE (le parasite exploite la cellule végétale sans la tuer) ou NECROTROPHE (destruction de la cellule végétale). Avant l'établissement de la relation parasitaire, « le dialogue » moléculaire qui s'engage entre parasite et plante aboutit à deux situations (LEPOIVRE, 2003) :

2.2.1. Réaction compatible

Le pathogène l'emporte, se multiplie de façon active et colonise l'hôte qui développe des symptômes plus ou moins prononcés en fonction de l'agressivité du parasite et de la résistance de la plante.

2.2.2. Réaction incompatible

Les réactions de défense de la plante sont efficaces et stoppent assez rapidement la multiplication du parasite.

2.3. Les principaux genres de champignons phytopathogènes

Selon une enquête internationale menée en 2012 auprès de mycologues par la revue *Molecular Plant Pathology*, les dix espèces ou genres de champignons phytopathogènes les plus importants, en tenant compte tant des aspects scientifiques qu'économiques. Ces organismes pathogènes, dont six sur dix attaquent plus spécifiquement les cultures de céréales, seraient les suivants (DEAN *et al.*, 2012).

1. *Magnapor theoryzae*, agent de la pyriculariose du riz ;
2. *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise ;
3. *Puccinia* spp., agents de rouilles affectant notamment les Poaceae (dont les céréales et plus particulièrement le blé) ;
4. *Fusarium graminearum*, agent de la fusariose du maïs et de la fusariose ou gale du blé ;
5. *Fusarium oxysporum*, agent de la fusariose vasculaire qui affecte de nombreuses plantes cultivées ;
6. *Blumeria graminis*, agent de l'oïdium des céréales ;
7. *Mycosphaerella graminicola*, agent de la septoriose du blé ;
8. *Colletotrichum* spp., agents des anthracoses affectant de nombreuses plantes, notamment arbres fruitiers, plantes maraîchères et ornementales, et causant des pertes post-récolte importantes chez les fruits et légumes entreposés ;
9. *Ustilago gomaydis*, agent du charbon du maïs et organisme modèle pour la recherche en phytopathologie et en génétique des plantes ;
10. *Melampsoralini*, agent de la rouille du lin, qui doit sa place dans le classement à son rôle de « système modèle » pour l'étude de l'immunité chez les plantes.

2.4. Les maladies des plantes provoquées par les champignons phytopathogènes

Chaque type de plante peut être affecté par une centaine de maladies. Ces maladies sont parfois regroupées par types de symptômes (flétrissement, pourriture, taches foliaires, rouilles...).

2.4.1. Le flétrissement et le dessèchement

Le flétrissement provient d'un déficit en eau ou d'un dysfonctionnement de la conduction du xylème par des parasites radiculaires ou vasculaires. Le flétrissement peut être brutal, ou progressif comme dans le cas de certaines trachéomycoses (maladies dues à un champignon colonisant le xylème), il peut être réversible ou irréversible (LEPOIVRE, 2003).

2.4.2. Les pourritures

Les pourritures procèdent d'une décomposition des tissus, qui fait suite à la dislocation des cellules résultant de l'altération enzymatique des pectines des lamelles mitoyennes (macération ou pourriture humide) (LEPOIVRE, 2003). Ces altérations peuvent être accompagnées de colorations anormales diverses, ainsi que l'apparition d'odeurs très mauvaises. Selon la couleur prise par les tissus affectés, on peut distinguer les pourritures

noires, blanches, brune, grise (*Botrytis cinerea* agent de la pourriture grise) (figure1) (MILLER *et al.*, 1995).

Souvent, les cellules meurent, les tissus perdent leur consistance et deviennent le siège d'une colonisation par des organismes secondaires, surtout des champignons et des bactéries (LEPOIVRE, 2003).



Figure 1 : *Botrytis cinerea* sur le fruit de la framboise (WILLIAMSON *et al.*, 2007).

2.4.3. Les chancres

On appelle chancre des lésions plus ou moins graves que provoquent sur les troncs et les branches des arbres fruitiers, pommiers, poiriers, pruniers, etc., des champignons parasites, corticoles, appartenant au genre *Necteria*.

Le chancre apparaît le plus souvent sur les rameaux jeunes. Le champignon introduit dans l'écorce par un traumatisme quelconque détermine d'abord de petites taches déprimées ; l'écorce, à cet endroit, dégénère et meurt. Autour de cette première manifestation de la maladie, l'écorce vivante réagit et forme un bourrelet subéreux de cicatrisation. Mais le mycélium ne meurt pas et attaque le bourrelet. Celui-ci, détruit à son tour, la plaie s'étend si bien que les chancres atteignent bien vite des tailles importantes, tant par la grosseur des bourrelets de cicatrisation hypertrophiés que par la profondeur des excavations formées.

C'est surtout le Pommier qui est sensible à cette maladie. Elle peut entraîner la mort de l'arbre en empêchant la sève de circuler librement dans les vaisseaux du liber. Les terrains humides, compacts, trop acides, très riches en azote prédisposent à la maladie (LHOSTE, 1947).

2.4.4. Les nécroses

Les nécroses correspondent à la mort des cellules. Elles apparaissent le plus souvent sur une aire limitée, mais elles peuvent parfois s'étendre à l'ensemble d'un organe, à des groupes d'organes ou encore se généraliser à tout la plante. Au niveau des feuilles, on observe des taches nécrotiques ou des nécroses des nervures ; les tiges présentent parfois des nécroses apicales (mort des extrémités), des nécroses corticales (chancres) ou des nécroses du tissu conducteur. Les racines nécrosées montrent souvent une coloration brune ou noire et entraînent la perte de turgescences de la plante (LEPOIVRE, 2003).

2.4.5. Les hypertrophies et hyperplasie

Ces termes désignent une croissance anormale de certains organes ou de la plante entière, suite à un accroissement des dimensions des cellules (hypertrophie), ou suite à une multiplication anormale de celle-ci (hyperplasie) (LEPOIVRE, 2003).

L'hypertrophie résulte d'une suralimentation sous l'effet d'un appel excessif d'élément nutritifs effectué par le parasite par ses sécrétions excitatrices spéciales (hormones). L'absorption dont bénéficie le cytoplasme a pour résultat d'accroître le volume de la cellule et l'amener à se diviser (hyperplasie). Ces phénomènes déterminent de nombreuses déformations pathologique sur les limbes ; enroulements, cloques, rugosités... ; sur les rameaux ou sur les racines (pustules, tumeurs et galles). Cette maladie est provoquée par : *plasmodiophora brassicae* (DAVET, 1996).

2.4.6. Les exsudations

Sont des sorties de substances plus ou moins liquides du corps des plantes.

Les exsudations peuvent résulter d'une action parasitaire. Un grand nombre de champignons sont susceptibles de les produire (*les Phytophthorées* et le genre *Ceratostomella*...), ils déterminent une désintégration profonde des tissus internes, toujours accompagnée d'une dislocation complète des cellules ; à leur action initiale, s'ajoute fréquemment des interventions bactériennes secondaires qui accentuent la liquéfaction et l'accompagnent d'odeurs nauséabondes.

Les magmas plus ou moins fluides, diversement colorés et contenant une proportion plus ou moins grande d'éléments tissulaires incomplètement décomposés exsudent à l'extérieur par des fissures traversant les tissus corticaux des tiges, des rameaux, des collets ou plus rarement des racines (ROGER, 1951).

2.4.7. Les changements de colorations et les tâches

Les changements de colorations peuvent être dus à des transformations dans la composition chimique des tissus de l'hôte ; ou à la pigmentation du parasite lui-même. Ces organismes s'attaquent essentiellement aux contenus cellulaires, mais conservent à peu près intact la structure et l'organisation des tissus. Leur pouvoir de désintégration des membranes étant très faible ou même nul, la dislocation des cellules ne se produit pas.

Les formes des taches et leurs contours sont très variables, elles sont observées sur les feuilles et les fruits. On leur donne communément les noms : rouille, charbon, mildiou... (TEVIOTDAL *et al.*, 2001).

Le mildiou : les feuilles jaunissent et se couvrent d'une efflorescence blanchâtre. La maladie se transmet d'une année à l'autre par des spores durables contenues dans les feuilles desséchées restant sur le sol. L'agent de la maladie est *Plasmoporanivea* (LHOSTE, 1947).

Powdery mildiou ou bien apparence poudreuse chez les champignons blancs, observées sur les feuilles et les fruits (figure 2 et 3), provoquée par *Uncinulanecatov* (ELLIS, 1994).

Downy mildiou ou aspect cotonneux, laineux et duveteux donné par le champignon, provoquée par : *Peronosporadestructor* et *Plasmosporaviticola* (ELLIS, 1995).



Figure 2 : Mildiou de la tomate (DANDURAND *et al.*, 2013).



Figure 3 : Attaque de mildiou sur feuillage de pomme de terre (DANDURAND *et al.*, 2013).

Le charbon : tous les organes floraux sont remplacés par une masse noir plus ou moins enveloppée d'une membrane brillante parcheminée. La masse noire n'est qu'un amas de chlamydospores de l'espèce *Ustilagonuda-tritici*. Entraînées par le vent (LHOSTE, 1947).

La rouille : il apparaît des pustules blanches sur les feuilles, les tiges et les inflorescences qui déforment plus ou moins et s'épaississent irrégulièrement. Cette maladie est due à *Albugo candida*.

On distingue les rouilles par la couleur de leur fructification. C'est ainsi que nous parlerons de la rouille noire des chaumes ; de la rouille brune et la rouille jaune des feuilles (figure 4) (LHOSTE, 1947).



Figure 4 : Les symptômes de la rouille du café causés par *Hemileiavastatrix* sur le feuillage(DANDURAND *et al.*, 2013).

Oidium : selon LHOSTE (1947) ; l'oidium ou Blanc des cucurbitacées, est une maladie due à deux champignons différents, *Erysiphepolygoni* (*Oidium erysiphoides*) et *Sphaerotheca humili* (*S. castagnei*). Les feuilles sont enveloppées d'un lacs grêle et délicat de filaments blanchâtres, dont les extrémités pénètrent par des suçoirs dans le limbe. Sous cette véritable toile, les feuilles attaquées ne tardent pas à dépérir.

3.1. La lutte chimique

3.1.1. Historique

Depuis la découverte de la bouillie bordelaise (fongicide à base de sulfate de cuivre et de chaux) par Millardet vers 1870, la protection des cultures par dépôt externes de substances fongicides s'est développée sur une échelle (ALLIOUI, 1997).

L'idée de lutter avec les produits chimiques contre les maladies des céréales est fort ancienne. Ainsi, en France, en 1930-1935, on utilisait l'acide sulfurique. D'autre part, aux USA des pulvérisations foliaires de sulfanate de calcium, de sulfamides de phényl hydrazine et de sels de Nickel ont montré des résultats encourageants contre certaines rouilles (LEROUX, 1973). Les études concernant la lutte chimique contre les rouilles du blé sont très récentes, bien qu'elles aient donné de bons résultats. Elle demeure la plus coûteuse de la céréaliculture (DICKSON, 1959 ; MOUSSAOUI *et al.*, 2001). Les composés organiques tels que les sels de nickels, le sulfate de zinc, les fongicides dithiocarbonates, le manébe, le mancozébe, et le zinebe ont donné de bons résultats sur la rouille brune du blé (ROWELL, 1985 ; LEROUX, 1973) et ils ont été employés avec succès au Japon (BELABID, 1993).

3.1.2. Les fongicides

Les fongicides représentent l'ensemble des substances chimiques qui tuent ou inhibent la croissance des champignons pathogènes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et les récoltes (ROCHER, 2004). Ils sont appelés aussi mycocides ou produits antifongiques, qui peuvent être de nature abiotique (produits chimiques) ou biotique (bactérie, champignon), les fongicides chimiques sont de loin les plus utilisés et sont le plus souvent de nature synthétique.

Aujourd'hui, les traitements fongicides offrent aux utilisateurs une gamme variée de produits ainsi que de nouvelles substances actives qui présentent une protection prolongée, un large spectre d'activité et un contrôle systémique des maladies (CALVEL *et al.*, 2005).

Les fongicides chimiques sont commercialisés sous l'une des formes suivantes : poudre mouillable, suspension concentrée, granule à disperser, concentré soluble ou liquide, tous se caractérisent par une ou plusieurs matières actives qui sont à l'origine même de l'efficacité de produit contre l'agent fongique.

Un fongicide peut ne pas être efficace si des précautions ne sont pas prises, la présence des débris organiques enfouis récemment et mal décomposés diminue l'efficacité des traitements

(DAVET, 1996). L'abus du bénomyl pour lutter contre la pourriture grise (*Botrytis cinerea*) en culture sous-abri peut entraîner, avec l'élimination d'une flore antagoniste, la multiplication des attaques dues aux *Phythium* et aux *Phytophthora*, insensible à ce fongicide (ROMING et SISSER, 1972). D'après DUVAL (1994), l'utilisation des fongicides chimiques n'est pas la solution idéale contre les maladies des plantes car leur efficacité est douteuse et les problèmes de résidus sur les fruits préoccupent un grand nombre de consommateurs.

3.1.2.1. Action des fongicides au niveau des plantes

Selon COUVREUR (2002), en fonction de leur comportement, les fongicides peuvent être répartis en trois catégories principales : de contact, pénétrants et systémiques :

3.1.2.1.1. Les fongicides systémiques

Les produits se déplacent dans la plante uniquement par le système vasculaire du xylème et/ou de phloème. Ils sont absorbés par les feuilles, les tiges ou les racines et sont ensuite répandus au niveau de toute la plante ce qui permet la protection des parties non traitées et celles émergées après l'application du fongicides (Figure 5) (COUVREUR, 2002).

3.1.2.1.2. Les fongicides de contact ou de surface

Ils demeurent au niveau du point d'application (ROCHER, 2004), présentant ainsi une activité antifongique de surface (au niveau de la cuticule) et ne subissent pas de transfert interne (Figure 6) (COUVREUR, 2002).

3.1.2.1.3. Les fongicides pénétrants

Le transfert se fait sans translocation par le xylème ou le phloème, ils sont absorbés par la feuille ou la partie racinaire sur laquelle ils ont été appliqués sans atteindre les autres feuilles ou organes (COUVREUR, 2002). Les parties qui ne reçoivent pas des traitements et celles nouvelles émergées, ne sont pas protégées (Figure 7) (REGNAULT-ROGER, 2005).

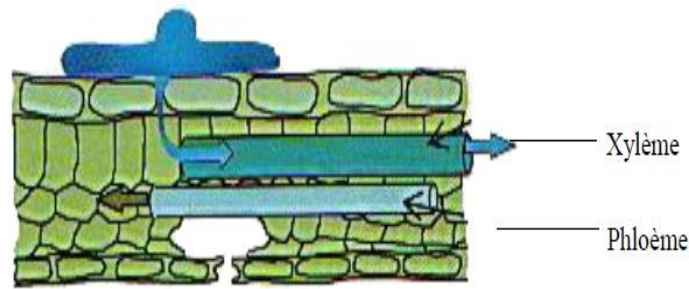


Figure 5 : Action systémique du fongicide (COUVREUR, 2002).

Pénétration par la cuticule, puis déplacement uniquement par la sève brute (xylème). La systématique vers le bout des feuilles est dite " ascendante ou acropète". L'élément "moteur " du déplacement est l'évapotranspiration

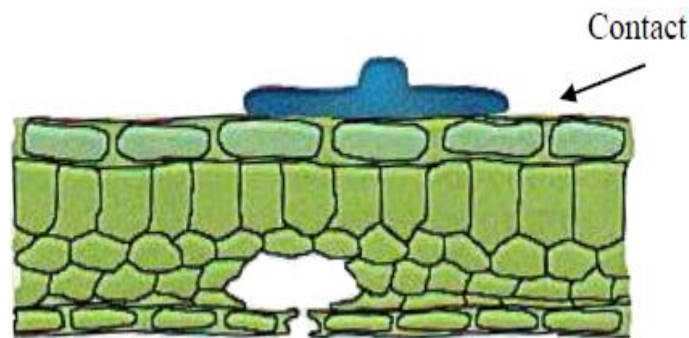


Figure 6 : Action du fongicide par contact (COUVREUR, 2002).

La matière active ne franchit pas la cuticule et agit uniquement sur les organes externes du champignon (spores-appressoria).

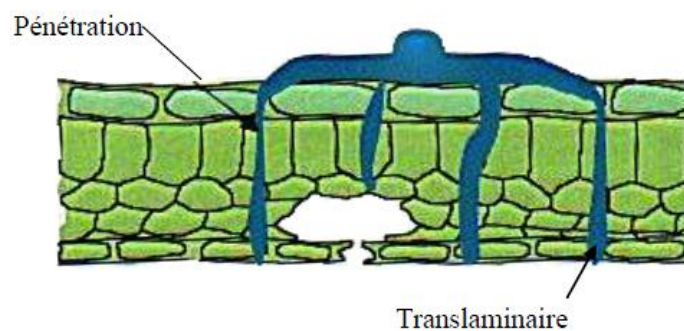


Figure 7 : Action du fongicide par pénétration (COUVREUR, 2002). Pénétration de la matière active vers les assises cellulaires sous-jacentes (produits pénétrants).

3.1.2.2. Mode d'action des fongicides face aux champignons pathogènes

Selon SIMON *et al.* (1994) et LEROUX *et al.* (1999), les principaux modes d'actions vont avoir des conséquences sur ces différents processus. Ils relèvent de la manière dont ils affectent et contrôlent les champignons pathogènes.

Les fongicides ont pour rôle :

- ✓ De perturber la respiration (activer la respiration sans production d'ATP) ;
- ✓ D'empêcher la synthèse des parois et plus particulièrement les stérols qui sont des composés lipidiques essentiels aux membranes cellulaires du champignon ;
- ✓ D'empêcher la réalisation de la mitose chez certains champignons.
- ✓ D'agir sur les précurseurs des acides nucléiques prenant la place des bases hétérocycles de l'ADN et de l'ARN (Figure 8).

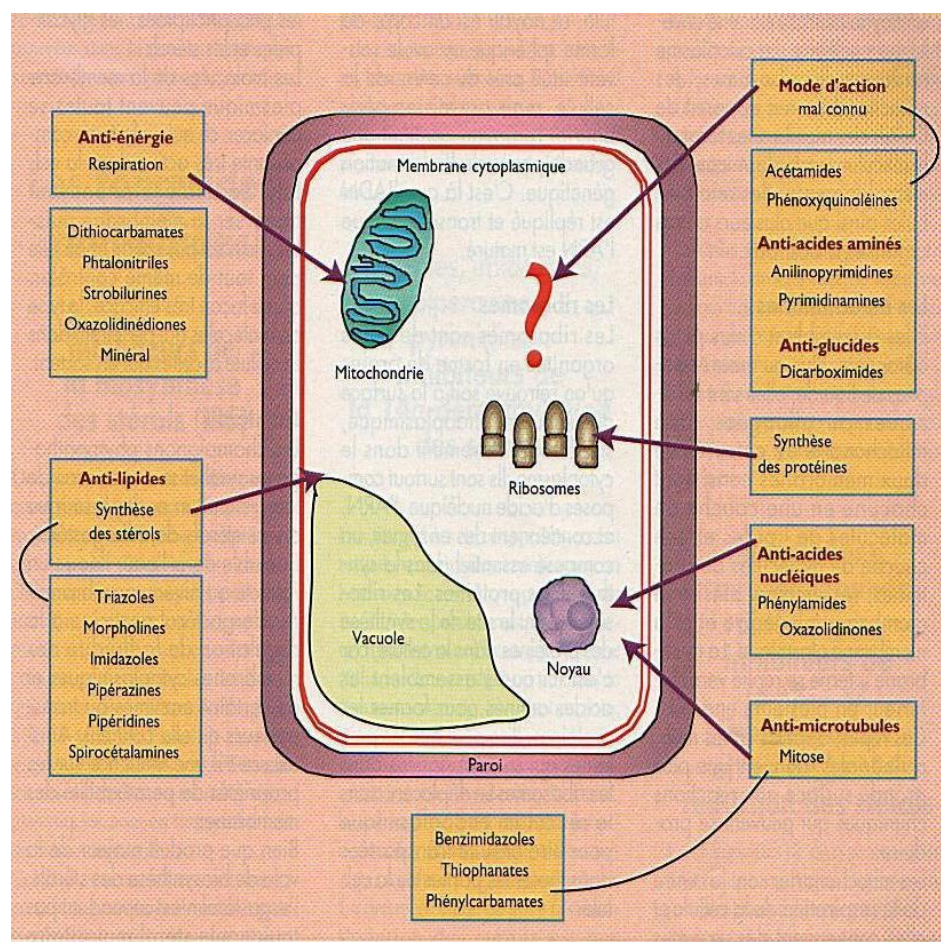


Figure 8 : Modes d'action biochimiques des fongicides céréales (COUVREUR, 2002).

3.1.2.2.1. Classement des fongicides selon leur mode d'action

COUVREUR (2002) et LEROUX (2002, 2003) classent les fongicides selon le mode d'action biochimique de la matière active envers les champignons pathogènes, les principaux modes d'action sont :

- Les fongicides anti-énergies qui affectent la respiration : Ils perturbent la respiration cellulaire par blocage des différentes étapes du catabolisme oxydatif, ainsi que la réduction de la production d'énergie. Exp. : - Multisites : dithiocarbamates, phtalonitriles, et autres - Complexe mitochondriales : strobilurines,
- Fongicides anti-glucides : Ils agissent sur les synthésases, les tréhalases, les polyols et osmorégulation). Exp : Dicarboximides, Phénylpyrroles, ...
- Fongicides anti-acides nucléiques, anti-acide- aminés et protéines.
- Fongicides anti-microtubules : ils bloquent la division nucléaire et l'élongation des hyphes mycéliens, en se liant aux microtubules du fuseau mitotique (LEROUX, 2003 ; REGNAULT-ROGER, 2005). En revanche, ils ont peu ou pas d'effet sur la germination des spores. Exp : Krésoxin-méthyl, triphloxystrobine et les pyriméthanolubiles.
- Fongicides anti-lipides : ils affectent la structure et le fonctionnement des membranes des champignons, ils sont inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (principalement ergostérol, composant essentiel de la membrane des cellules des champignons) (COUVREUR, 2002). Exp : Les Triazoles, les Imidazoles,

3.1.2.3. Action des fongicides sur le développement de la maladie

D'après COUVREUR (2002), le traitement par les fongicides peut être, selon le stade du développement de la maladie à traitement :

- Préventif, s'il intervient avant la pénétration du champignon en empêchant la germination des spores (REGNAULT-ROGER, 2005).
- Curatif, s'il est appliqué dès la pénétration en agissant sur un stade de développement plus avancé du champignon et empêchent celui-ci de coloniser le tissu végétal.
- Eradiquant, s'il inhibe l'incubation, la formation ou la dispersion des spores, arrêtant ainsi le processus épidémique en cours.

3.1.3. Conséquences de la lutte chimique

3.1.3.1. Résistance des champignons pathogènes aux fongicides

La résistance est la réduction de l'activité d'un fongicide chez une espèce fongique naturellement sensible à ce produit, suite à un changement génétique (CONFAIS, 2004). Il y a de plus en plus de travaux qui ont montré l'apparition de résistance, consécutive à l'usage répétée à grande échelle des fongicides systémiques unisites. C'est le cas des traitements au bénomyl, au méthylethiophanate, et au metalaxyl qui ont conduit à l'apparition des phénomènes de résistance de certaines souches chez plusieurs champignons : *Botrytis* (pourriture grise), *Fusarium*, *Ustilago* (GILBERT, 1999).

3.1.3.2. Phytotoxicité

La phytotoxicité est définie comme l'impact ou les dommages qu'un composé peut engendrer sur certaines caractéristiques des plantes (germination, croissance et développement des racines et des tiges) (MOORE et KRUGER, 2010)

3.1.3.3. Effets négatifs des traitements répétés des fongicides sur l'environnement

3.1.3.3.1. Effet sur les organismes vivants

Plusieurs recherches ont été conduites pour évaluer la dissipation des fongicides dans le sol et leur effet sur les organismes non cibles malgré l'utilisation des produits phytosanitaires à doses recommandées, l'accumulation de ces derniers dans le sol, peut engendrer des effets à long terme sur les populations non cibles ainsi que sur leurs activités.

C'est le cas des champignons symbiotiques mutualistes de qui des études ont montré l'élimination de la microflore fongique endophyte suite à l'utilisation des différents types de fongicides dont le Tebuconazole et les Triazoles sur de semences (JAVOID *et al.*, 2006 ; IBIAM *et al.*, 2008 ; PAN *et al.*, 2010). CHAHABRA et JALALI (2013) ont montré que les fongicides Captan, Thirame et Bavistin appliqués sur les semences de blé diminuaient significativement la densité mycorrhizienne de la plante hôte qui se répercute négativement sur la hauteur des plantes et la production de biomasse. Ces résultats sont confirmés par AGGARWAL *et al.* (2005) sur le tournesol, le pois (SCHREINAR et BETHLENFALVAY, 1997 ; CALONNE *et al.*, 2010), les pommes (BHARAT, 2011).

Il a été aussi observé des réductions significatives des populations de rhizobium et la nodulation des légumineuses (soja, lentille, fève, pois) (BIKROL *et al.*, 2005 ; COMPO *et al.*, 2009 ; AHEMAD et KHAAN, 2010 ; SHARMA et SINGH, 2014).

La faune du sol (annélide, nématode, gastropode, insecte...) impliquée directement ou indirectement dans le recyclage de la matière organique et le maintien de la fertilité des sols, est fragilisée par la présence de ces substances (YADAV et AGGARWAL, 2014). COUDERCHET (2003) et DJEBALI et KHELILI (2009) ont aussi révélé que l'application des fongicides avait pour conséquence une perturbation de la reproduction et une diminution de la fertilité de la faune terrestre incluant les oiseaux et les mammifères.

3.1.3.3.2. Effet sur les eaux

Dans le sol, les pesticides sont soumis à des phénomènes qui les transferts vers d'autres compartiments de l'environnement (CALVET, 2005). L'une des conséquences majeures de l'usage immodéré des produits phytosanitaire est la dégradation de la qualité des eaux.

En 2007, en France, selon le service d'observation et des statistiques, signes de contamination des eaux de surfaces et souterraine ont été retrouvées. En effet, 91% des points de mesures des cours d'eau montrent la présence des pesticides. Dans les eaux souterraines, 55% des points de mesure ont montré la présence des pesticides et 25% de ces derniers nécessitent un traitement (MEHRI, 2008). En Espagne, le Carbendazime a été retrouvé dans les eaux d'une rivière qui reçoit le drainage d'un champ de riz (COUDERCHET, 2003).

En Algérie, des analyses effectuées sur des eaux prélevées dans la région de Staouali à Alger ont montré la présence des pesticides, sur 30% des échantillons prélevés, la concentration de certains pesticides dépasse les normes préconisées par l'OMS (MOUSSAOUI *et al.*, 2001).

Parallèlement, plusieurs études ont montré la sensibilité des organismes aquatique aux pesticides. ROUABHI *et al.* (2008) et BOUARICHA *et al.* (2012) ont rapporté que l'exposition des organismes aquatiques non cible à des insecticides a un impact sur leur croissance et leur respiration. En outre, les fongicide Carbendazime a engendré sur les invertébrés aquatiques une mortalité de plus de 50%. La toxicité du Manèbe sur les poissons d'eau douce à concentration élevée a été mise en évidence par GAPESSIE NTIENDJUI *et al.* (2009).

3.1.3.3.3. Effet sur l'écosystème

En plus des effets directs par mort lorsque les doses létales sont atteintes, des effets indirects peuvent apparaître comme la modification des relations entre espèces avec une pullulation des proies et diminution des prédateurs ainsi que des changements d'ordre comportemental. Il a été démontré que le Carbendazime dans les eaux douces augmente la population de phytoplanctons et diminue celle des zooplanctons (COUDERCHET, 2003). En outre, plusieurs travaux ont mis en évidence la contamination de la chaîne trophique suite au phénomène de bioaccumulation dans les tissus de l'organisme.

3.1.3.3.4. Effet sur la santé humaine

L'usage des produits phytosanitaires est non seulement dangereux pour l'environnement, mais certaines d'entre eux peuvent également avoir des effets néfastes sur la santé humaine. Cette situation est d'autant plus préoccupante que l'utilisation de ces produits est souvent répétée périodiquement, engendrant leur accumulation dans tous nos milieux naturels (BOUZIANI, 2007).

Les produits phytosanitaires peuvent induire une toxicité aiguë suite à une exposition à de fortes doses. Les agriculteurs sont les plus concernés, lors de manipulations de ces produits. Selon l'OMS (1991), les intoxications sont estimées entre 1 et 5 millions dont plusieurs millions de cas mortels. D'un côté, ils peuvent induire une toxicité chronique (à long terme) qui survient suite à l'absorption répétée à de faibles doses de ces produits. Plusieurs études épidémiologiques ont montré le lien entre l'exposition à long terme à ces substances chimiques et de nombreuses maladies telles que le cancer particulièrement chez les agriculteurs (MEHRI, 2008).

En Algérie, les enquêtes auprès des agriculteurs et des revendeurs ont permis d'évaluer un taux relativement élevé des cas d'allergies parmi les utilisateurs de ces produits dont 56% sont d'ordre respiratoire et 33% dermique (DAHOUN-TCHOULAK et MOUSSAOUI, 2003). Des études sur des agriculteurs utilisateurs des pesticides au niveau de la région de Tlemcen ont montré un dysfonctionnement métabolique qui se manifeste par une hypertriglycéridémie associée à une diminution des défenses antioxydantes (MOULAY, 2011 ; DJELLOULI, 2013).

Face aux nombreux inconvénients survenus après l'utilisation de fongicides ou de produits fongistatiques chimiques, d'autres alternatives ont été recherchées afin de protéger

les végétaux contre leurs agents pathogènes. Elles tentent de relever un double défi, soit celui de limiter efficacement les pertes agricoles dues aux maladies végétales et de préserver l'environnement et la santé des êtres vivants. L'une de ces alternatives faisant l'objet d'une recherche intensive est la lutte biologique.

3.2. La lutte biologique

Dans son sens strict, elle consiste à l'utilisation d'êtres vivants en vue de réduire ou empêcher les pertes ou les dommages causés par divers organismes (SIMON *et al.*, 1994). L'étude de l'action de certaines bactéries sur la germination des urédospores des rouilles des céréales a été étudiée la première fois par Morgan en 1963 qui a isolé une bactérie *Bacillus pumilus* et qui a donné de bons résultats.

La lutte biologique est née d'un certain échec de la lutte chimique, essentiellement dû à de nombreux abus, à la présence des résidus ainsi qu'à une absence de vue globale des différents problèmes, en particulier l'impact sur l'environnement. Les traitements chimiques ont augmenté considérablement, jusqu'à devenir dans certains cas insupportables sur le plan économique.

Certaines bactéries vivant à la surface des feuilles du blé, empêchent la germination des urédospores de rouilles ou occasionnent la production de tubes germinatifs courts et normaux, d'où la possibilité d'utiliser de telles bactéries (*Bacillus* sp. ; *Pseudomonas* sp. ; *Falvo bacterium* et *Coryne bacterium*) comme agents de lutte biologique (BELABID, 1993 ; ALLIOUI, 1997). Il est possible de rattacher à cette catégorie les biopesticides comme toxines de *Bacillus thuringiensis* (SIMON *et al.*, 1994).

La découverte des relations antagonistes entre les germes telluriques a amené les microbiologistes à se demander s'il n'était pas possible d'utiliser des micro-organismes pour la lutte biologique contre les maladies des plantes dues à des champignons phytopathogènes (CLARK, 1969). Partant de cette idée, de nombreux chercheurs ont pensé qu'il serait possible d'éliminer ces champignons en favorisant le développement des micro-organismes.

3.2.1. Définition

La lutte biologique est toute action qui met en jeu des organismes vivants pour déplacer les équilibres microbiens dans le sens favorable à la plante peut être rangée dans les moyens de lutte. La lutte biologique consiste à utiliser des organismes inoffensifs qui entraînent la destruction ou l'inhibition des espèces nuisibles. C'est la lutte biologique proprement dite. Elle consiste également à empêcher le développement des maladies par une action sur la plante-hôte elle-même. Parfois, ce résultat est obtenu grâce à des micro-organismes, ce type

d'intervention saprophyte ou auxiliaire se rattache à la lutte biologique au sens strict (DAVET, 1996).

3.2.2. Historique de la lutte biologique

En 1897, ERNEST DUCHENE écrit dans sa thèse de doctorat en médecine qu'il ne semble résulter de quelques-unes de nos expériences, qu'il importera de répéter et de contrôler, que certaines moisissures (*Penicillium glaucaum*) inoculées à un animal en même temps que des cultures très virulentes de quelques microbes pathogènes, sont capables d'atténuer dans de très notables proportions, la virulence de ces cultures microbiennes. (BRUN- COTTON *et al.*, 1980).

En 1877, PASTEUR et JOUBET, ont constaté que des « bactéries aérobies » inhibent la croissance de *Bacillus anthracis*. La notion d'antagonisme n'a pris sa forme définitive qu'avec l'avènement des travaux d'ALEXANDER FLEMMING en 1929, date capitale de l'histoire des antibiotiques.

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

L'étude de la distribution de la maladie des racines de pin due à *Fomesannosus* révèle que les attaques de ce champignon sont importantes des certains sols alcalins, mais rares ou atténuées dans certains sols plus acides où les racines sont colonisées par *trichodermaviride*, champignon dont on a démontré *in-vitro* le pouvoir antagoniste vis-à-vis de *Fomesannosus*. Ce pouvoir antagonistes de *Trichodrma viride* résulte à la fois de la synthèse d'antibiotiques, d'un pouvoir compétitif élevé dû à un taux de croissance très rapide, et d'une aptitude nette au mycoparasitisme (RISHBETH, 1952 ; MOREAU et SCHAEFFER, 1959).

En 1961, BLISS constate que la fumigation d'un sol infesté par *Armellaria mellea* avec du sulfure de carbone n'aboutit à la disparition complète de ce champignons pathogène que 24jours après fumigation. Or, cet effet coïncide avec la colonisation massive du sol par *trichoderma viride*.

Toujours dans le même contexte, MITCHELL et ALEXANDER, (1961) sont parvenus, en incorporant au sol de la chitine, à faire régresser sensiblement la population de *Fusarium solani*. L'efficacité des applications de ce composé dans la protection des végétaux

contre les *Fusarium* a été vérifié par BUXTON *et al.* en 1965 et par JOUAN et LEMAIRE en 1974, qui attribuent l'effet favorable de cet amendement à une stimulation d'un certain groupe de micro-organisme antagonistes, principalement les actinomycètes.

Dans les verges d'agrumes en Israël, on a constaté que *Fusarium solani* est absent dans la plupart des sols où *Trichoderma viride* est abondant ; Inversement lorsque *Trichoderma viride* est absent, *Fusarium solani* s'installe facilement (JOFFE, 1966).

HAAS et KEEL, (2003), ont constaté que les bactéries telles les *Pseudomonas* possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Ainsi leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable. Cette grande rhizocompétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries ; et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large, souvent issus des exsudats racinaires, comme source d'azote ou de carbone. De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (MOORE *et al.*, 2006).

Elles sont connues comme promotrices de la nutrition et la croissance des plantes par la solubilisation de minéraux comme le phosphore, par la production de sidérophores ou par la production de régulateurs de croissance comme les auxines (LEMANCEAU, 1992). Elles peuvent également augmenter le niveau de résistance des plantes aux maladies diverses que le piétin échaudage des céréales, les pourritures des tubercules de pomme de terre, les fusarioses des racines et du collet de la tomate (BELL-PERKINS et LYNCH, 2002).

Pour ce qui est des mécanismes généraux de lutte microbiologique contre les maladies cryptogamiques des plantes d'origines tellurique, on distingue deux types principaux : L'antagonisme microbien, qui implique des interactions directes entre l'agent de lutte et l'agent pathogène et l'induction de résistance chez la plante hôte qui implique une interaction indirecte entre l'agent de lutte et l'agent pathogène via la plante.

3.2.3. L'antagonisme

L'antagonisme est défini comme étant le phénomène par lequel un organisme inhibe le développement ou interfère avec les activités d'un autre organisme vivant par la création de conditions défavorables dans les milieux, ou par la production de substances antimicrobiennes.

L'antagonisme est l'action d'opposition entre deux systèmes, deux substances, deux fonctions au deux organismes ; créant une situation néfaste pour l'un ou pour l'autre.

L'antagonisme stimule la formation des spores et provoque un développement de forme, de taille et de structure des hyphes, de la direction du développement, cessation complète du développement et raccourcissement des segments d'hyphes ou, parfois même lyse du mycélium fongique (WELLER, 1988).

Les principaux modes d'action de l'antagonisme microbien sont :

3.2.3.1. Production de substances inhibitrices ou toxiques

Une forme très fréquente d'antagonisme résulte de la production par une espèce microbienne de substances toxiques pour les espèces qui se trouvent à proximité. Ces substances peuvent ne présenter aucune spécificité : elles agissent sur un très grand nombre d'espèces microbiennes. Elles peuvent, au contraire, ne s'avérer toxiques que vis-à-vis de certains groupes ou certaines espèces sensibles. On dit qu'elles sont spécifiques.

L'effet de ces substances est très variable. On distingue en général :

- Un effet bactériostatique ou mycostatique (fongistatique), se traduisant par un arrêt de la croissance de la bactérie ou du champignon.
- Un effet bactéricide ou fongicide, se traduisant par la mort définitive de la bactérie ou du champignon.
- Un effet bactériolytique ou mycolytique, se traduisant par la désintégration ou la lyse des cellules bactériennes ou fongiques.

Les substances inhibitrices ou toxiques ont une structure chimique simple (acides minéraux, par exemple) ou complexe (antibiotiques ou enzymes lytiques) (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

3.2.3.1.1. Substances à structure chimique simple

L'activité de certains micro-organismes peut se traduire par l'accumulation dans le sol de diverses substances minérales (telles que l'ammoniac, les nitrites, l'hydrogène sulfuré) ou organiques (telles que les alcools ou les acides organiques). Or, à partir de doses plus ou moins élevées, ces différentes substances se révèlent toxiques pour de nombreux autres micro-

organismes. On se trouve donc en présence d'un processus d'antagonisme à caractère non ou peu spécifique (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

3.2.3.1. 2. Antibiotiques

La microflore tellurique renferme une très forte proportion de micro-organismes capables de synthétiser des substances antibiotiques vis-à-vis de micro-organismes très divers. Les actinomycètes se classaient parmi les micro-organismes les plus actifs en ce qui concerne la production d'antibiotiques. Cette propriété est très répandue chez le genre *Streptomyces*, *Nocardia* et *Micromonospora*.

Parmi les bactéries, de nombreux producteurs d'antibiotiques appartiennent au genre *Bacillus* et *Pseudomonas*. Quant aux champignons, parmi les plus connus, les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium* et *Sclerotinia*. Les antibiotiques agissent, en générale, en inhibant l'activité ou la synthèse d'un constituant cellulaire essentiel. Ainsi, quelques-uns perturbent la biosynthèse d'ADN, ou celle du mucocomplexe des parois cellulaires, d'où lyse osmotique du micro-organisme sensible lorsqu'il se trouve en milieu hypotonique. D'autres antibiotiques agissent en désorganisant la membrane des cellules à la manière d'un détergent (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

3.2.3.1. 3. Enzymes lytiques

Divers micro-organismes exerçaient leurs propriétés antagonistes par l'intermédiaire d'enzymes extracellulaire qui lysent les parois cellulaires des micro-organismes sensibles, qu'ils peuvent utiliser comme aliment. Ce phénomène propre aux bactéries et aux champignons, peut affecter tous les groupes de micro-organismes du sol. Les parois des organismes-cibles sont digérées par des enzymes extracellulaire (chitinases, glucanases et cellulases).

Parfois accompagnés de toxines destinées à immobiliser ou à tuer les proies. Le contenu des cellules ainsi dénudées diffuse dans le milieu, ou d'autres enzymes notamment des protéases, assurent sa dégradation. Les produits de digestion sont absorbés par le micro-organisme responsable de la lyse (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

Parmi ces micro-organismes on trouve les Eubactéries, les actinomycètes mycolytiques, les Myxobactéries et les Myxomycètes (KATZNELSON et COLL, 1964).

3.2.3.2. Le parasitisme

Le parasitisme constitue le mode d'antagonisme qui consiste dans l'attaque directe d'un micro-organisme par un autre dans un but nutritionnel.

Quelques champignons peuvent être parasités par d'autres champignons, cette forme de parasitisme a reçu le nom de mycoparasitisme, l'agent parasite s'appelant mycoparasitisme (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

Les mycoparasites ont été répartis selon PARK *et al.* (1956), en fonction de leur activité c'est-à-dire en rapport à ce qu'ils exigent comme substrat : en mycoparasites biotrophes et mycoparasites nécrotrophes ; les premiers, dépendent étroitement de l'activité de leur hôte entreprenant des relations équilibrées, vu qu'ils sont capables de vivre sur la matière organique morte. Les seconds sont des destructeurs et des saprophytes qui parasitent dans la nature d'autres champignons (PARK *et al.*, 1956), on distingue deux groupes de mycoparasites selon BOOSALIS et MANKAU (1965) suivant leurs effets sur hôte :

- Les mycoparasites destructeurs dont l'attaque aboutit à la mort de l'hôte ;
- Les mycoparasites dont l'attaque provoque seulement des dommages peu importants ou insignifiants.

Les *Bdellovibrio* illustrent bien le concept de parasitisme. Découvert il y a seulement une trentaine d'années, les *Bdellovibrio* sont des bactéries de très petite taille qui traversent la paroi d'autres bactéries comme les *Pseudomonas* ou les *Xanthomonas*, elles s'introduisent dans leur cytoplasme et s'y multiplient aux dépens de leur hôte (DAVET, 1996).

Il existe de nombreux champignons parasites (mycoparasites) d'autres champignons du sol. La plupart d'entre eux sont des parasites facultatifs, capables d'une vie saprophytique active. *Rhizoctonia solani* peut se développer à l'intérieur du mycélium, relativement volumineux, de certains zygomycètes. Il peut être lui-même parasité par divers autres champignons, tels que *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum* ou *Penicillium vermiculatum* (DAVET, 1996).

En dehors des hyphes, les mycoparasites peuvent s'attaquer à d'autres structures : conidies, sporangiophores, oospores, chlamydozoospores, zoospores. Sclérotos. Ainsi, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum*, *Teratospermasclerotivora*, *Coniothyrium minitans* attaquent les sclérotos qui constituent les formes de conservation de *Sclerotium cepivorum* ou des *Sclerotinia* (DAVET, 1996).

3.2.3.3. L'interférence hyphale

L'inhibition par contact connue sous le nom d'interférence hyphale ne semble pas mettre en œuvre des substances inhibitrices ou toxiques vis-à-vis de l'hôte (DAVET, 1996).

Ce phénomène s'observe chez certains champignons capables de conquérir des substrats déjà colonisés par d'autres espèces. Lorsque les apex des hyphes des champignons dominés arrivent au contact du mycélium du champignon envahisseur, leur croissance s'arrête brusquement ; au bout de quelques minutes, leur cytoplasme devient granuleux et l'on observe une augmentation de la perméabilité membranaire et une dégénérescence des mitochondries. Ce mécanisme est mis en évidence chez les Basidiomycètes corpophiles et lignivores (IKEDIUGWU et WEBSTER, 1970) et aussi chez un oomycète comme *Pythium oligandrum* (LUTCHMEAH et COOKE, 1984).

3.2.3.4. Mycostase ou fongistase

C'est l'inhibition de la germination des spores fongiques même si les conditions de l'environnement, en particulier la température et l'humidité, semblent favorables à la germination. Ce phénomène d'inhibition qui intéresse non seulement les spores au moment de la germination, mais les hyphes en cours de croissance, a reçu le nom de mycostase ou fongistase (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

Les champignons dont les spores sensibles à la mycostase sont : *Fusarium culmorum*, *Phomabetae*, *Trichoderma lignorum*, *Penicillium notatum*, et *Stachybotrisatra* (PAYEN, 1962 ; GRIFFITHS, 1966).

La mycostase est susceptible d'être atténuée ou même supprimée par apport au sol de substances nutritives (résidus végétaux, exsudats racinaires, mélasses, monosaccharides, disaccharides, acide citrique, acide ascorbique...)

(LOKWOOD, 1964 ; PAYEN, 1962 ; DOBBS et COLL, 1960). Inversement, elle peut être renforcée par incorporation au sol de certaines substances organiques (paille d'avoine) (POWELSON et PATIL, 1963).

Selon DOMMERGUES et MANGENOT (1970), la nature biologique de la mycostase semble bien due à l'activité microbienne pour les raisons suivantes :

- La mycostase est supprimée par la stérilisation, la chaleur, les antiseptiques et la dessiccation (DOBBS et COLL, 1960). Dans le cas de stérilisation partielle, elle réapparaît rapidement avec la recolonisation du sol par les micro-organismes ;
- La mycostase peut être réinstallée par inoculation avec un peu de sol non stérile ou avec des micro-organismes ;

- La mycostase est d'autant plus développée que l'activité microbienne du sol est intense. Elle diminue lorsque cette activité faiblit, en particulier dans les horizons profonds ou dans les sols où l'acidité restreint la densité des micro-organismes.

Pour expliquer l'origine de la mycostase, on fait actuellement appel à l'une ou l'autre des hypothèses suivantes :

- Hypothèse de l'origine compétitive : la mycostase serait due à la déficience du sol en substrats nécessaires à la germination des spores fongique d'où apparition d'une compétition très vive entre les spores du micro-organisme sensible, d'une part et les autres micro-organismes telluriques d'autres part.
- Hypothèse de l'induction par des substance inhibitrices mycostatique en particuliers, des antibiotiques (DOMMERGUES et MANGENOT, 1970).

3.2.3.5. Compétition nutritive et spatiale

Durant la décomposition de la matière organique, il se produit une augmentation du nombre et de l'activité des micro-organismes ; ce qui engendre une grande demande en oxygène, nutriments et espace, laquelle aura comme conséquence une compétition nutritionnelle et spatiale. Ainsi, la compétition est décrite dans le cas où les micro-organismes, se trouvent sur le même substrat et des facteurs essentiels à leur développement y compris l'espace et l'oxygène sont présents en quantités limitées et qu'un ou plusieurs micro-organismes arrivent à utiliser plus efficacement et plus rapidement que d'autres micro-organismes.

Les micro-organismes à habilité de survie saprophytique faible sont incapables de concourir avec les micro-organismes à haute capacité saprophytique de survie ; ainsi ils périssent ou forment des structures de dormance spéciales (DAVET, 1996).

La compétition n'a pas pour conséquence disparition d'une population, mais elle freine son développement ; elle peut, en particulier, inhiber la germination des spores des champignons. On considère généralement que la compétition s'exerce en premier lieu pour les sources de carbone et d'énergie, mais elle peut également se manifester pour les microéléments tels que le fer. C'est ainsi, que plusieurs auteurs attribuent à la production de sidérophores, molécules organiques capables d'immobiliser le fer, l'action antagoniste des *Pseudomonas fluorescents* vis-à-vis des *Fusarium* et d'autres champignons du sol (SCHER et BAKER, 1982).

La compétition n'est pas facile à mettre en évidence. Parmi tous les éléments présents dans le milieu, il faut en effet pouvoir identifier lequel (ou lesquels) est (ou sont) limitant(s). Ceci suppose que l'on puisse quantifier le développement des populations en présence et que l'on soit capable de mesurer le facteur limitant (DAVET, 1996).

La compétition peut être considérée comme un phénomène universel : en situation de pénurie, elle s'exerce aussi bien entre espèces différentes d'une communauté qu'entre individus d'une même population. Elle est d'autant plus intense que les organismes ont des exigences plus semblables. En d'autres termes, la compétition a lieu essentiellement à l'intérieur d'une même niche écologique (DAVET, 1996).

3.2.3.6. La prémunition

La prémunition est une méthode de lutte biologique dans laquelle le micro-organisme inoffensif est utilisé non plus pour s'opposer directement à l'action des micro-organismes pathogènes, mais pour déclencher chez la plante des mécanismes de défense qui s'opposent au développement de l'infection par l'agent pathogène (DAVET, 1996).

La protection de la plante résulte de l'activation de plusieurs mécanismes de défense, ce qui lui confère une grande étendue et une grande stabilité, sa durée est variable. Chez certaines plantes, elle peut persister pendant tout le cycle de développement et même, parfois, être transmise par greffage. Les mécanismes sont de nature diverse : épaissement des parois végétales et production de molécules de défense telles que phyto-alexines et PR-protéines.

Cette induction de résistance peut rester localisée ou au contraire s'étendre à toute la plante, on parle alors d'induction systémique de résistance (SILVY et RIBA, 2002).

3.2.4. Produits commercialisés

Une liste de produits de lutte biologique commercialisés sur l'ensemble des maladies de plantes a été proposée par FRAVEL en 2005. Contre *Botrytis*, un nombre élevé d'agents de protection biologique a été identifié en laboratoire au cours de ces dernières années, mais très peu de ces agents ont été mis sur le marché (DECOIN *et al.*, 2002 ; FRAVEL, 2005). A notre connaissance, seuls 9 produits de protection biologique sont commercialisés dans le monde pour lutter contre *B. cinerea*. Le champignon *T. harzianum* est présent dans 3 des formulations élaborées sur les 9 produits commercialisés. En France, seul Serenade, contenant la souche QST 713 de *Bacillus subtilis*, est homologué pour utilisation contre *B. cinerea* sur la

vigne. D'autre part, à notre connaissance, d'autres produits sont en cours d'homologation. L'INRA a, par exemple, concédé à la société Agrauxine une licence d'exploitation de la souche L13 de *Microdochium dimerum* pour qu'elle développe et mette sur le marché le produit AntiBot (FRAVAL et SILVY, 1999).

3.2.5. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol. Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (HAAS et DEFAGO, 2005). Beaucoup de recherches se sont concentrées sur ces deux derniers types de bactéries parce qu'ils sont des habitants communs de la rhizosphère et possèdent une grande activité dans le contrôle biologique de maladie liées au sol. Ils ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques, et ils sont faciles à cultiver *in vitro* ou à manipuler en laboratoire. De plus, les bacilles offrent un avantage par rapport aux autres bactéries en raison de leur capacité à former des endospores résistantes au changement des conditions du milieu avantage aussi pour la formulation du produit (RAAIJMAKERS *et al.*, 2002 ; CAVAGLIERI *et al.*, 2005).

3.2.5.1. Interaction directes PGPR/Pathogène

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (PIANO *et al.*, 1997 ; REYES *et al.*, 2004). Cependant, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est dans certains cas pas vérifiée et ne peut donc pas être considérée comme une règle générale.

Une illustration de l'effet de la compétition pour l'espace concerne la lutte biologique contre le pathogène *Ceratocytis paradoxa* qui est responsable de la maladie de la pourriture noire sur les fruits d'ananas. On a observé que cette maladie a seulement été dans les fruits prétraités avec l'eau de lavage de fruits d'ananas contenant la levure *Pichiaguilliermondii*. Ce traitement permet de réduire la germination des spores, la longueur des germes et le poids sec du pathogène *C. Paradoxa* et les résultats montrent que le mode d'action de *P. guilliermondii* serait basé sur la compétition pour l'espace et les nutriments parce qu'on n'a observé aucun effet d'antagonisme de cette levure lorsqu'elle est appliquée après l'inoculation du pathogène (REYES *et al.*, 2004).

Chapitre I

1.1. Matériel**1.1.1. Champignons tests utilisés**

-*Botrytis cinerea* ;

-*Aspergillus niger* ;

-*Penicillium* sp.

À partir d'une orange infectée on a pu isoler un champignon, vu son aspect morphologique et microscopique ce champignon pourra être *Penicillium* sp. *Botrytis cinerea* et *Aspergillus niger* sont des souches pures fournies par le laboratoire de Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

1.1.2. Milieu de culture

Tableau VI : Milieux de culture utilisés

Milieu de culture	Abréviation	Utilisation
Milieu Triple-Sugar-Iron	TSI	Etude de la fermentation des sucres
Gélose nutritive	GN	Isolement des souches bactériennes
Milieu mannitol-mobilité	/	Caractère mannitol et mobilité
Milieu MEVAG	/	Détermination de la voie d'attaque des glucides
Bouillon nitraté	/	Recherche du nitrate réductase
Milieu Clark et Lubs	/	Caractère rouge de méthyle et Voges Proskauer
Milieu Urée-Indole	UI	Recherche de l'uréase
Milieu Mueller-Hinton	MH	Repiquage des bactéries
Eau peptonnée exemple d'indole)	EPE	Recherche de la production d'indole
Gélose Citrate de SIMMONS	/	Utilisation du citrate comme seule source de carbone
Gélose Sabouraud	SAB	Repiquage des souches fongiques

Les milieux de culture proviennent de laboratoire de Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

La composition chimique de ces milieux est décrite dans l'annexe 1.

1.1.3. Solutions et réactifs

- Alcool (éthanol) ;
- Disque d'ONPG ;
- Disques d'oxydase ;
- Eau distillée ;
- Eau oxygénée (H₂O₂) ;
- Fuchsine ;
- Violet de Gentiane ;
- huile de vaseline ;
- Huile à immersion ;
- Solution de Lugol ;
- Solution Chlorure de Sodium (NaCl) ;
- Hydroxyde de sodium (NaOH) ;
- Acide chlhydrique (HCl) ;
- Poudre de Zinc ;
- Réactif de Kovacs ;
- Creatinine à 1% (VP1) ;
- Poudre de potasse à 10% (VP2) ;
- Réactif NR1 ;
- Réactif NR2 ;

-Rouge de méthyle (RM).

Les solutions et réactifs sont fournis par le laboratoire de Microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

1.1.4. Appareillage

Tableau VII : Les appareilles utilisés

Appareillage	Source
Centrifugeuse	Hettich Universal /K2S
Autoclave	WEBECO. Allemagne
Bain Marie	MEMMERT. Allemagne
Réfrigérateur	ENIEM. Algérie
Spectrophotomètre	Vis-7220G. Biotech Engineering. Management CO.LTD (UK)
Etuve	BINDER. Allemagne
Balance de précision	KERN 770. Allemagne
pH mètre	HANNA. Portugal
Agitateur magnétique avec plaque chauffante.	GERHARDT. Allemagne

1.2.Méthodes

1.2.1. Echantillonnage

L'échantillonnage a été réalisé dans 2 régions de la wilaya de Tizi-Ouzou, la région de Mekla et la région de Ouaguenoun.

Nous avons prélevé nos échantillons à partir de la rhizosphère du sol de 2 types de plantes cultivées, la tomate et la pomme de terre.

L'échantillonnage du sol de tomate a été effectué sous une serre dans la région de Chaib, commune de Mekla. Les plants de tomate étés à leur stade jeunes ; celui de la pomme de terre a été effectué sur un champ agricole dans la région de Ouaguenoun au mois de Mars lors de la formation des premiers tubercules en plein stade d'épanouissement de la plante.

Nos échantillons ont été prélevés à une profondeur de 5 à 10cm après l'arrachement des plantes. Ils ont été mis dans des sacs en plastique à zip propre.

Pour que nos échantillons soient représentatifs, ces derniers ont été pris à partir de 5 points différents pour les 2 échantillons (obtention d'échantillons homogènes).

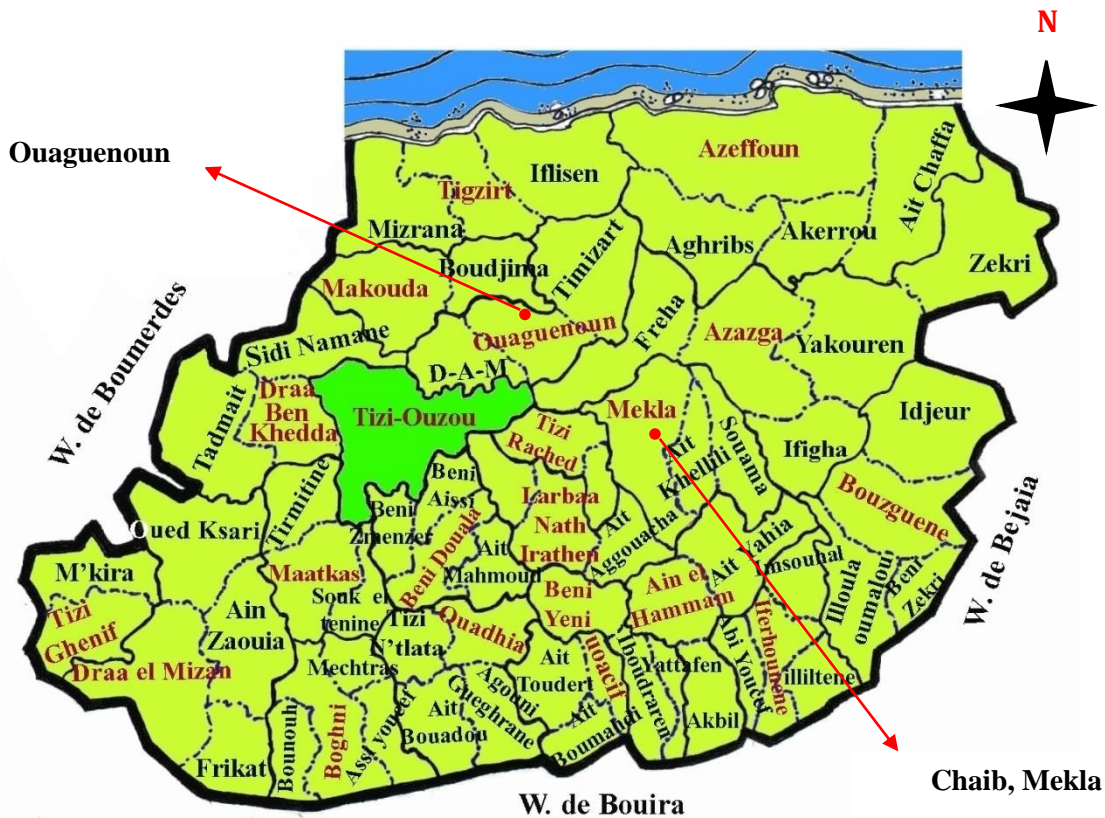


Figure 9 : Carte de localisation des régions d'échantillonnage (ANONYME I).

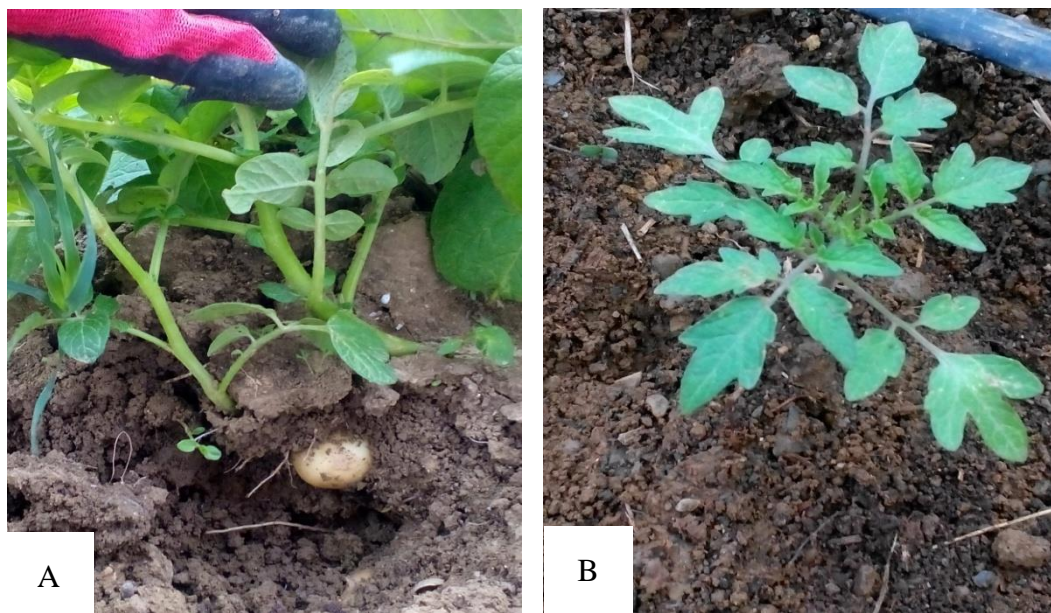


Figure 10 : Photos des échantillons prélevés.

A : Echantillon de la pomme de terre ; B : Echantillons de la tomate.

1.2.2. Suspensions et dilutions

Une fois au laboratoire, on a étalé nos échantillons du sol de pomme de terre et du sol de tomate séparément dans un papier sur la paillasse durant 24h afin qu'ils sèchent.

Après séchage, les échantillons ont été passés au tamis pour l'obtention de fines particules sableuses et homogènes.

On a pesé 5g de chaque échantillon que l'on a mis dans 20 ml d'eau distillée stérile. Le mélange a été soumis à une agitation pendant quelques minutes et juste après une filtration a été réalisée à l'aide d'une gaze stérile. Le filtrat obtenu constituait la suspension mère.

A partir de celle-ci, 0,5 ml sont mis dans 5 ml du bouillon nutritif (BN) en raison de deux tubes pour chaque échantillon.

Les quatre tubes ont été ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

Après incubation, on a réalisé 3 dilutions décimales (de 10^{-1} jusqu'à 10^{-3}) pour chaque tube.

1.2.3. Isolement et purification des souches bactériennes

Le milieu utilisé pour l'isolement est la gélose nutritive (GN).

Le milieu utilisé pour la purification est la gélose Mueller Hinton (MH).

1.2.3.1. Ensemencement

L'ensemencement est effectué en masse et deux boîtes sont ensemencées pour chaque dilution. 200µl de chaque dilution sont déposés dans une boîte, puis on a coulé la GN liquéfiée en surfusion (à une température avoisinant les 45°C) et on a laissé solidifier.

Après solidification, on a incubé les boîtes à 37°C pendant 72 heures.

1.2.3.2. Purification des souches bactériennes

Après isolement des souches, nous avons procédé à la purification, en effectuant des repiquages successifs.

Ces derniers ont été réalisés par la méthode des stries d'épuisement. Le choix des colonies a été fait en tenant compte de leurs aspects macroscopiques (forme, contour, relief, taille, surface, couleur et opacité).

1.2.3.3. Conservation des souches bactériennes

Pour la conservation et la préservation de pureté de nos souches le milieu GN inclinée a été utilisé.

Après ensemencement des souches purifiées sur de la gélose inclinée, on a incubé à 37°C pendant 24 heures ; puis on a conservé directement à 4°C.

1.2.3.4. Observation sous microscope des champignons tests

Un prélèvement de chaque champignon a été effectué à l'aide d'une anse et étalé sur des lames avec une goutte d'eau physiologique stérile, puis les observés sous microscope optique au grossissement 400.

1.2.4. Identification des souches bactériennes

L'indentification des souches bactériennes a été basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques.

1.2.4.1. Critères morphologiques

1.2.4.1.1. Examen macroscopique

L'aspect des colonies est observé après culture pendant 24 heures à 37°C sur milieu GN.

L'étude macroscopique a été réalisée en tenant compte de la forme, le contour, le relief, la taille, la surface, la couleur et l'opacité des colonies.

Cet examen macroscopique nous a permis de différencier les colonies bactériennes de celles des moisissures et aussi la sélection des types de souches que l'on a retenues pour l'identification.

1.2.4.1.2. Examen microscopique

A partir de chaque souche pure, une toute petite quantité de bactéries a été prélevée pour effectuer l'observation microscopique des caractères morphologique des cellules. Cette étude a permis de distinguer entre les différentes espèces bactériennes par rapport à l'agencement et la forme de leurs cellules.

- **Coloration de Gram** (DELARRAS, 2007)

Elle a été réalisée sur des cultures de 18 heures incubées à 37 °C. La coloration différentielle de Gram permet de classer les bactéries en bactéries à Gram positif (colorées en violet par le violet de Gentiane) et bactéries à Gram négatif (recolorées en rose par la fuchsine). Cette distinction fondamentale, base de toute la taxonomie bactérienne, repose sur des différences de structures pariétales des bactéries. Le protocole est le suivant :

Préparation d'un frotti sur lame par un étalement, séchage et fixation sur flamme.

-coloration par le violet de Gentiane : laisser la solution agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée.

-mordançage : verser du Lugol et laisser agir deux fois 45 secondes ; rincer à l'eau distillée.

-décoloration : laisser agir l'alcool pendant 30 secondes ; bien laver abondamment à l'eau distillée pour stopper son action.

-recoloration : laisser la solution de Fuchsine pendant 1 minute ; bien laver et sécher.

L'observation se fait sous microscope photonique au grossissement 10x100 avec une goutte d'huile à immersion (SINGLETON, 2005).

1.2.4.2. Critères biochimiques

Pour compléter l'identification morphologique, nous avons été amenés à déterminer l'activité biochimique des souches bactériennes. En recherchant les modifications apportées aux milieux de culture par le métabolisme bactérien.

1.2.4.2.1. Etude des enzymes respiratoires

1.2.4.2.1.1. Test de catalase (MARCHAL et BOURDON, 1982)

La catalase est une enzyme de chaîne respiratoire qui empêche l'accumulation de l'eau oxygénée (H_2O_2), dont l'action serait létale pour la cellule bactérienne. Cette enzyme catalyse la réaction suivante :



La technique consiste à déposer sur une lame, une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et à y associer un peu de la culture bactérienne à étudier prélevée à partir d'un milieu solide.

Si la souche examinée possède une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses.

1.2.4.2.1.2. Test d'oxydase (DELARRAS, 2007)

Intervenant à la fin de la chaîne d'oxydoréduction, l'oxydase est une enzyme qui catalyse la fixation d'hydrogène et des électrons sur une molécule d'oxygène (LEVEAU et BOUIX, 1991). Elle est présente dans certaines chaînes respiratoires cytochromiques bactériennes (DELARRAS, 2007).

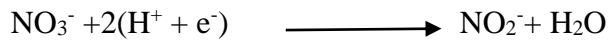
- On dépose sur une lame en verre stérile un disque d'oxydase stérile ;
- imprégner le disque avec une goutte d'eau physiologique stérile ;
- déposer au-dessus une colonie bactérienne avec une Pipette Pasteur stérile ;
- observer le résultat avant 30 secondes.

L'interprétation des résultats :

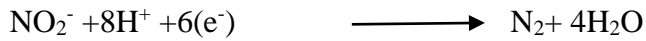
- Bactéries oxydase + : s'il y a apparition d'une couleur violette sur le disque.
- Bactéries oxydase - : si le disque reste incolore.

1.2.4.2.1.3. Nitrate réductase (GUIRAUD, 2003 ; DELARRAS, 2007)

Certaines bactéries ont la capacité de réduire le Nitrate en Nitrite selon la réaction suivante :



Tandis que d'autre peuvent poursuivre cette réaction jusqu'au stade d'azote gazeux :



(GUIRAUD, 2003; DELARRAS, 2007).

La première et la dernière réaction sont respectivement catalysées par la nitrate et la nitrite réductase. La mise en évidence de la nitrate réductase se base sur la recherche des nitrites formées en fin de réaction utilisant les réactifs NR1 et NR2.

Après ensemencement et incubation pendant 24 heures à 37°C d'un tube contenant du bouillon nitraté, on rajoute 4 gouttes du réactif NR1 et 4 gouttes du réactif NR2, puis on agite bien le tube. Les résultats probables seront les suivants :

Apparition d'une couleur rouge : ce qui se traduit par la présence d'un nitrate réductase donc la souche sera dite nitrate réductase positive (NR⁺).

La couleur du milieu ne change pas : dans ce cas on rajoute un peu de poudre de zinc (réducteur des nitrates) et on agite :

-Si le milieu devient rose ou rouge, donc il y'a présence des nitrates dans le milieu ces derniers n'ont pas été réduits par la bactérie ; donc cette dernière est nitrate réductase négative (NR⁻).

-Si le milieu reste incolore, donc il ne reste plus de nitrate dans le milieu ; dans ce cas la bactérie les a réduits au-delà du stade nitrite atteignant le stade azote gazeux.

1.2.4.2.2. Etude du type respiratoire

L'étude du type respiratoire des souches bactériennes a été effectué sur le milieu MEVAG au lieu du milieu VF (viande-foie) pour faute de moyen, par la technique suivante :

-On a ensemencé pour chaque souche bactérienne deux tubes de milieu MEVAG par piqure centrale en créant deux environnements, l'un en présence d'oxygène (aérobiose) et l'autre en absence d'oxygène (anaérobiose) en rajoutant une couche épaisse d'huile de vaseline.

On a incubé les deux tubes à 37°C pendant 24h et on observe les résultats :

Aérobic stricte : développement des bactéries dans le tube sans l'huile de vaseline.

Anaérobic stricte : développement des bactéries dans le tube avec l'huile de vaseline.

Aéro-anaérobic facultatif : développement des bactéries dans les deux tubes avec et sans l'huile de vaseline.

1.2.4.2.3. Etude de l'utilisation du citrate de sodium comme source de carbone

(MARCHAL et BOURDON, 1982)

Le milieu utilisé dans ce test est le Citrate de SIMMONS. Ce milieu contient ne contient qu'une seule source de carbone : citrate de sodium. Seules les bactéries possédant une citrate perméase sont capables de se développer sur ce milieu.

La technique utilise est comme suit :

A l'aide d'une pipete Pasteur chargée d'inoculum on dépose une quantité de ce dernier au fond du tube et après l'avoir bouclé avec la flamme du bec-bunsen on réalise des stries sur la pente.

Incuber le tube à 37°C pendant 48h et on observe les résultats chaque 24h.

-Virage de la couleur du vert au bleu : ce qui se traduit par une alcalinisation du milieu et développement des bactéries, ces dernières seront ainsi citrate réductase positive.

-La couleur du milieu ne change pas : signifie qu'il n'y'a aucun développement des bactéries sur le milieu, elles sont citrate réductase négative.

1.2.4.2.4. Etude des réactions cataboliques

1.2.4.2.4.1. Métabolisme des glucides

1.2.4.2.4.1.1. Milieu d'étude de la voie d'attaque des glucides (MEVAG)

(MARCHAL et BOURDON, 1982)

Le milieu utilisé est le milieu MEVAG, contenant le glucose comme source de carbone, on peut distinguer les voies métaboliques des bactéries (oxydative, fermentaire ou les deux à la fois).

Le test est effectué selon le protocole suivant :

-On ensemence deux tubes du milieu MEVAG par pique centrale, l'un en aérobiose (présence d'oxygène) et l'autre en anaérobiose (absence d'oxygène) recouvert d'une couche importante d'huile de vaseline.

Chapitre I

-On utilise deux autres tubes de ce milieu non ensemencés comme témoins, avec l'ajout d'huile de vaseline dans l'un entre eux.

-Incuber les tubes avec les témoins à 37°C pendant 48h, puis on lit les résultats :

Virage de la couleur du rouge au jaune dans le tube avec l'huile de vaseline, signifie que les bactéries sont à métabolisme fermentatif.

Virage de la couleur au jaune dans le tube sans l'huile de vaseline, les bactéries sont à métabolisme oxydatif.

Virage de la couleur dans le tube avec et sans l'huile de vaseline signifie que les bactéries sont à métabolisme à la fois oxydatif et fermentatif.

On peut ainsi observer sur ce milieu la production du gaz et la mobilité.

1.2.4.2.4.1.2. Etude des dérivés de l'acide pyruvique (MARCHAL et BOURDON, 1982)

Cette étude nous permet de différencier entre la fermentation butylène glycolique mise en évidence par la réaction de Voges Proskauer (VP), et la fermentation d'acides mixtes mise en évidence par la réaction au rouge de méthyle (RM).

La technique utilisée est la suivante :

-On ensemence un tube de milieu Clark et Lubs avec la souche puis incuber à 37°C pendant 24h.

Après l'incubation on transvase la moitié du tube dans un autre tube stérile.

Un tube on l'utilise pour la révélation de la réaction au rouge de méthyle(RM) : en rajoutant 3 gouttes de la solution RM.

Le deuxième tube est utilisé pour la révélation de la réaction VogesProskauer (VP) : en rajoutant 5 gouttes de chaque réactif VP1 et VP2 et on laisse le tube ouvert pendant 15 min. les résultats probables sont les suivantes :

Dans le premier tube :

Couleur rouge : réaction RM+(positive)

Couleur jaune : réaction RM-(négative)

Dans le deuxième tube :

VP+ : coloration rouge.

VP- : aucun changement de coloration du milieu.

1.2.4.2.4.1.3. Etude de la fermentation des glucides (Pharmacopée Européenne Addendum, 2000)

Le milieu utilisé est le milieu Triple Sugar Iron (TSI) ; ce milieu nous permet l'étude rapide de la fermentation des trois sucres qui le compose : le glucose, le lactose et le saccharose. La production du gaz ainsi la production d'hydrogène sulfureux (H₂S) peuvent être aussi mise en évidence.

On ensemence un tube contenant le milieu TSI incliné par piqure centrale pour le culot et par des stries pour la pente puis incubé le tube à 37°C pendant 24h. les résultats observés sont :

Fermentation du glucose :

Culot jaune : glucose fermenté.

Culot rouge : glucose non fermenté.

Fermentation du lactose et du saccharose :

Pente inclinée jaune : lactose et saccharose fermentés.

Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.

Production du gaz :

Formation de bulles de gaz qui décollent la gélose du fond du tube.

1.2.4.2.4.1.4. Etude de la fermentation du mannitol (MARCHAL et BOURDON, 1982)

Pour étudier la fermentation du mannitol et la mobilité, on utilise le milieu mannitol-mobilité. La dégradation du mannitol conduit à la formation du fructose et aboutie à des acides (acides acétique, acide formique).

Le test est effectué comme suite :

On ensemence un tube d'un milieu mannitol-mobilité par piqure centrale puis l'incuber à 37°C pendant 24h et on observe les résultats :

Virage du milieu du rouge au jaune : mannitol positive.

Le milieu ne change pas de coloration : mannitol négative.

Mobilité positive : trouble du milieu, développement et diffusion des bactéries à partir de la piqure d'ensemencement.

Mobilité négative : croissance des bactéries tout au long de la piqure d'ensemencement uniquement.

1.2.4.2.4.1.5. Recherche de la β -galactosidase (ONPG) (MARCHAL et BOURDON, 1982)

Le test ONPG(ortho-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside) est une méthode simple qui nous permet la recherche directe de la β -galactosidase (une enzyme capable de dégrader le lactose en glucose et galactose) et de distinguer les bactéries lactose positive des bactéries lactose négative.

La technique utilisée est la suivante :

On prépare une suspension bactérienne dense de la souche à étudier dans 0.5 ml d'eau physiologique stérile on rajoute ainsi un disque d'ONPG. Incuber à 37°C pendant 24h.

La suspension se colore en jaune : ONPG +

La suspension ne change pas de coloration : ONPG –

1.2.4.2.4.2. Métabolisme des protides

1.2.4.2.4.2.1. Recherche de l'uréase (MARCHAL et BOURDON, 1982)

Toutes les bactéries hydrolysent l'urée, mais seules une uréase active qui aboutit à la production de CO₂ et de NH₃, qui vont se combinés pour donner le carbonate d'ammonium, ce dernier va alcaliniser le milieu.

Le test est réalisé dans un tube de milieu urée-indole ensemencé avec la souche à étudier. Incuber à 37°C pendant 24h.

Les résultats sont comme suite :

Uréase + : virage du jaune au rouge.

Uréase - : pas de changement de coloration du milieu.

1.2.4.2.4.2.2. Recherche de la production d'indole (MARCHAL et BOURDON, 1982)

Le milieu utilisé est le milieu urée-indole. La recherche de l'indole est effectuée sur un milieu riche en tryptophane, il y'a des bactéries qui dégradent le tryptophane en indole par l'enzyme tryptophanase. L'indole produit est révélé par le réactif de Kovacs avec la technique suivante :

Après avoir ensemencé un tube qui contient le milieu urée-indole et l'incuber à 37°C pendant 24h, on rajoute 5 gouttes du réactif de Kovacs puis on agite bien le tube. Les résultats sont :

Indole + : anneau rouge en surface.

Indole - : pas de changement de coloration.

1.2.4.2.5. Test de confirmation par hydrolyse de la gélatine (GUIRAUD, 2003)

La gélatine est une substance liquide, de nature protéique, elle est obtenue par l'hydrolyse de tissus riches en collagène. Les bactéries qui possèdent une gélatinase peuvent hydrolyser la gélatine.

Le test est effectué dans un tube contenant la gélatine, après l'ensemencer avec la souche à étudier et l'incuber à 37°C pendant 24h, on met directement le tube à 4°C pendant 30 min.

Les résultats probables sont :

Gélatinase+ : la gélatine reste liquide, la bactérie est dite gélatinase positive.

Gélatinase- : la gélatine devient solide, la bactérie est donc gélatinase négative

1.2.5. Etude de l'effet antagoniste des bactéries vis-à-vis des champignons tests

1.2.5.1. Etude *in-vitro*

1.2.5.1.1. Potentiel antagoniste des bactéries (confrontation directe)

Le potentiel antagoniste des souches a été évalué *in vitro* dans le cadre d'une étude préalable contre trois agents pathogènes selon la méthode décrite par HUNZIKER et *al.* (2014) (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium sp.*). Ce screening a conduit à une sélection de 11 souches dont l'effet contre ces pathogènes a été déterminé par la technique suivante :

-Préparation des suspensions bactériennes :

A partir des cultures jeunes (18 à 20 heures) ensemencées sur milieu MH, on a prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées que l'on a introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Bien agiter la suspension jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.

La standardisation de la suspension bactérienne est effectuée au moyen d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm dans le but d'obtenir une densité optique de 0,08-0,1, l'équivalent de 10^7 UFC/ml. Ce qui nous a permis d'avoir la même charge bactérienne pour toute la suspension. On a prélevé 100µl de cette suspension qu'on a étalée dans des boîtes de pétris contenant de la gélose nutritive (GN). Incuber à 37°C pendant 24h.

Les champignons ont été standardisés pour une densité optique variant de 0,08 à 0,1, étalés sur des boîtes de pétris contenant 15ml de milieu sabouraud puis incubés à 28°C pendant 6 jours.

-Un disque de jeune culture mycélienne de 3 mm de diamètre a été placé au centre d'une boîte de Pétri contenant environ 15 ml du milieu sabouraud (à pH=7) avec trois disques

de 3mm de diamètre de la culture bactérienne préalablement standardisée placés à intervalles réguliers. La distance entre bactérie et champignon est de 2,5cm.

-chaque bactérie a été testée sur les trois champignons phytopathogène séparément, ainsi trois répétitions ont été effectuées pour chaque bactérie-champignon.

Un témoin négatif a été réalisé pour chaque champignon.

-les boites de pétris ont été incubé à 28C, observer quotidiennement pendant 7 jours.

L'antagonisme des bactéries a été évalué par le taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon l'équation (1) (RAKOTOARIMANGA *et al.*, 2014) :

$$PI = \frac{(Mo - Mi)}{(Mo)} \times 100 \quad (1)$$

PI (%) : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

Mo (cm) : Mesure de la croissance mycélienne normale du champignon témoin.

Mi (mm) : Mesure de la croissance mycélienne en confrontation avec la bactérie.

1.2.5.1.2. Antagonisme par production des substances volatiles

Une approche a permis de tester uniquement l'effet des substances volatiles des bactéries (VOC = Volatile Organic Compound) selon la méthode décrite par ESSALMANI et LAHLOU (2002).

Un disque du jeune champignon pathogène a été placé au centre du fond d'une boite de pétri contenant un milieu sabauroud. La bactérie standardisée a été étalée sur le couvercle de la boite de pétri sur gélose nutritive, les deux parties sont réunie. Les boites témoins ne sont pas confrontées aux bactéries.

Les effets des substances volatiles sont évalués après estimation de la croissance mycélienne en présence et en absence de bactéries. Seules les bactéries ayant un effet antagoniste vis-à-vis des champignons phytopathogènes ont été utilisées dans ce test. Deux confrontations pour chaque champignon sont effectuées.

L'inhibition de la croissance fongique est calculée en utilisant la formule ci-après (TRIVEDI *et al.*, 2008).

$$\frac{(r_1-r_2)}{r_1} \times 100 \quad (2)$$

r1 = représente la croissance radiale du champignon témoin ;

r2 = représente la croissance radiale du champignon confronté avec la bactérie.

1.2.5.1.3. Effet du pH sur l'activité antifongique

L'activité antifongique des bactéries a été évaluée par la méthode décrite par HUNZIKER et *al.* (2014) en variant le pH du milieu de culture sabouraud.

La valeur du pH de ce milieu à l'état normale est de 7. Le pH a été ajusté en raison de deux valeurs 8 et 11 ; et ce, une base (NaOH) a été ajoutée graduellement jusqu'à arriver à un pH=8. De la même façon pour obtenir le pH=11.

Le pH-mètre a été utilisé dans l'ajustement du pH.

L'inhibition de la croissance mycélienne est calculée en utilisant l'équation (1) (ROKOTOARIMANGA *et al.*, 2014).

1.2.5.2. Etude *in-vivo*

1.2.5.2.1. Stimulation de la croissance des plants de tomate *in-vivo* par *Pseudomonas sp.*

Ce test nous permet d'étudier l'effet des bactéries ayant été isolées à partir du sol sur la croissance des plants de la tomate.

L'induction de la stimulation de la croissance, par bactérisation des racines et la partie aérienne de la plante de tomate avant et après plantation a été effectué.

Le test est réalisé comme suite :

On a utilisé 15 plants de tomate d'environ 10 cm de hauteur qu'on a repiqué dans des pots remplis de terreau, les pots ont été séparés en trois lots :

1^{er} lot : cinq plants comme témoins (sans traitement).

2^{ème} lot : les racines des plants ont été trempé pendant 4 h dans une suspension bactérienne avant qu'ils soient plantés dans des pots contenant du terreau ; arrosés avec du l'eau distillée chaque deux jours.

3^{ème} lot : pour les cinq derniers plants on a pulvérisés tout la partie aérienne par la même suspension bactérienne.

Le suivit de la croissance des plants a été effectuer chaque semaine.

Les trois lots ont été alignée côte à côte auprès de la fenêtre du laboratoire, exposés à la lumière du jour.

1.2.6. Analyse statistique des données

Les résultats ont été présentés par la moyenne suivie de l'écart-type ($n=2$) ou ($n=3$) pour Chaque confrontation en utilisant le test de Student.

L'analyse statistique a été réalisée par le logiciel Statistica version 7.1 en utilisant le test de l'analyse de la variance (ANOVA) à un facteur. Ce test nous permet de vérifier si les échantillons sont issus de la même population ou présentant des différences significatives.

S'il existe une différence significative, le test de l'ANOVA est suivi par le test complémentaire de Newman-Keuls afin d'établir les différents groupes homogènes. Le niveau de signification était de 5 %.

2.1. Isolement et identification des souches bactériennes

A partir des deux échantillons T(tomate) et P (pomme de terre) prélevés respectivement au niveau de la région de Mekla et de Ouaguenoun, Tizi-Ouzou, nous avons isolé 11 souches bactériennes, dont 4 souches bactériennes à partir du sol de la tomate et 7 souches bactériennes à partir du sol de la pomme de terre. Celles-ci ont été sélectionnées en tenant compte de leurs caractéristiques macroscopiques.

L'identification biochimique a porté sur les 11 souches bactériennes isolées. Elle a été menée selon les clefs d'identification (MARCHALL et BOURDON, 1982).

2.1.1. Résultats des critères morphologiques

2.1.1.1. Examen macroscopique

Les critères macroscopiques des 11 souches bactériennes isolées sur milieu gélose nutritive (GN) sont représentés dans le tableau VIII.

L'observation des colonies cultivées sur milieu GN a révélé différents aspects morphologiques (forme, taille, couleur, contour, surface, opacité et relief).

Tableau VIII : Résultats de l'examen macroscopiques des souches bactériennes isolées à partir du sol de la pomme de terre (E1) et du sol de la tomate (E2) après cultures sur milieu gélose nutritive (GN) à 37°C pendant 72 heures.

Echantillons		Forme	Contour	Relief	Taille	Surface	Couleur	Opacité
Sol de pomme de terre (E1)	Souche 1	Irrégulière	Irrégulier	Légèrement convexe	2à 4mm	Lisse sèche	Vert-diffuse	Opaque
	Souche 2	Ronde	Régulier	Convexe	1à 3mm	Lisse brillante	Centre rouge et bord crème	Opaque
	Souche 3	Irrégulière	Irrégulier	Légèrement convexe	7mm	Lisse sèche	Blanchâtre	Opaque
	Souche 4	Ronde	Régulier	Plate	2mm	Lisse brillante	Crème	Translucide
	Souche 5	Ronde	Régulier	Plate	1mm	Lisse et brillante	Blanchâtre	Translucide
	Souche 6	Ronde	Régulier	Convexe	1 à 2 mm	Lisse et brillante	Blanchâtre	Transparente
	Souche 7	Ronde	Régulier	Légèrement convexe	1à 2mm	Lisse et brillante	Blanchâtre	Translucide
Sol de la tomate (E2)	Souche 8	Ronde	Régulier	Légèrement convexe	1à 6mm	Lisse et brillante	Blanchâtre	Opaque
	Souche 9	Ronde	Régulier	Légèrement convexe	1à 2mm	Lisse et brillante	Crème	Translucide
	Souche 10	Ronde	Régulier	Plate	2mm	Lisse et brillante	Blanchâtre	Translucide
	Souche 11	Ronde	Régulier	Convexe	1à 2mm	Lisse et brillante	Crème	Opaque

La figure 11 montre l'aspect de quelques colonies bactériennes ensemencées sur milieu GN :

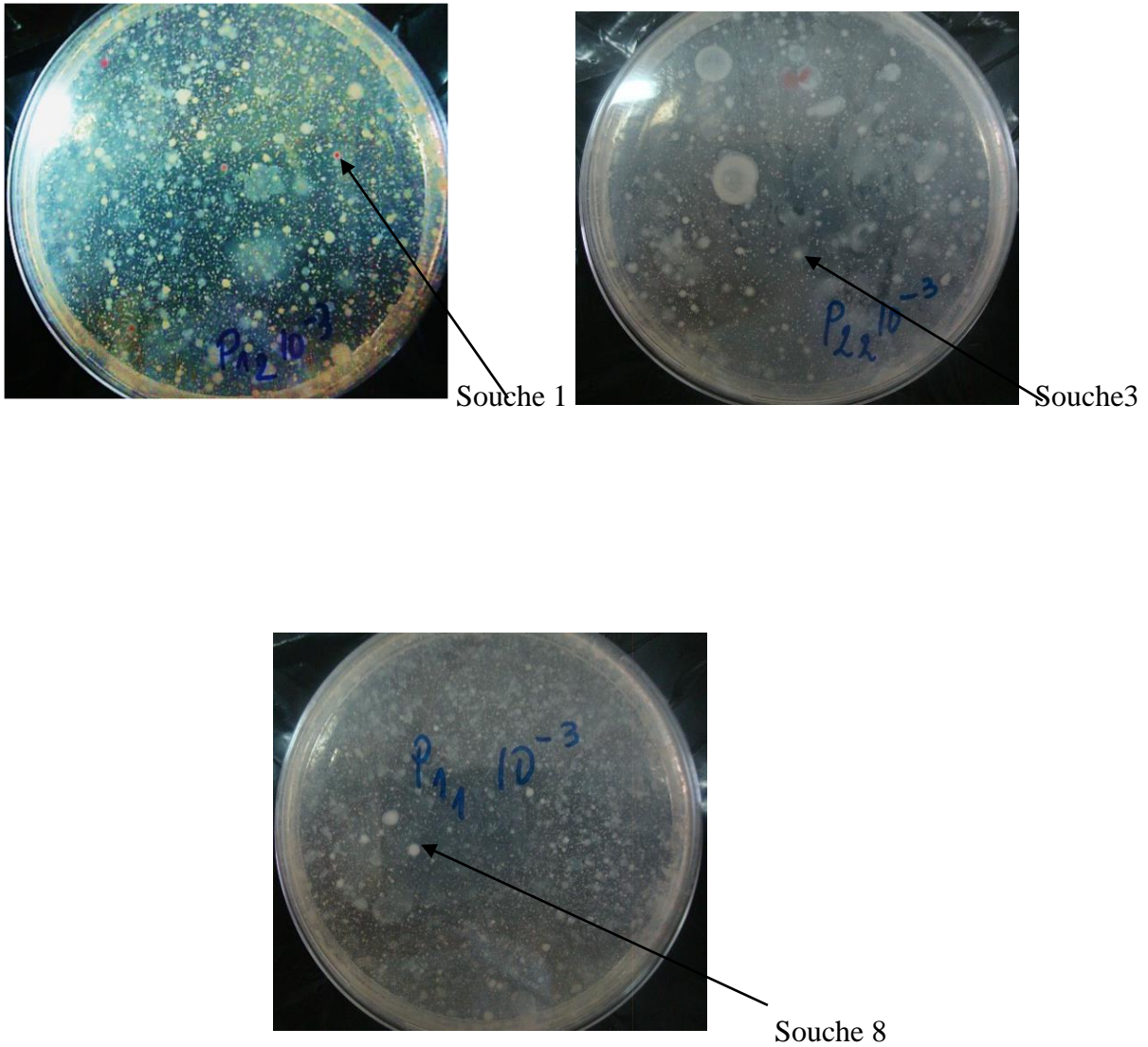


Figure 11 : Aspect de quelques souches bactériennes ensemencées sur milieu GN (Gélose Nutritive).

2.1.1.2. Examen microscopique

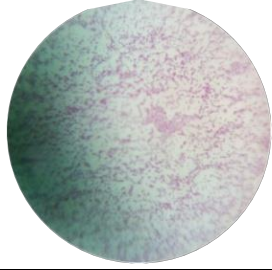
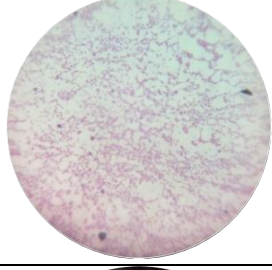
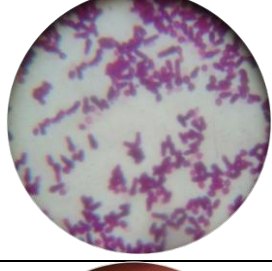
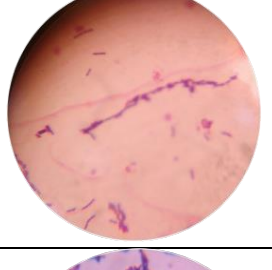
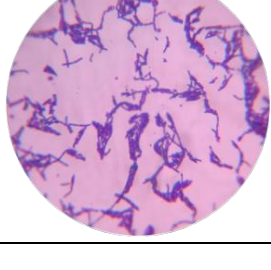
Après avoir effectué la coloration différentielle de Gram, nous avons observé les frottis colorés au microscope optique au grossissement 1000. Cette technique nous a révélé des bactéries Gram négatif et des bactéries Gram positif de tailles différentes. Les souches à étudier présentent des morphologies différentes : en bâtonnet, en coque.

L'examen microscopique des 11 souches bactériennes isolées à partir du sol de la tomate et celui de la pomme de terre a révélé 3 souches à Gram négatif et 8 souches à Gram positif. La plupart des souches à Gram positif étaient de formes différentes : bacilles, cocci. Par contre les souches bactériennes à Gram négatif étaient des bacilles de petite taille et parfois moyenne.



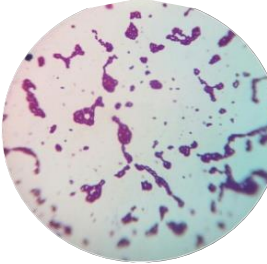
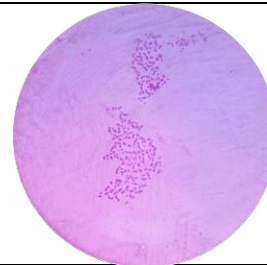
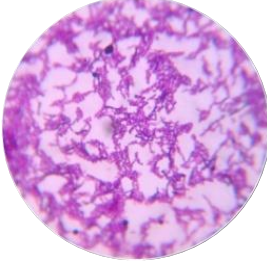
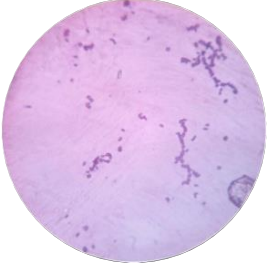
Les souches bactériennes étaient différentes d'une espèce à une autre ; ainsi les bactéries à Gram négatif étaient soit : isolées, en palissades, en diplobacilles. Les bactéries à Gram positif étaient soit : isolées, en chainettes, en amas ou en diplobacilles.

Les résultats sont présentés dans le tableau (IX) :

Tableau IX : Résultats de l'examen microscopique des souches bactériennes étudiées.

Souches	Coloration de Gram			
	Forme	Gram	Agencement	Aspect microscopique
Souche 1	Bacilles	Négatif	Isolées	
Souche 2	Petits bacilles	Négatif	Isolées	
Souche 3	Gros bacilles avec des spores rondes déformantes terminales	Positif	Isolées	
Souche 4	Bacilles moyens	Positif	Isolées ; Diplobacilles ; En chaînette.	
Souche 5	Longs bacilles a spores subterminales ovales non déformantes	Positif	En chaînette ; En palissade ; En lettre de V.	

Suite du Tableau IX : Résultats de l'examen microscopique des souches bactériennes étudiées.

Souche 6	Gros bacilles avec spores subterminales non déformantes	Positif	Isolées ; En palissade ; En lettre V.	
Souche 7	Bacilles	Positif	En chainettes	
Souche 8	Cocci	Positif	En amas ; En grappe de raisin ; Diplocoques.	
Souche 9	Colibacilles	Négatif	Isolées ; Diplobacilles ; En palissade.	
Souche 10	Bacilles moyens Avec spores centrales non déformantes	Positif	En amas ; En palissade .	
Souche 11	Bacilles droits	Positif	Isolées ; En palissade.	

L'examen microscopique a aussi révélé la présence de spores dans les cellules bactériennes de la souche (3) (figure 12).

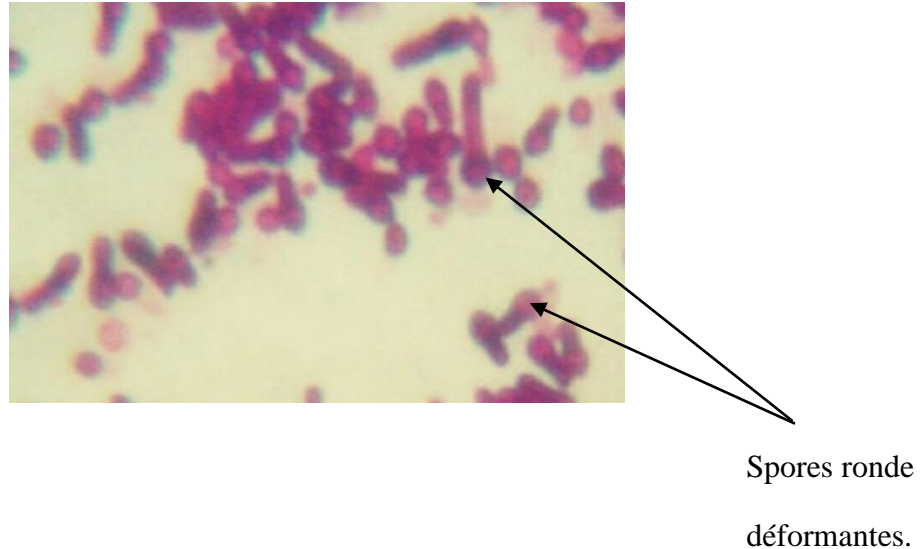


Figure 12 : Coloration de Gram de la souche 3 montrant la présence des spores dans les cellules bactériennes.

2.1.2. Résultats des critères biochimiques

L'analyse des critères biochimiques des 11 souches bactériennes nous a permis de révéler différents genres bactériens. Les résultats sont résumés dans le tableau X et XI.

La tentative d'identifier les 11 souches bactériennes isolées a été réalisée selon les clés d'identification décrites par MARCHALL et BOURDON (1982), ainsi, quelques-unes ont pu être identifiées à partir des tableaux d'identification des souches bactériennes (GUIRAUD, 2003).

Sept souches bactériennes isolées à partir du sol de la pomme de terre appartiennent à 3 genres bactériens différents dont : *Pseudomonas*, *Serratia* et *Bacillus*. Ces 7 souches bactériennes étaient : aéro-anaérobies facultatives, catalase positive, oxydase négative, mobiles, métabolisant les sucres par voie oxydative et fermentative.

Parmi les 4 souches bactériennes isolées à partir du sol de la tomate, on a pu identifier une souche, celle-ci appartient au genre *Staphylococcus* qui est : aéro-anaérobie facultative, catalase positive, oxydase négative, immobile, métabolisant les sucres par voie oxydative et fermentative.

Tableau X : Tableau d'identification biochimique des souches bactériennes isolées à partir du sol de la pomme de terre.

Echantillons		Sol de pomme de terre (E1)						
Souches		S 1	S 2	S 3	S 4	S 5	S6	S 7
Tests								
Forme		Bacilles	Petits bacilles	Gros bacilles	Petits Bacilles	Longs Bacilles	Gros Bacilles	Bacilles
Gram		-	-	+	+	+	+	+
Catalase		+	+	+	+	+	+	+
Oxydase		+	-	+	-	-	-	-
Mobilité		+	+	+	-	-	+	-
Métabolisme des glucides sur MEVAG		OF	OF	OF	OF	OF	OF	OF
Citrate		+	+	-	-	-	-	-
NR		+	+	-	+	+	+	-
VP		-	+	-	-	-	-	-
RM		-	-	+	-	-	-	-
Uréase		+	-	-	-	/	/	-
ONPG		/	-	/	+	/	/	+
Indole		-	-	-	-	-	-	-
Production de Gaz		+	+	-	-	+	+	-
Type respiratoire		Aérobie stricte	AAF	AAF	Anaérobie	AAF	AAF	AAF
Gélatinase		+	+	-	/	/	/	/
Fermentation des sucres	Glucose	+	+	+	+	+	-	-
	Lactose	+	-	+	+	+	+	+
	Mannitol	+	+	-	+	-	+	+
Identification		<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Serratia</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.	ND	ND	ND	ND

AAF : Aéro-anaérobie facultatif ; S : Souche ; OF : oxydatif et fermentatif ; ND : Non déterminée.

Tableau XI : Tableau d'identification biochimique des souches bactériennes isolés à partir du sol de la tomate.

Echantillons		Sol de tomate (E2)			
Souches		S 8	S 9	S 10	S 11
Tests					
Forme		Cocci	Petits bacilles	Bacilles moyens	Bacilles droits
Gram		+	-	+	+
Catalase		+	+	+	+
Oxydase		-	-	+	-
Mobilité		-	-	+	+
Métabolisme des glucides sur MEVAG		OF	OF	OF	OF
Citrate		-	-	-	+
NR		+	+	-	+
VP		+	-	-	-
RM		-	-	-	-
Uréase		-	+	-	-
ONPG		/	-	/	+
Indole		-	-	-	-
Production de Gaz		-	-	-	+
Type respiratoire		AAF	Anaérobie	AAF	AAF
Gélatinase		/	/	/	/
Fermentation des sucres	Glucose	+	+	+	+
	Lactose	+	+	+	+
	Mannitol	+	-	-	+
Identification		<i>Staphylococcus</i> sp.	ND	ND	ND

AAF : Aéro-anaérobie facultatif ; S : Souche ; OF : Oxydatif et fermentatif.

2.1.3. Résultats des tests de confirmation des souches bactériennes

Après ensemencement et incubation pendant 24h à 37°C de la souche bactérienne du genre *Bacillus* sp. dans un tube contenant de la gélatine nutritive en culot, on l'a déposé pendant 30min à 4°C. après qu'on a retiré le tube : la gélatine a demeurée liquide et cela signifie que la souche bactérienne étudiée est gélatinase positive. La souche bactérienne *Bacillus* sp. possède l'enzyme gélatinase qui a dégradé la gélatine.

2.1.3. Résultats de l'observation microscopiques des trois champignons tests

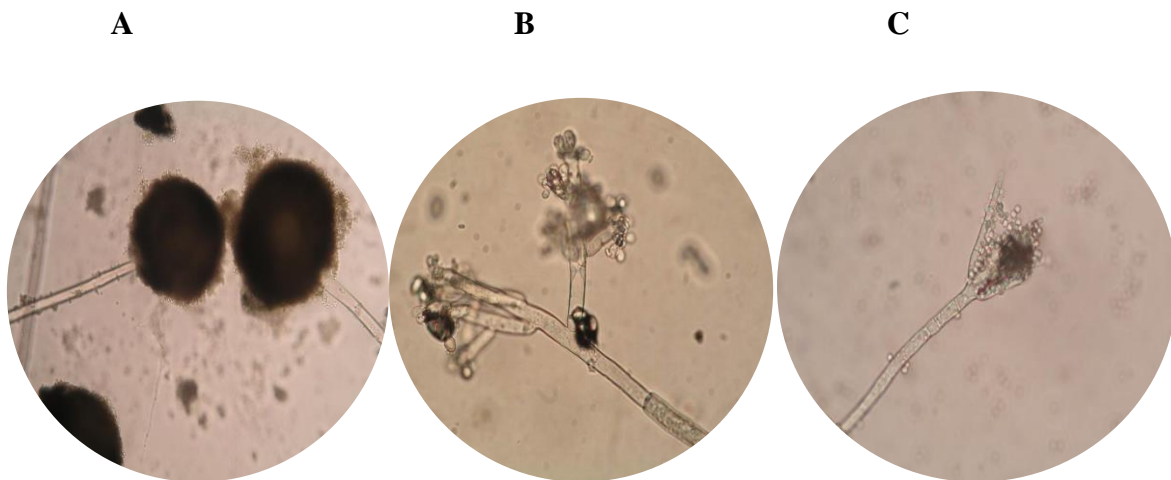


Figure 13 : Photos des champignons observés sous microscope photonique au grossissement 400.

A : *Aspergillus niger*, B : *Botrytis cinerea*, C : *Penicillium* sp.

Aspergillus niger apparaît sous une forme filamenteuse, comportant des hyphes septés, haploïdes et ramifiés forme un mycélium (une tige filamenteuse comportant les cellules conidiogènes, qui produisent des spores).

Botrytis cinerea apparaît sous forme de mycélium à ramification avec conidiospores portant des macroconidies.

Penicillium sp. Ou *Penicillium* des agrumes, extrait à partir d'un orange pourris, apparaît sous forme de mycélium avec une dense concentration de conidiospores qui sont portées par l'hyphe. Les phialides sont en forme cylindrique.

Les champignons ont été apparus uniformes et n'ayant pas présenté de contamination.

2.2. Antagonisme *in-vitro*

2.2.1. Potentiel inhibiteur des bactéries antagonistes

Parmi les 11 souches bactériennes isolées à partir du sol de la pomme de terre et celui de la tomate, seule une souche du genre *Pseudomonas* sp. a inhibé la croissance du mycélium des trois champignons phytopathogènes (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp.) avec un pourcentage d'inhibition variant entre 38% et 66% (Tableau XII ; Fig.15).

Tableau XII : Tableau représentant le taux d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation directe.

Champignons Souches bactériennes	Taux d'inhibition %		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinéria</i>	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	66,4 %	66 %	38,4 %
<i>Serratia</i> sp.	Pas d'effet	76,8%	Pas d'effet

Cette activité antagoniste est plus importante vis-à-vis *Aspergillus niger* et *Botrytis cinérea* et est moindre importante vis à vis de *Penicillium* sp. (Fig.14). Ces résultats différents de ceux trouvé par MEZAACHE, (2012) sur la souche de *Pseudomonas chlororaphis* sub sp. *Aureofaciens* vis-à-vis du *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), *Fusarium oxysporum* f.sp *albedinis* (Foa) , *Phytophthora infestans* (Pi) ,*F. solani* var. *coeruleum* (Fsc) et *Rhizoctonia solani*, avec un taux d'inhibition qui varie de 41,17 % pour Fsc et 77,78 pour le Foa par production de phénazines sur PDA.

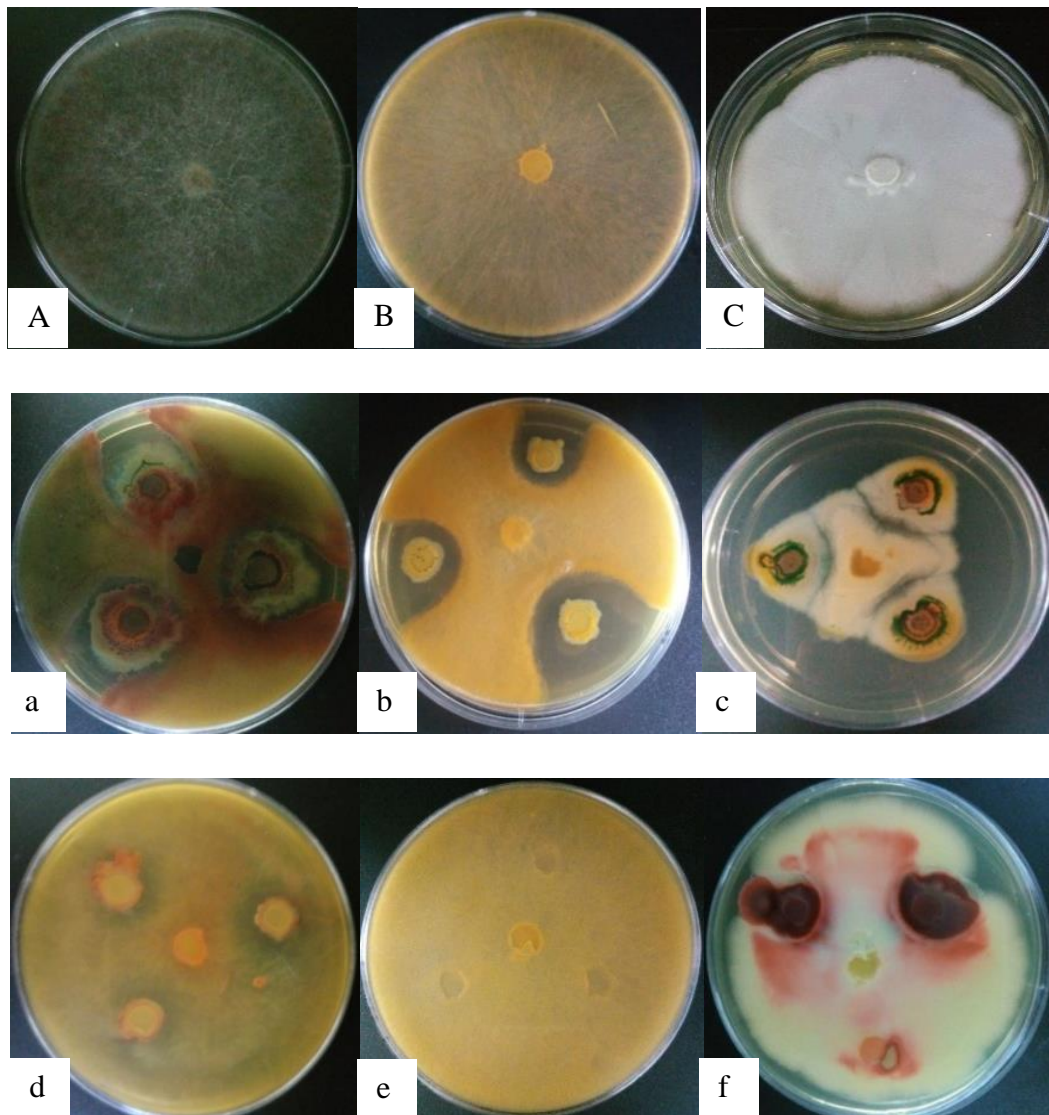


Figure 14 : Photos des résultats d'antagonisme fongique *in vitro*.

A, B, C : Témoin négatif de *Botrytis cinérea* (A), *Aspergillus niger* (B), *Penicillium* sp. (C) respectivement ; a, b, c, d, e, f : confrontation directe de *Pseudomonas* sp. (a b c) et *Serratia* sp. (d e f) avec *Botrytis cinérea*, *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. respectivement.

Cependant une diminution de la charge mycélienne est observée sur *Botrytis cinérea* et ralentissement de sa croissance au tour des disques de la souche *Serratia* sp. avec un pourcentage d'inhibition de 76% (Fig.14 et 15), par contre aucun effet antagoniste n'est observé vis-à-vis *Penicillium* sp. et *Aspergillus niger* par cette souche bactérienne (Fig.15 ; Annexe 2A).

Les neuf autres souches de différents genres n'ont montré aucun effet inhibiteur sur la croissance mycélienne. Ce test d'inhibition a montré que *Aspergillus niger* et *Botrytis cinérea* sont les plus sensibles aux action des bactéries antagonistes.

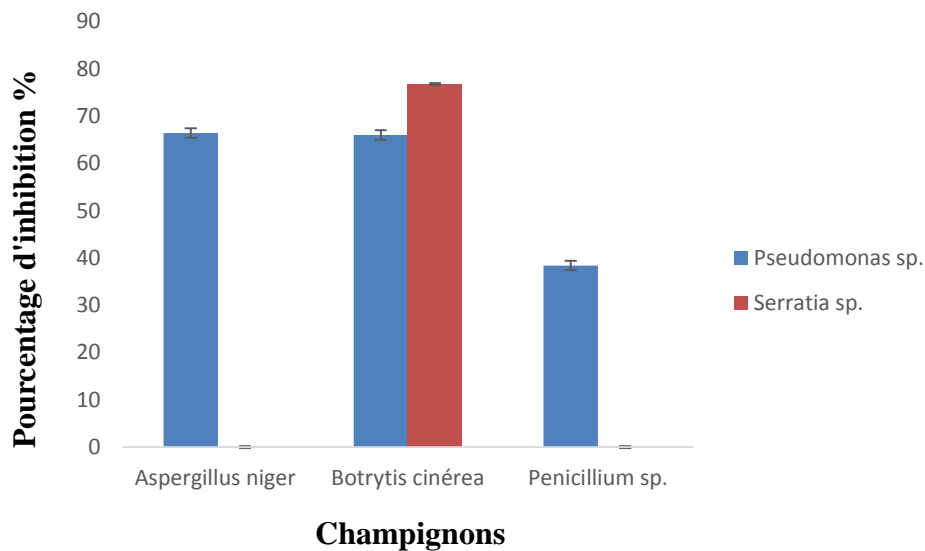


Figure 15 : Représentation graphique des taux d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation directe.

D'après l'histogramme représenté dans la figure 15, on constate que les deux souches bactériennes étudiées (*Pseudomonas sp.* et *Serratia sp.*) présentent différents niveaux d'antagonisme vis-à-vis des trois champignons testés.

L'analyse de la variance a montré que l'antagonisme des deux souches vis-à-vis des trois champignons utilisés, présente des différences significatives ($P=0,03$) (Annexe 3A). Le test complémentaire de Newman-keuls a classé les deux bactéries selon l'effet antagoniste le plus élevé.

L'action antagoniste de cet isolat de *Pseudomonas* ne semble pas être spécifique de l'agent pathogène, et elle peut être à large spectre, agissant sur presque tous les agents cryptogamiques testés. Alors que pour l'autre isolat *Serratia sp.* cet antagonisme dépend de l'agent pathogène.

Des études ont mis en évidence des souches de *Pseudomonas sp.* inhibitrices de la croissance mycélienne de *P. infestans* (entre 8 % et 50 % de la croissance du témoin) en application

directe (BÖNISCH *et al.*, 2014). Comparant à nos résultats ces souches sont moins efficaces que notre isolat de *Pseudomonas* sp.

Ainsi RABHI (2011) a rapporté que toutes les souches de *Pseudomonas fluorescents* manifestent une action inhibitrice vis-à-vis de *Fusarium oxysporium* et d'*Alternaria alternata*. avec un pourcentage d'inhibition de 36%. Ce résultat est proche de notre.

Contrairement à nos résultats CAMPS *et al.* (2012) ont montré que la souche PF-CHA0 de *Pseudomonas* antagoniste du *P. ultimum*, avec un pourcentage d'inhibition de 92% par production des molécules de type antibiotique comme le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG) et la pyolutéorine pour limiter le développement des pathogènes. Cette souche est plus efficace que notre souche *Pseudomonas* sp.

L'activité antagoniste de l'isolat de *Pseudomonas* suggère une diversité dans les mécanismes impliqués dans le biocontrôle (MEZAACHE, 2012). Nos résultats soulignent la possibilité d'un effet à large spectre affectant des champignons appartenant à différentes classes fongiques.

Auparavant FRIDLENDER *et al.* (1993), ont observé qu'un isolat de *Pseudomonas cepacia* diminuait l'incidence de trois maladies fongiques chez trois plantes différentes, dans un sol non stérile.

L'antibiose est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. D'une manière générale, la souche *Pseudomonas* sp. est la plus actif, ses performances peuvent être corrélés à son pouvoir métabolique, notamment secondaire (MEZZACHE, 2012).

La production de métabolites secondaires, impliqués dans l'antagonisme microbien et sous l'effet du milieu de culture (LOPER et SCHROTH, 1981 ; BUYER et LEONG, 1986). En effet HAAS et KEEL (2003), avaient rapporté que la production de ces composés était hautement influencée par la disponibilité qualitative et quantitative des nutriments.

BAKER, (1986) a rapporté, que sous des conditions limitantes en fer, retrouvés dans les sols alcalins, le pathogène est privé de formes de fer assimilable, due à l'activité des *Pseudomonas* spp. *fluorescents* rhizo-compétents.

TEINTZE *et al.* (1980) ont rapporté, que l'introduction de *Pseudomonas* dans le sol induit une surpression par production de sidérophores de type cathécol-hydroxamate.

L'inhibition de la croissance mycélienne par la souche *Pseudomonas* sp. observée suggère qu'elle est due à des mécanismes développés par la bactérie, qui peut être liée à la synthèse de sidérophores (MEZAACHE, 2012).

WELLER et COOK (1983), ont rapporté, que malgré l'importance de la production de sidérophores dans le biocontrôle, ce n'est probablement pas le seul mécanisme impliqué dans l'antagonisme. HAAS et DEFAGO, (2005) ont montré que La plupart des *Pseudomonas* spp. *fluorescents* dont l'efficacité a été prouvée dans le biocontrôle des maladies de plantes, produisent un ou plusieurs antibiotiques autre que les sidérophores.

Chez les *Pseudomonas*, plusieurs molécules ayant une activité antimicrobienne envers divers microorganismes peuvent être produites comme des sidérophores (Pyoverdine, pseudobactine et pyochéine) (RAAIJMAKERS *et al.*, 2006 ; WELLER, 2007).

2.2.2. Action des substances volatiles

Seule la souche du genre *Pseudomonas* sp. antagoniste des trois champignons phytopathogènes a été utilisée dans ce test, et qui a également montrée un très bon effet inhibiteur par l'émission des substances volatiles sur la croissance de ces champignons (entre 50% et 81% par rapport au témoin) (Tableau XIII).

Tableau XIII : Tableau représentant le taux d'inhibition de la croissance mycélienne en application VOC (Volatile Organic Compound).

Champignons Souches bactériennes	Taux d'inhibition (%)		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinéria</i>	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	50%	81,25%	75,62%

La croissance des trois champignons phytopathogènes exposés aux substances volatiles de *Pseudomonas* sp. a été ralentie par rapport au témoin non exposé (Fig 16 ; Annexe 2B). L'aptitude inhibitrice des substances volatiles apparaît dès le deuxième jour d'incubation.

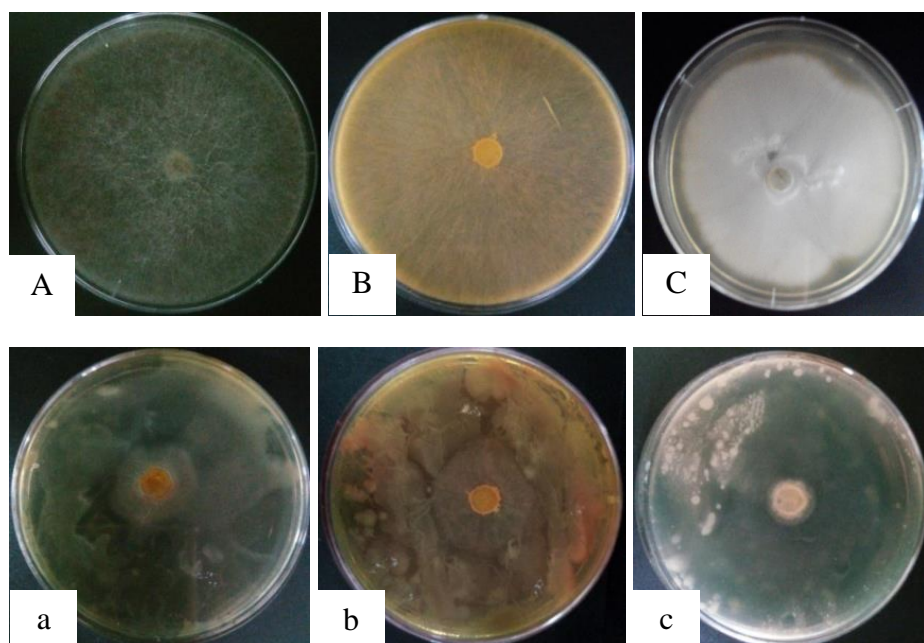


Figure 16 : Photos des résultats d'antagonisme par production de substances volatiles.

A, B, C : Témoin négatif de *Botrytis cinérea* (A), *Aspergillus niger* (B), *Penicillium* sp. (C) respectivement ; a, b, c : confrontation de *Pseudomonas* sp. avec *Botrytis cinérea*, *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. respectivement.

Les effets des substances volatiles émises par *Pseudomonas* sp. ont été plus marqués sur *Penicillium* sp. (75,62%) que sur *Aspergillus niger* (50%) (Fig17 ; Tableau XIII). En effet, chez *B. cinerea* le pourcentage d'inhibition atteint 81 %.

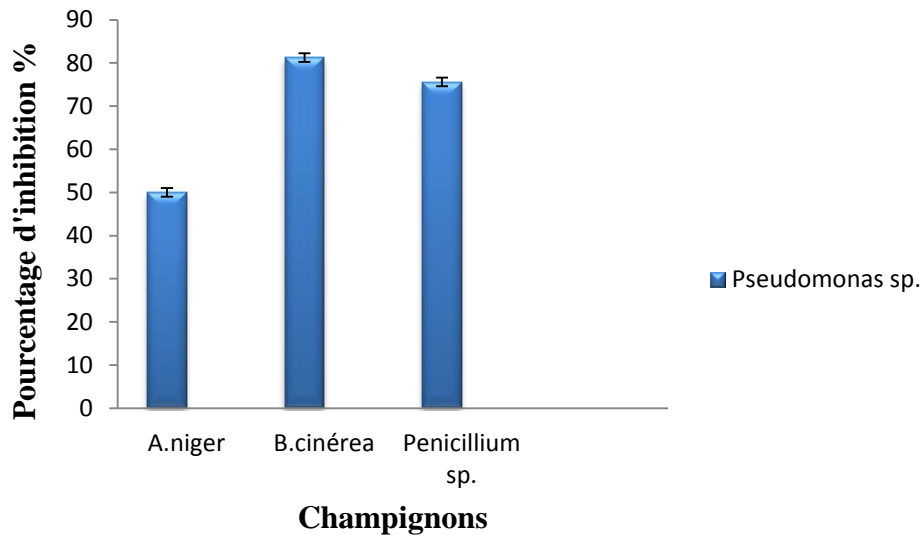


Figure 17 : Représentation graphique des taux d'inhibition fongique par application VOC.

L'analyse de la variance a montré que l'effet des substances volatiles produites par *Pseudomonas* sp. envers les champignons tests ne présente pas des différences significatives ($P > 0,05$) (Annexe 3B).

Il est intéressant de constater que la souche bactérienne du genre *Pseudomonas* sp. avaient un effet inhibiteur différent sur le mycélium des trois champignons phytopathogènes en fonction du type de traitement (direct et/ou VOC : Volatile Organic Compound). La souche *Pseudomonas* sp. inhibe parfaitement le champignon *Penicillium* sp. aussi bien en application VOC qu'en application directe, tandis qu'elle n'affiche un très bon effet inhibiteur qu'en application directe sur la croissance d'*Aspergillus niger*, ainsi sur *Botrytis cinerea*.

Des résultats proches ont été obtenus par MEZAACHE, (2012) qui a mis en évidence des isolats de *Pseudomonas* qui ont inhibés par ordre décroissant l'agent cryptogamique *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* par production de substances volatiles (HCN).

HUNZIKER *et al.* (2014) ont montré dans leur études que des souches du groupe des *Pseudomonas* présentent un très bon effet inhibiteur par l'émission des substances volatiles sur la croissance du *P.infestans* comme la production de cyanure (entre 30% et 50 % de la croissance du témoin). Ce résultat concorde avec le nôtre.

Les souches comme les *Pseudomonas* sp. qui ont de bon effets quel que soit le type de traitement, sont intéressantes et pourraient servir d'antagonistes contre les maladies des plantes et d'après BÖNISCH *et al.* (2014) ce genre de bactéries servent d'antagonistes contre le mildiou de la pomme de terre.

L'HCN étant volatile. La production de substances volatiles inhibitrices pourrait augmenter le taux de survie des bactéries dans le sol, par l'élimination de compétiteurs potentiels pour les nutriments (MACKIE et WHEATLEY, 1999). Ces substances volatiles bactériennes ont pour rôle de promouvoir la croissance des plantes. Exemple le 2,3-Butadienol inhibe la croissance d'*Erwinia carotovora* (RYU *et al.*, 2003a), et stimule *Arabidopsis thaliana* (RYU *et al.*, 2003b).

ASKELAND et MORRISON, (1983) ; KNOWLES et BUNCH, (1986) ont rapporté que la biosynthèse de métabolites secondaires tel que l'HCN a été démontré chez un petit nombre d'espèces bactériennes, comme *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* et *Chrobacterium violaceum*.

La production d'HCN par la souche CHA0 de *Pseudomonas fluorescens* est en partie responsable de ses capacités de biocontrôle, comme la suppression de la pourriture noire du tabac causée par *Thielaviopsis basicola* (VOISARD *et al.*, 1989 ; LAVILLE *et al.*, 1998). Et le fer est à la fois indispensable pour la production d'HCN et la suppression de la maladie (KEEL *et al.*, 1989 ; VOISARD *et al.*, 1989).

2.2.3. Effet du pH du milieu sur l'activité antagoniste des bactéries

Ce test vise à montrer l'influence de la variation du pH du milieu de culture sur l'activité antagoniste de la souche *Pseudomonas* sp. vis-à-vis les trois champignons phytopathogènes (Tableau XIV).

Tableau XIV : Tableau représentant le taux d'inhibition de la croissance mycélienne en fonction du pH du milieu.

Champignons	Taux d'inhibition (%) à pH=8			Taux d'inhibition (%) à pH=11		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinérea</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinérea</i>	<i>Penicillium</i> sp.
Souches bactériennes						
<i>Pseudomonas</i> sp.	71,5%	41,66%	42,85%	63,5%	55%	61,41%

Le taux d'inhibition obtenu à pH 8 et pH 11 pour le champignon *Aspergillus niger* étaient proches et atteignent 70% d'inhibition (Fig.18 et 19).

L'inhibition maximale pour le champignon *Botrytis cinérea* a été obtenue à un pH 7. Par contre pour *Penicillium* sp l'inhibition était maximale à pH 11 avec un pourcentage de 61%. Des résultats similaires ont été obtenus par BOJANOWSKI, (2011).

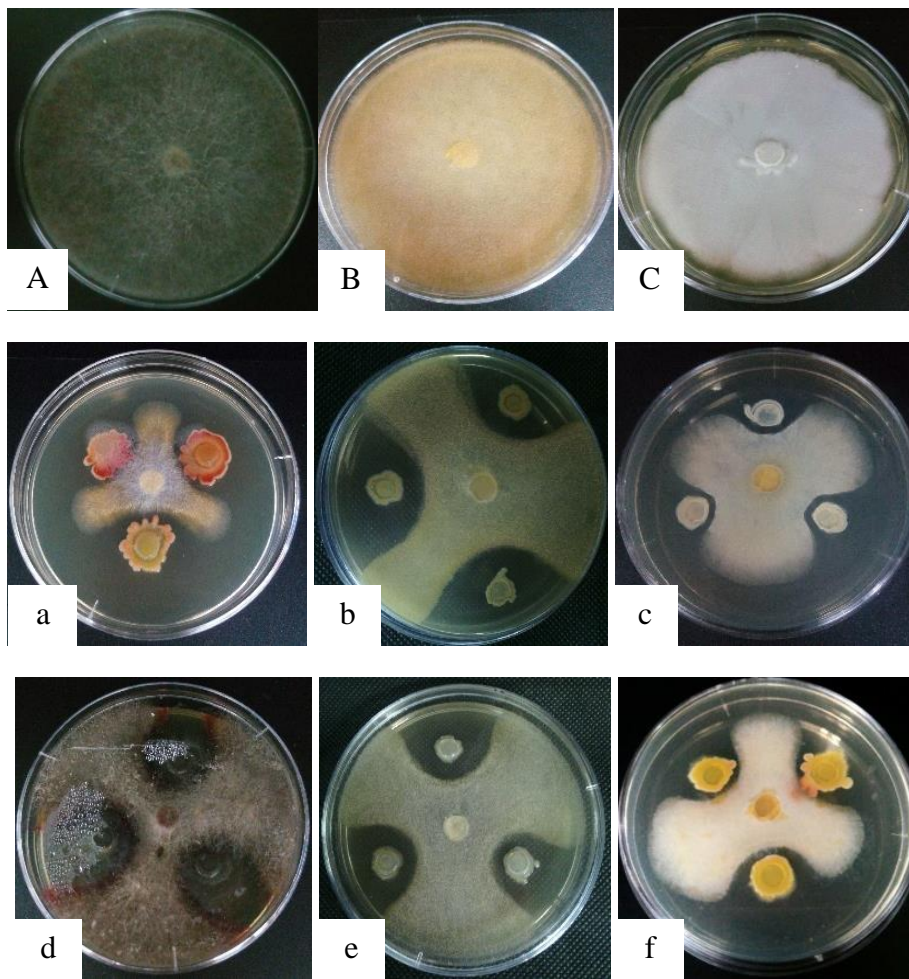


Figure 18 : Photos illustrant l'effet du pH du milieu sur l'antagonisme fongique *in vitro*.

A, B, C : Témoin négatif de *Botrytis cinérea* (A), *Aspergillus niger* (B), *Penicillium* sp.(C) respectivement ; a, b, c : confrontation de *Pseudomonas* sp. avec *Botrytis cinérea*, *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. respectivement à pH= 8 ; d,e,f :confrontation de *Pseudomonas* sp. avec *Botrytis cinérea*, *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp. respectivement à pH= 11.

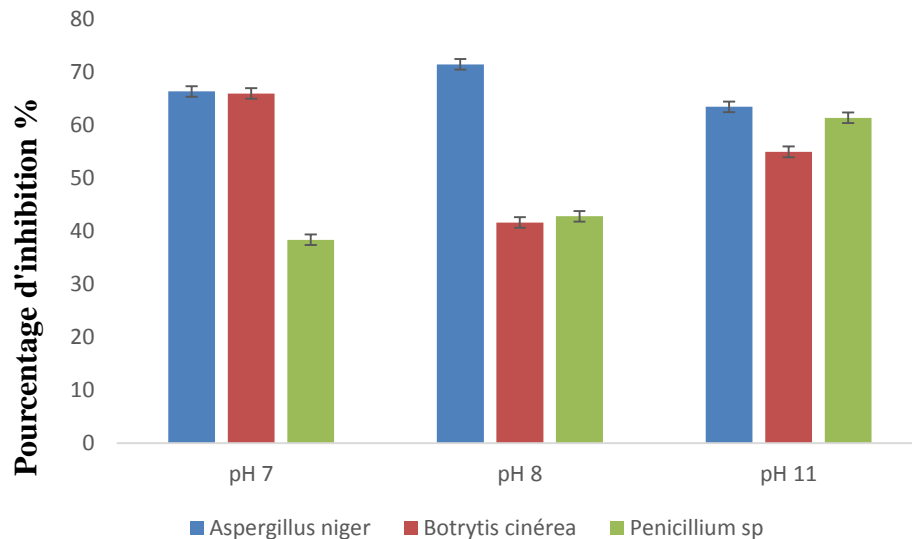


Figure19 : Effet du pH du milieu sur l'activité antagoniste du *Pseudomonas sp.* vis-à-vis des trois champignons phytopathogènes.

L'analyse de la variance a montré que l'effet du pH du milieu sur l'antagonisme de la souche *Pseudomonas sp.* vis-à-vis les trois champignons tests, présente des différences significatives ($P < 0,05$) (Annexe 3C).

Ces résultats sont concordants avec ceux publiés par NEUMEYER *et al.* (1997), la souche *Pseudomonas* est affectée par le pH dans la gamme de 5 à 8 et jusqu'à 12.

KAILOUA et GRAIRI (2015) ont obtenu un pourcentage d'inhibition de 50% et de 63% en testant l'activité antifongique des actinomycètes contre *A.niger* et *F.oxysporum* sur le milieu Bennett à pH=8. Ce résultat est proche du nôtre.

Selon KELLER *et al.* (1997), les micromycètes peuvent se développer dans une large gamme de pH ; elles se développent normalement pour des pH compris entre 3 et 8, leur croissance étant normalement optimale entre 5 et 6. En raison de leur acidité ($pH < 6$) de nombreux aliments comme les légumes et les fruits sont beaucoup plus exposés à une altération fongique que bactérienne.

2.3. Stimulation de la croissance de la plante de tomate *in-vivo* par *Pseudomonas* sp.

L'induction de la stimulation de la croissance des plants de tomate, par bactérisation des feuilles après plantation a été plus marquante avec une hauteur de 45 cm en comparaison avec le témoin non traité (36 cm) (Tableau XV). En effet, les plantes ont mieux poussé après l'inoculation par *Pseudomonas* sp. où l'on a remarqué que la stimulation la plus élevée est obtenue avec cette isolat dès la deuxième semaine d'inoculation (Tableau XV ; Fig. 21). Par contre la stimulation de la croissance des plants par bactérisation des racines avant plantation a été moins marquante avec une hauteur de 30 cm en comparant avec celle par bactérisation des feuilles et avec le témoin non traité (Tableau XV ; Fig. 21). Des résultats similaires ont été obtenus par MOURIA *et al.* (2007).

Tableau XV : Résultats de l'estimation de la hauteur des plants de la tomate après inoculation par *Pseudomonas* sp.

La hauteur des plants de tomates (cm) en fonction du temps (moyenne des cinq essais \pm l'écart-type)							
plants	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Témoins	10,5	13,1 \pm 0,74	13,3 \pm 1,74	15 \pm 1,9	16,34 \pm 2,13	21,2 \pm 1,78	36,8 \pm 7,91
Racines	10,4	12,6 \pm 2,67	12,9 \pm 2,55	13,9 \pm 2,88	15,66 \pm 3,18	21 \pm 6,16	30 \pm 6,16
Feuilles	10,5	12,9 \pm 1,81	14,04 \pm 2,25	19,03 \pm 5,85	23,1 \pm 6,13	35,1 \pm 5,74	45 \pm 5,19



Figure 20 : Photos illustrant l'effet de l'application de *Pseudomonas* sp. sur la croissance des plants de tomate ;

(A) après 2 semaines d'inoculation et (B) après 6 semaines d'inoculation.

a : témoins sans traitement.

b : racines inoculées par *Pseudomonas* sp.

c : feuilles et tiges pulvérisées par la suspension bactérienne *Pseudomonas* sp.

Comme le montre les figure 20A et 20B un effet positif dû à l'inoculation par *Pseudomonas* sp. est observé sur la hauteur des plants de la tomate. Pour les variables : racines ; feuilles et témoins la différence est hautement significative au seuil de 5% ($P < 0,05$) (Annexe 3D). Ce qui montre que la souche *Pseudomonas* sp. a induit la meilleure réponse de stimulation des paramètres de croissance des plants de tomate. En effet, les plantes inoculées par cette souche ont montré une meilleure croissance axiale (hauteur).

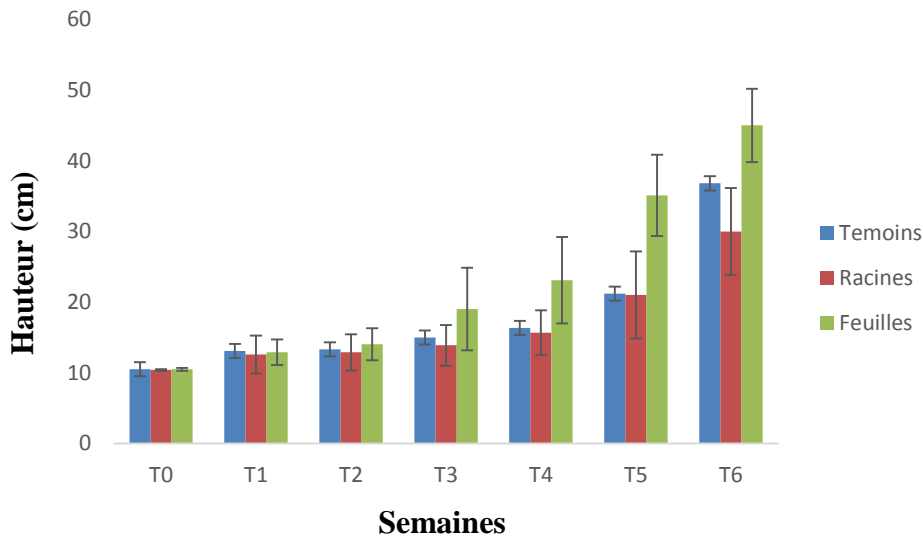


Figure 21 : Représentation graphique de la croissance des plants de tomate après inoculation par *Pseudomonas* sp.

La finalité de la bactérisation est d'augmenter le rendement des cultures. Seules certaines souches semblent présenter cette capacité, elles ont été appelées « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » (PGPR). L'augmentation de rendement d'une culture bactérisée résulte de 2 effets bénéfiques principaux : la stimulation de croissance des plantes et la protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique (LEMANCEAU, 1992).

Les PGPR, sont un groupe de microorganismes diversifié présentant deux caractéristiques principales : la capacité de coloniser la rhizosphère d'une part et une influence positive sur la croissance de la plante à laquelle elles sont associées d'autre part (LOPER et GROSS, 2007).

LEMANCEAU, (1992) a rapporté que l'utilisation de certaines souches de *Pseudomonas* spp. *fluorescents* aptes à se maintenir et à se développer sur le système racinaire s'accompagne d'effets bénéfiques significatifs pour les plantes inoculées.

BOSSIS *et al.* (2000) ont rapporté que les bactéries appartenant aux espèces de *Pseudomonas* spp. *fluorescents* présentent un intérêt potentiel pour l'environnement. Certaines améliorent la croissance et la santé des plantes, et contribuent donc à réduire l'utilisation d'intrants de synthèse en agriculture, ces résultats concordent avec le nôtre.

MICHEL *et al.* (2012) ont montré que l'inoculation des plantules de tomates avec la souche antagoniste *Pseudomonas fluorescens* PF-CHA0 a permis une diminution des symptômes de la maladie de 92 % causée par *P. ultimum* sur la tomate.

EXPERT et DIGAT (1995), ont montré que l'on obtient une protection significative du tournesol vis-à-vis de *Sclerotinia sclerotiorum* par une bactérisation des semences avec *P. fluorescens* ou avec des *P. putida*.

KLOEPPER, (1983) proposa d'utiliser les capacités antagonistes de certaines bactéries du groupe des *Pseudomonas* spp. *fluorescents* pour protéger les tubercules et les plants de pomme de terre.

La production par les microorganismes de régulateurs des plantes est un mécanisme important souvent associé à la stimulation de la croissance (VESSEY, 2003).

La balance entre la croissance végétative et reproductrice est contrôlée par un signal hormonal à l'intérieur de la plante et pourrait être hautement influencé par celle-ci (TAIZ et ZEIGER, 1991).

ABBASS et OKON, (1993) ont constaté que l'AIA ainsi que d'autres phytohormones seraient responsables de l'augmentation de la croissance de canola du blé et de la tomate. En effet SRIVASTAVA et HANDA, (2005) ont rapporté que l'AIA est impliqué dans le développement de la tomate, spécialement durant la phase finale du développement du fruit.

Environ 80% des bactéries rhizosphériques sont capables de produire de l'AIA (SANDHYA *et al.*, 2009). La production de cette hormone par *Pseudomonas* est bénéfique pour la croissance et le développement végétal. Elle joue un rôle très important dans la division cellulaire, l'élongation des racines, la prolifération des poils absorbants et dans le mécanisme de tolérance de la plante (SANDHYA *et al.*, 2010).

Des études préalables, ont démontré que la production d'auxines est souvent associée avec la stimulation de croissance par les microorganismes, incluant des souches tel que *Pseudomonas putida* (XIE *et al.*, 1996 ; PATTEN et GLICK, 2002).

Un bon nombre de souches de *Pseudomonas* solubilisent modérément les phosphates organiques et inorganiques (CHABOT *et al.*, 1993 ; RODRIGUEZ et FRAGA, 1999), et sont à l'origine de l'augmentation de la croissance et des rendements de canola (DE FREITAS *et al.*, 1997), et du soja (CATTELAN *et al.*, 1999).

Dans cette étude, nous avons isolé et pré-identifier 11 souches, dont 4 souches correspondent aux genres (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia* et *Staphylococcus*) et 7 souches de genres inconnus.

Les 11 souches ont été testées par les méthodes de confrontation directe et indirecte en VOC par le test *in vitro*, il en est ressorti que seule une souche avait développé un effet antagoniste vis-à-vis des trois champignons phytopathogènes (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp.). *Pseudomonas* sp. a inhibée la croissance de ces champignons avec des taux variant entre 38,4 % et 66,4 % en application directe, en application indirecte, cela varie entre 50% et 81,25 %. La souche *Serratia* a un effet inhibiteur que vis-à-vis de *Botrytis cinerea* avec un pourcentage de 76,8%.

Le test d'antagonisme a été étudié sur 3 variable de pH : pH 7 étant le pH initial, pH 8 et pH 11. Pour le pH 8, les taux d'inhibitions des trois champignons sont compris entre 41,66 % et 71,5 %. Au pH 11, cela varie entre 55 % et 61,41 %.

L'inoculation des plants de tomates par une suspension de *Pseudomonas* sp. a stimulé de façon significative la croissance de leur tiges d'ont on a mesuré une hauteur maximale de 45cm sur les plans inoculés, contrairement au témoins non- inoculés on a mesuré une hauteur maximale de 35cm. La souche *Pseudomonas* sp. a un effet bénéfiques vis-à-vis de la tomate.

L'étude *in vitro* de *Pseudomonas* sp. a montré qu'il était possible d'inhiber la croissance des champignons pathogènes (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp.) *in vitro* et d'optimiser la croissance des plants de tomates via stimulation par les PGPR *in vivo*. Ces résultats confirment l'importance des molécules produites par cette souche dans l'amélioration de la croissance des plantes et le contrôle des pathogènes fongiques.

L'utilisation de ces microorganismes constitue une alternative biologique à l'emploi de produits chimiques, essentielle à une agriculture saine et durable dans un souci de protection de l'environnement.

En perspectives pour cette étude, il est recommandé :

- De compléter l'identification des souches jusqu'au niveau de l'espèce par les caractéristiques chimiotaaxonomiques et moléculaires plus approfondies ;
- De purifier les molécules antifongiques produites par ces insolas et déterminer leur structure.
- D'élucider les mécanismes par lesquels les PGPR stimulent la croissance et protège les plantes : production de phytohormones, production de sidérophores, solubilisation du phosphate et induction du système de la résistance de la plante ;
- Elargir le spectre d'étude en étudiant l'effet antagoniste sur d'autres champignons phytopathogènes.
- Etudier l'effet de l'inoculation de *Pseudomonas* sur le rendement.
- Tester l'activité antifongique de *Pseudomonas* sp. in vivo, sur les mêmes plants de tomates, en les inoculant par les champignons phytopathogènes.
- Tester un nombre de souches plus important tout en diversifiant les origines géographiques.
- Evaluer l'efficacité de ces agents de lutte biologique potentiels sur une grande échelle (en serre puis en champs).

- **ABBASS., ZOKON Y. (1993).** Plant growth promotion by *Azotobacter paspali* in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*. 25:1075–1083.
- **AGGARWAL A. (2014).**Effect of benomyl and Dithane M45 on *Mycroflora, mycorrhizae* and growth enhancement of *Heliannus annus*. *New York Sciences*. 7(11):7-15.
- **AHEMAD M., KHAN M.S. (2010).** Improvement in the growth and symbiotic attributes fungicide stressed chickpea plants following plant growth promoting fungicide tolerant mesorhizobium inoculation. *African Journal of basic and Applied Science*. 2(3-4): 111-116.
- **AHMAD I., AKHTAR M.J., ZAHIR Z.A et JAMIL A. (2012).** Effect of Cadmium on seed germination and seedling growth of four wheats (*Triticum aestivum L*) cultivars. *Pakistan. Journal. Botany*. 44(5): 1569-1574.
- **ALEXANDER M. (1961).** Introduction to soil microbiology. John Wiley and Sons. Inc. New York, 472.
- **ALLIOUI N. (1997).** Etude de quelques altérations physiologiques et biochimiques causées par la rouille brune du blé (*Puccinia recondita.F.sp. Tritici*) chez le blé dur (*Triticum durum. Desf*). Thèse de Magistère en Biologie Végétale. Université d'Annaba. 110 p.
- **ANONYME.(2005).**Fungi as plant pathogens. *Fungal biology*.
- **ASKELAND R.A., MORRINSONS.M. (1983).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Environment Microbiology*. 45: 1802-1807.
- **AVINASH V.S et HOSMANI S.P.H. (2012).** Effect of carbendazim on morphological and biochemical parameters of sorghum bicolor. *Indian Journal of Research*. 1(10): 12-14.
- **BACA B.E., ELMERICH C. (2007).** Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations *Microbial Production of Plant Hormones*.113-143.
- **BADJI B., RIBA A., MATHIEU F., LEBRIHI A., SABAOU N. (1983).** Activité antifongique d'une souche d'*Actinomadura* d'origine saharienne sur divers champignons pathogènes et toxinogènes. *Journal de Mycologie Médicale*, 15, pp. 211-219.

- **BAKER R.(1986).** Biological control: an overview. *Canadian Journal Plant pathology.* 8: 218-221.
- **BELABID D. (1993).** Etude de la rouille brune (*Puccinia recondita* Rob ex Desmf *spristici*) du blé tendre (*Triticum eastivum* L) dans l'Ouest Algérien. *Thèse de magister* en phytopathologie. Université de Tizi-Ouzou. 105 p.
- **BELL-PERKINS L. J., LYNCH J.M. (2002).** Rhizosphere microbiology, p. 2713-2728. In G. Bitton (ed.), *Encyclopedia of environmental microbiology*, A Wiley-Interscience Publication, Canada.
- **BHARAT N.K. (2011).** Effect of commonly used fungicides on *Arbuscular-Mycorrhizal* Association with apple roots. *World Journal of Science and Technology.* 1(6): 61-64.
- **BIKROL A., SAXENA N., SINGH K. (2005).** Reponce of Glycine Max in relation to nitrogen fixation as influenced by fungicide seed treatment. *African Journal of biotechnology.* 4(7): 667-671.
- **BOJANOWSKI A. (2011).** Molécules antifongiques et activité antagoniste de deux souches de *Pseudomonas* envers *Helminthosporium solani*, agent responsable de la tache argentée de la pomme de terre. Thèse doctorat. Université Laval, Québec.
- **BÖNISCH D., WEISSKOPF L., HUNZIKER L. (2014).** Les bactéries de la rhizosphère freinent la croissance de l'agent du mildiou, *Recherche Agronomique Suisse* 5 (10) : 430–433.
- **BOOSALIS M., MANKAU R. (1965).** Parasitism and predation of soil microorganism. In F.Baker W.Synder (Eds), *Ecology of soil-born plant pathogens* (pp. 374-391). Berkely University of California Press.
- **BOSSIS E., LEMANCEAU P., LATOUR X., GARDAN L (2000).** The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie.* 20: 51-63.
- **BOUARICHA H., BERREBBAH H., GRARA N., DJEBAR M.R. (2012).** Reponce of *Parame cuimsp* with respect to an insecticide (Proclain) growth, content of MDA, Acheivement activity and respiratory metabolism. *Journal of Appleid Science Research.* 8(8): 4172-4180.
- **BOUZIANI. (2007).** L'usage immodéré des pesticides, de grave conséquence sanitaire. Le guide de la médecine et de la santé en Algérie. *Revue santé Maghreb :* 27-37.

- **BRUN-COTTON. (1980).** Density of standard seawater solution and atmospheric pressure. *Deep-Sea Research*. 27A: 1013-1023.
- **BUYER J.S., LEONG J. (1986).** Iron transport-mediate antagonism between plant growth-promoting and plant-deleterious *Pseudomonas* strains. *Journal. Biology. Chemistry*. 261:791-794.
- **BUXTON P.A. (1960).** British Diptera associated with fungi. Flies of all families reared from about 150 species of fungi. *Entomology. Mondial Magasin.*, 96, 61-94.
- **CALONNE M., FONTAINE J., DEBIANE D., LARUELLE F., GRANDMOUGIN-FERJANI, HADJ-SAHRAOUI L. (2010).** Propiconazole Toxicity on the Non Target Organisme, the Arbuscular Mycorrhizal fungus, *Glomus irregular*. Fungicides. Odile Carisse(Ed), Intitut Technology, 538.
- **CALVEL R., BARRIUSO E., BEDOS C. BENOIT P., CHARNAY M.P., COQUET Y. (2005).** Les pesticides dans le sol : conséquence agronomique et environnementale. Edition France Agricole, 637p.
- **CAMPO J.R., ARAUJO R.S., HUNGRIA M. (2009).** Nitrogène fixation with the soybean crop in Brazil: Compatibility between bradyrhizobial inoculants. *Symbiosis*. 48: 154-163.
- **CAMPSC., MICHEL V., MARTINEZ C., LUTZ M.P. (2012).** Souche de *Lactobacillus* utilisée comme agent de lutte biologique contre *Pythium ultimums* ur tomate, *Revue suisse Viticulture Arboriculture Horticulture*, Vol. 44 (6) : 344–348.
- **INUNGARAY M.L., MORALES M., RODRIGUEZ G.D.C., ALVARADO M.A., REYES M., ROBLES V. (2014).** Activity of *Penicillium digitatum* growth, 1Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Ciudad Valles, México, *Journal of Applied Mathematics and Physics*, 2014, 2, 930-937.
- **CAVAGLIERI L., ORLANDO J., RODRIGUEZ M. (2005).** Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticilloids* in vitro and at the maize root level. *Research Microbiology*, 156(5-6):748-754.
- **CATTELAN A.J., HARTEL P.G., FUHRMANN J.J. (1999).** Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Science Society of American Journal*. 63:1670–1680.
- **CHABOT R., ANTUN H., CESCAS M. (1993).** Stimulation de la croissance du maïs et de la laitue romaine par des microorganismes dissolvant le phosphore inorganique. *Canadian Journal Microbiology*. 39: 941-947.

- **CHERIF H. (2014).** Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp. Et *Pantoea agglomerans* isolées de sols salins, Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Sétif.
- **CHHABRA M.L., JALALI B.L. (2013)** .Impact of pesticides- Mycorrhiza interaction on growth and development of wheat. *Journal Biopesticides*. 6(2): 129-132.
- **CLARCK J.M., ROMAGOSA I., JANA S., SRIVASTAVA J.P et MAC CAGE. (1989).** Relation strip of excised leaf water loss rate and yield of *Triticum durum* wheat in diverse environments. 1075-1081.
- **CLARK H.C. (1969).** Pulse interval as a critical parameter in the courtship song of *Drosophila melanogaster*. *Animal Behaviour*. 17: 755--759.
- **CLARK R.V.(1968).** Oat yield losses due to Crown Rust. *Canadian. Plant. Disease. Survey.*, 48 (4).
- **CONFAIS J. (2004).** Etude de la résistance de *Venturia inaequalis*. Fongicides à différentes familles chimiques de fongicide. Mémoire d'école pratique des hautes études en science de la vie et de la terre. Lyon, 26p.
- **COOK R.J., ROVIRA A.D. (1976).** The role of bacteria in the biological control of *Gaeumannomyces graminis* by suppressive soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 8, pp. 269-274.
- **CORBAZ. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses Polytechniques et universitaire Romands, 1ere Edition, CH-1015 tausanne ; 283p.
- **COUDERCHET M. (2003).** Benefits and problems of fungicides control of *Botrytis cinerea* in Vineyards of Champagne. *Review, Vitis*. 42(4): 165-171.
- **COUVREUR F. (2002).** Fongicides des céréales et protéagineux. Ed ITCF avec la participation de l'ANDA. France .216 p.
- **DAHOUN-TCHOULEK Y., MOUSSAOUI K.M. (2003).** L'utilisation des pesticides en Algérie : Enquête et analyse. Organisation de la recherche biomédicale et en santé en Algérie. Activité de l'agence nationale pour le développement de la recherche en santé, 169p.
- **DANDURAND L.M., KNUDSEN G.R., Ph D., J D. (2013).** Phytopathologie : l'Étude de la Santé des Plantes, 1ère édition, Moscow, Idaho, États-Unis.
- **DAVET P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétale. pp 383 imprimé par JOUVE.

- **DEAN R., VAN K., JANA. L, PRETORIUS Z.A., HAMMOND-KOSACK K.E., DI PIETROA., SPANU P.D., RUDD J.J., DICKMANM., KAHMANNR., ELLIS J., FOSTER G.D. (2012).** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology; *Molecular Plant Pathology*, 4(13); 414-430.
- **DECOIN M., WHIPPS J.M., NICOT P., GULLINO M.L., SPADARO, D. (2002).** Micro-organismes contre agents pathogènes. *Phytoma-La Défense des Végétaux*. 549 : 32-36.
- **DE FREITAS J.R., BANARJEE M.R., GERMIDA J.J. (1997).** Phosphate-solubilising rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorusuptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biology. Fertilizing. Soils*, 24: 358-364.
- **DELARRAS C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'Analyse ou de contrôle sanitaire. Edition. Lavoisier, Paris.
- **DILFUSA E., GISELA H. (2002).** Root colonization and growth promotion of winter wheat and pea by *Cellulomonas* spp. at different temperatures.78p.
- **DICKSON G. (1959).** Chemical Control of Cereal Rust, *Botany. Revue*. 25: 486-513.
- **DJEBALI N., KHELILI K. (2009).** Contribution à l'étude de l'impact d'un fongicide (dithiocarbonate de manganese: Manèbe) sur quelques paramètres de la fertilité masculine chez le lapin (*Oryctolagus Cuniculus*). *Afrique Science*. 5(2) : 321-329.
- **DJELLOULI F. (2013).** Aspect qualitatif et quantitatif des lipoprotéines sériques chez les agriculteurs utilisant les pesticides dans la région de Tlemcen. Thèse de Magister en biologie. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 63p.
- **DOBBS R.A et COLLJ.M. (1960).** Carbon absorption isotherms for tonic organics, Municipal Environmental Research Laboratory, U.S. EPM Repport- 600/8-80-023.
- **DOMMERGUES Y., MANGENOT F. (1970).** Ecologie microbienne du sol, Masson et C^{IE}, Editeurs, Paris,796p.
- **DUVAL J. (1994).** La pourriture grise des fraises. *Revue Agronomie et Biologie*. 330-13.
- **ELLIS M.A. (1994).** PowderyMildew of Grape. *Plant Pathology*, HYG-3018.
- **ELLIS M.A. (1995).** DownyMildew of Grape. *Plant Pathology*, HYG-3013.
- **ESQUERRE-TUGAYE. M.T. (2001).**Plantes et agents pathogènes, uneliason raffinée et dangereuse : l'exemple des champignons.C.R. Académie. Sciences. Paris, *Sciences de la vie / Life Sciences*. Vol : 324. 899–903.
- **ESSALMANI H., LAHLOU H. (2002).**Etude *in vitro* de l'activité antagoniste

de quelques microorganismes à l'encontre de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*
Cryptogamie, Mycologie. 2 :1-14.

- **EXPERT J.M., DIGAT B. (1995).** Biocontrol of Sclerotinia wilt of sunflower by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains. *Canadian Journal Microbiology*. 41(8): 685-691.
- **FRAVAL A., SILVY C. (1999).** La lutte biologique. Dossiers de l'Environnement de l'INRA n°19, Paris, 274 p.
- **FRAVEL D. R. (2005).** Commercialization and implementation of *biocontrol*. *Annual Review of Phytopathology* 43 : 337-359.
- **FRIDLENDER M., INBAR J., CHET I. (1993).** Biological control of soil-borne plant pathogens by a b-1,3-glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology. Biochemistry*. 25:1211–1221.
- **GAPESSIE N'TIENDJURIL., TAMUNGANG S.A., NGOULA F., ATEUFAK G., TCHOUMBOUE J. (2009).** Effet de toxicité des pesticides manèbe et chlorpyrifos-Ethyle sur un poisson d'eau douce, *Oreochromis niloticus*. *International Journal Biology Chemistry Sciences*. 3(1) : 48-53.
- **GILLBERT G. (1999).** La résistance des champignons aux fongicides au Québec, la semaine horticole : Ministre de l'Agriculture et de la Pêche et de l'Alimentation, 22p.
- **GUIRAUD J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Ed., Dunod, Paris.
- **HAAS D., DEFAGO G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *pseudomonads*. *National. Revue. Microbiology*. 3: 307–319.
- **HAAS D., KEEL C.(2003).** Regulation of antibiotic production in root-colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant disease. *Annual. Revue. Phytopathology*. 41:117–153.
- **HALLAM H. (2010).** The evaluation of the release and uptake of the fungicide tebuconazole from a novel micro encapsulated formation. Thèse de doctorat, université of Nottingham, 187p.
- **HUNZIKER L., BÖNISCH D., WEISSKOPF L. (2014).** Les bactéries de la rhizosphère freinent la croissance de l'agent du mildiou, *Recherche Agronomique Suisse* 5 (10) : 430–433.

- **IBIAM O.F.A., UMECHURUBA C.I., ARINZE A.E. (2008).** In vitro seed dressing technique for the control of seed-born fungi of rice variety Faro-29. *Journal Applied Sciences and Environmental Management*. 12(3): 39-43.
- **IKEDIUGWU F.E.O., WEBSTER J. (1970).** Hyphal interference by *Peniphora gigantea* against *Heterobasidio nannosum*. *Transaction of the British Mycological Society*, 54, 307-9.
- **JALEEL A.C., GOPI R., SANKAR B., MANIVANNAN P., KISHORKUMAR A., SRIDHARAN R et PANEERSELVAM R. (2007).** Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and proline metabolism in *catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South Africa journal of Botany*. 73:190-195.
- **JOFFE A.Z. (1966).** *Aspergillus Flavus* Link and other fungi associated with stored groundnut kernels. *Journal. Botany* 14,198.
- **JAVOID A., ASHRAF A., AKHTAR N., HANIF M., ASADFAROOQ.(2006).** Efficacy of some fungicides against seed born mycoflora of Wheat. *Mycopathology*. 4(1): 45-49.
- **JUAN B., LEMAIRE J.M., LEMARCHAND E. (1974).** Mise au point sur la gangrène ou « *Phoma* » de la pomme de terre, *Phoma exigua* var. *exigüe* et var. *Foveata*. *Sciences Agronomiques Rennes*, 97-110.
- **KAIIOUA A., GRAIRI I. (2015).** Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souches d'actinomycètes et du genre *Pseudomonas* isolées des sols rhizosphériques. Mémoire Master. Université des Frères Mentouri Constantine, Algérie.
- **KATZNELSON H., COLE C.E. (1965).** Production of gibberellin like substances by bacteria and actinomycetes. *Canadian Journal Microbiology*. 11: 733p.
- **KEEL C., HAAS D., DEFAGOG. (1989).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal*. 8:351–358.
- **KEEL C., VOISARD C., BERLING C.H., KAHR G., DEFAGO G. (1989).** Iron sufficiency, a prerequisite for suppression of tobacco black root rot in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*. 79: 584-589.

- **KELLER S.E., SULLIVAN T.M., CHIRTEL S. (1997).** Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH, *Industrial. Microbiol., Biotechnology*, 19, 305-309.
- **KENNEDY I.R., PEREG G.L.L., WOODG., DEAKERR., GLICHRISTK., KATUPITIYAS. (1997).** Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: facilitating the evolution of an effective association between *Azospirillum* and wheat. SUNFix Centre for Nitrogen Fixation, Department of Agricultural Chemistry and soil Science, University of Sydney, NSW, Australia
- **KLOEPPER J.W. (1983).** Effect of seedpiece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and daughter tubers. *Phytopathology*. 73: 217-219.
- **KLOEPPER J.W., SCHER V.M., LALIBERTE M. (1986).** Emergence –promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. In: Swinburne, T.R (Ed), *Iron Siderophors and Plant Diseases*. Plenum Press, New York. 155-164.
- **KNOWLES C. J., BUNCH A.W. (1986).** Microbial cyanide metabolism. *Advances. Microbial. Physiology*. 27: 73-111.
- **LEMANCEAU P. (1992).** Effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie*, 12 : 413-437.
- **LEPOIVRE P. (2003).** Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. Les presses agronomiques de Gembloux, 1^{ère} Ed ; Editions De Boeck Université, Bruxelles.
- **LEROUX P. (1973).** Mode d'action des fongicides utilisés sur céréales, compte rendu de journée d'étude Versailles. 85-106.
- **LEROUX P. (2002).** Mode d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *Biologie et pathologie végétales*, 326p.
- **LEROUX P. (2003).** Fungicide resistance in plant pathogens: A phenomenon difficult to manage *Phytoma.*, 566: 36-40
- **LEROUX P., CHAPELAND F., DESBROSSES D., GREDT M. (1999).** Patterns of cross resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop. Protection*. 18: 687-697.
- **LEVEAU J.Y., BOUX M., DE ROISSART H. (1991).** La flore lactique ; in : « Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires » Ed., Lavoisier, Paris.

- **LHOSTE J. (1947).** Ce Qu'il faut savoir des maladies des plantes cultivées et de leurs ennemis : la pratique des soins à donner au potager au verger, aux grandes cultures/tome I. Paul Lechevalier Editeur ; Paris (VI^e).
- **LOCKWOOD J.L. (1964).** Activation of soil microflora by fungus spores in relation to soil fungistasis. *Journal of Genetic Microbiology*. 35: 215-227.
- **LOPER J.E., GROSS Æ.H. (2007).** Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *European Journal of Plant Pathology*. 119: 265–278.
- **LOPER J.E., SCHROTH M.N. (1981).** Factor affecting antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathol.* 70: 871-891.
- **LUTCHMEAH R.S., COOK R.C. (1984).** Aspects of antagonism by the mycoparasite *Pythium oligandrum*. *Transactions of the British Mycological Society*, 83, 696-700.
- **MACKIE A.E., WHEATLEY R.E. (1999).** Effects and incidence of volatile organic compound interactions between soil bacterial and fungal isolates. *Soil Biology and Biochemistry*. 31: 375–385.
- **MARCHAL N., BOURDON J.L. (1982).** Les milieux de cultures pour isolement et l'identification biochimique des bactéries. DOIN éditeur, Paris, 442.
- **MEHRI M. (2008).** Etude d'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faible doses : Caractérisation des effets sur les lignées cellulaires humaine et sur le système héματο-protéique murin. Thèse du doctorat en pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition. Université de Toulouse, 140p.
- **MEZAACHE S. (2012).** Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre, Thèse, Université Ferhat Abbas, Sétif.
- **MICHEL V., CAMPSC., MARTINEZ C., LUTZ M.P. (2012).** Souche de *Lactobacillus* utilisée comme agent de lutte biologique contre *Pythium ultimum* sur tomate, *Revue suisse Viticulture Arboriculture Horticulture*, Vol. 44 (6) : 344–348.
- **MILLER S A., RIEDEL R.M., ROWE R.C. (1995).** Damping-off and Root Rot of Beans. *Plant Pathology*. HYG-3110.
- **MINAMORA.A. (2013).** Effect of two fungicides (Caocobre and Ridomil) on Germination and radical elongation of Cocoa (*Theobroma cacao* L) Seedlings. *International Journal of Pure Applied Science Technology*. 15(1):79-86.

- **MOENNE-LOCCOZ Y., POWELL J., HIGGINS P., McCARTHY J., O’GARA. (1998).** An investigation of the impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* F113 on the growth of sugar beets and the performance of subsequent clover-rhizobium symbiosis. *Applied. Soil. Ecology.*7: pp. 255-237.
- **MOORE E.R.B., TINDALL B.J., MARTINS DOS SANTOS V.A.P., PIEPER D.H., RAMOS J.L., PALLERONIN.J. (2006).** Nonmedical: *Pseudomonas*, p.646-703. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), *Prokaryotes*, Springer, USA.
- **MOORE M.T., KROGER R. (2010).** Effect of three insecticides and two herbicides on rice (*Oryza sativa*) seedling germination and growth. *Archeive Environment Contamination Toxicology.* 59:574-581.
- **MOREAU R., SCHAEFFER R. (1959).** Etude forestière, pédologique et microbiologique d’un bois très dégradé de la Haute Saône, Dans *Revue. Foresterie. Française.*, pp. 417-433.
- **MOULAY AHMED E.M. (2011).** Statut Oxydant/Antioxydant chez les agriculteurs consommateurs de pesticides dans la région de Tlemcen. Mémoire du Magister en Nutrition. Université Abou Bekr Belaid de Tlemcen, 85p.
- **MOURIA B., OUAZZANI-TOUHAMI A., DOUIRA A. (2007).** Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat, *Phytoprotection*, vol. 88 (3) ; 103-110.
- **MOUSSAOUI K.M., BOUSSAHEL R., DAHOUN-TECHOULEK Y., HAOUCHINE O., BENMAMI M., DALACHI N. (2001).** Conférence sur l’utilisation, évaluation et impact des pesticides en Algérie. Laboratoire des Sciences et Techniques de l’environnement, Ecole Nationale Polytechnique.
- **NEUMEYER K., ROSS T., MCMEEKIN T.A. (1997).** Development of a Predictive Model to Describe the Effects of Temperature and Water Activity on the Growth of Spoilage Pseudomonads. *International Journal of Food Microbiology*,38, 45-54.
- **NIRANJAN S., RAJ H.S., SHETTY., REDDM.S. (2005).** Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Potential Green Alternative for Plant Productivity. Printed in the Netherlands.Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 197–216.

- **PAN S., KHALKO S., DAS., A. (2010).** Effect of some fungicides on seed mycoflora, germination, Viability and their persistence in treated seeds. *The Journal of plant protection Science*. 2(1):59-64.
- **PARK C., PAULTZ T., BAKER R. (1956).** Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber with nonpathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal microbial*. Vol. 33, 349-353.
- **PATTEN C.L., GLICK B.R. (2002).** Regulation of indole acetic acid production in *Pseudomonas putida* GR12-2 by tryptophan and the stationary phase sigma factor RpoS. *Canadian Journal. Microbiology*. 48: 635-642.
- **PAYEN G.G., RUBILIANI C., HUBERT M. (1982).** Mise en évidence en fonction de synthèse d'absorption et de transfert de substances par les racines des rhizocephales Sacculinidae, 69 : 255.
- **PHARMACOPEE EUROPEENNE ADDENDUM (2000).** Contrôle microbiologique des produits non stériles (recherche des microorganismes non spécifiés). Solution et milieux de cultures recommandés, 56-61.
- **PIANO C.G., TANG W.H., CHE Y.X. (1992).** Study of the biological activity of yield increasing bacteria. *China Journal Microbiology*, 4, 55-62.
- **RAAIJMAKERS J.M., DE BRUIJN L., DE KOCK M.J.D. (2006).** Cyclic lipopeptide production by plant-associated *Pseudomonas* spp.: diversity, activity, biosynthesis, and regulation. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 699-710.
- **RAAIJMAKERS J.M., VLAMI M., de SOUZA J.T. (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Anton Leeuw*. 81,537-547.
- **RABHIN.H. (2011).** Isolement de *Pseudomonas* spp. Fluorescents d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels, Magistère, Université Ferhat Abbas, Setif.
- **RAKOTOARIMANGA N., ZANANIRINA J., RAMAMONJISOA D., RAMANANKIERANA H. (2014).** Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate pourri (*Solanum lycopersicum* L., 1753), *Afrique SCIENCE* 10(3) : 243 – 255.
- **REGNAULT-ROGER. (2005).** Produit de protection des plantes innovation et sécurité pour une agriculture durable. Edition Lavoisier, Technologie et Documentaires, 341p.
- **REYES G. A., ELLIOT H et St. JOHNSON D. (2004).** The *Drosophila* AP axis is polarised by the cadherin-mediated positioning of the oocyte. *PubMed*; (18):3635-44.

- **RIBA A. (1999).** Connaissance et interprétation actuelles relatives aux rôles des facteurs biotiques et abiotiques dans la résistance des sols aux fusarioses vasculaires. Séminaire national sur l'agriculture et l'hydraulique en zone arides et semi-arides, Ouergla, 16p.
- **RISHBETH J. (1952).** Control of *Fomes annosus* Fc. *Forestry* 25, pp 41-50.
- **ROCHER F. (2004).** Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie-phloémienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réaction de défense. Thèse de Doctorat de L'université de Poitiers, 163p.
- **RODRIGUEZ H., FRAGA R. (1999).** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*. 17:319–339.
- **ROGERS H.J., BUCK K.W., BRASIER C.M. (1986).** Transmission of double stranded and disease factor in *Ophiostoma ulmi*. *Plant Pathology*, 35, 277-287.
- **ROUABHI R., DJEBAR –BERREBBAH Het DJEBAR M.R. (2008).** Growth, Chitin and respiratory metabolism of *Tetrachymena pyriformis* exposed to the insecticide. Novaluron., American, Eurasian. Journal. Agriculture et Environnement. Sciences. 3(6):873-881.
- **ROUABHI R., SACI-BERREBBAH H., Djebbar M.R. (2009).** Toxic effects of combined molecule from *Novaluron* and *caudatum*. *American-Eurasian Journal of Toxicological Science*. 1(2): 74-80.
- **ROWELL J.B. (1985).** Chemical control of the cereal rusts, *Annual. Revue. Phytopathology*, 6: 243-262.
- **RYU C.M., FARAG M.A., HUCH M., REDDY M.S., WEI H.X., PLOEPPER J.W. (2003).** Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc National academy of science USA*. 1628(3):206-210.
- **RYU C.M., FARAG M.A., HU CH., REDDY M.S., KLOEPPER J.W., PARE P.W. (2004).** Bacterial volatile induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*. 134: 1017-1026.
- **SANDHYA V., Ali S.K.Z., Grover M., Reddy G., Venkateswarlu B. (2009).** Alleviation of drought stress effects in sun flower seedlings by the exopolysaccharides producing *Pseudomonas putida* strain GAP-P45. *Biology and Fertilized Soils* 46:17-26.

- **SANDHYA V., ALI S.K.Z., VENKATESWARLU B., REDDY G., GROVER M.(2010).** Effect of osmotic stress on plant growth promoting *Pseudomonas* spp. *Archives. Microbiology.* 192:867-876.
- **SCHER F.M., BAKER R. (1982).** Effect of *Pseudomonas putida* and synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* with pathogens. *The American phytopathological society* Vol.72, N° 12, 1567-1573.
- **SCHREINAR R.P., BETHLENFALVAY G.J. (1997).** Effect of three different fungicides on developmental stages of three AM fungi. *Biology of fertil soils.* 24: 18-26.
- **SHARMA B., SINGH R.S. (2014).** A study on the interactive effect of different fungicide with Rhizobium in Lentil (*Lenus culinaris*). *International Journal of life Sciences Research.* 2(3): 105-113.
- **SILVY C., RIBA G. (2002).** Perspectives de la lutte microbiologique contre les ravageurs de cultures. La lutte biologique. Dossier de la cellule environnement de l'INRA, 5.
- **SIMON D., RICHARD F., BELLANGER M., DENIMALI D., GOUBERT C., JEUFFRAULT E.(1994).** La protection des cultures. Les pratiques d'aujourd'hui et de demain en protection des cultures.
- **SINGLETON P. (2005).** Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} édition. Dunod- Paris, p.480-490.
- **SRIVASTAVA A., HANDA A.K. (2005).** Hormonal regulation of tomato fruit development amolecular perspective. *Journal of Plant Growth Regulation.* 24: 67–82.
- **STANIER R.Y., PALLERONE N.J et DOUDOROFF M. (1966).** The aerobic *Pseudomonads*: ataxonomic study. *Journal of General Microbiology,* 43, 159-271.
- **TAIZ L., ZEIGER E. (1991).** Auxins growth and tropisms. In *Plant Physiology.* Zeiger, E.(Ed.), Hardcover. Benjamin/Cummings, Menlo Park, CA, pp. 398–425.
- **TEINTZE M., HASSAIN M.B., BAINES C.L., LEONG J., VAN DER HELM D. (1980).** Structure of ferric Pseudo bactin a sidérophore from plant growth promoting *Pseudomonas*. *Biochemistry.* 20: 6446-6457.
- **TEVIOTDALE B.L. (2011).** Effects of deficit on hull rot disease of almond tress caused by *Monilinia fructicola* and *Rhizopus stolonifer*. Department of plant pathology. University of California.

- **TRIVEDI P., PANDEY A., PALNI L.M.S. (2008).** In vitro evaluation of antagonistic properties of *Pseudomonas corrugate*. *Microbiology Research*. 163: 329-336.
- **STANIER R.Y., PALLERONE N. J et DOUDOROFF M. (1966).** The aerobic *Pseudomonads*: a taxonomic study. *Journal of General Microbiology*, 43, 159-271.
- **VESSEY K. J. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255: 571–586.
- **VOISARD C., BERLING C.H., KAHR G., DEFAGO G. (1989).** Ironsufficiency, a prerequisite for suppression of tobacco black root rot in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*. 79: 584-589.
- **VOISARD C., KEEL C., HAAS D., DEFAGO G. (1989).** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal*. 8:351–358.
- **WAKSMAN S.A. (1948).** Antagonism microbiens et substances antibiotiques. Ed Dols Paris. *Biologie des sols Document*. (6) : 452.
- **WELLER D.M. (2007).** *Pseudomonas* biocontrol agents of soil-borne pathogens: looking back over 30 years. *Phytopathology* 97: 250-256.
- **WELLER D.M., COOK R.J. (1983).** Suppression of take-all of wheat by seed treatment with fluorescent *Pseudomonads*. *Phytopathology*. 73: 463–469.
- **WELLER D.M. (1988).** Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with Bacteria, *Annual Revue Phytopathology*. 26: 379–407.
- **WILLIAMSON C. E., DE LANGE H. J., LEECH D. M. (2007).** Do zooplankton contribute to an ultraviolet clear-water phase in lakes, *Limnol. Oceanogr.* 52: 662–667
- **XHAARD C. (2011).** Influence des processus démographiques sur la structure et les caractéristiques génétiques des champignons phytopathogènes, cas de l'agent de la rouille du peuplier *Melampsora larici-populina* ; thèse de doctorat ; Nancy-université université Henry Poincaré, Nancy.
- **XIE H., PASTEMAK J.J., GLICK B.R. (1996).** Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that over produce in doleaceticacid. *Current. Microbiology*. 32: 67–71

- **YUDAV A., AGGARWAL A. (2014).** Effect of benomyl and Dithane M45 on *Mycroflora.mycorrhizae*,and,growth,enhancement,of.*Heliannu.sannus*.*New.York.Sciences*. 7(11):7-15.
- **ZHU J.K. (2001).** Plant salt tolerance. *Trends in plant science*. 6(2): 66-71.
- **ANONYME.I.** http://www.google.dz/imgres?imgurl=http://berthoalain.files.wordpress.com/2011/04/algrie_carte_tiziouzoul.jpg&imgrefurl=http://www.commentcarmarche.net/foum/affich-23662692-carte-geo_tizi.

Annexe 1 : Composition de milieux de cultures utilisés. Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou.

➤ **Milieux liquides :**

Milieu	Composition
Eau physiologique stérile	Chlorure de sodium (Na Cl) 9g Eau distillée 1000ml pH=7, autoclaver à 120°C pendant 20 mn
Bouillon nitraté	Infusion de cœur cervelle 25g Nitrate de sodium 10g pH=7,2, autoclaver à 120°C pendant 20mn
Milieu Clark et Lubs	Peptone 10 g/l Phosphate dipotassique 2 g/l Glucose 5 g/l pH=7, autoclaver à 120°C pendant 20mn
Eau peptonée exempte d'indole	Peptone exempte d'indole 15g
Milieu urée indole	L-tryptophane 0,3g Dihydrophosphatede potassium 0,1g Hydrophosphate de potassium 0,1g Chlorure de sodium 0,5g Urée 2g Alcool à 95° 1ml Rouge de phénol à 1% 0,25ml Eau distillée 100 ml pH=7,2, autoclaver à 120°C pendant 20 mn

➤ **Milieux solides :**

Milieux	Composition
Gélose nutritive (GN)	Peptone 10g/l Extrait de viande 3g/l Extrait de levure 3g/l Chlorure de sodium 5g/l Agar 18g/l pH=7,3, autoclaver à 120°C pendant 20mn
Gélose Mueller-Hinton (MH)	Extrait de viande 2g/l Hydrolysate acide de caséine 17,5g/l Amidon 1,5g/l Agar 10g/l pH=7,4, autoclaver à 120°C pendant 20mn

(Suite de l'annexe 1) : composition de milieux de cultures utilisés

Gélose Mannitol-Mobilité	Peptone de viande	15g/l
	Extrait de viande	3g/l
	Mannitol	10g/l
	Potassium nitrate	1g/l
	Rouge de phénol	0,05g/l
	Agar	5g/l
	pH=8,1, autoclaver à 120°C pendant 20 mn	
Gélose citrate de SIMMONS	Ammonium dihydrogénophosphate	1g/l
	Phosphate dipotassique	1g/l
	Chlorure de sodium	5g/l
	Citrate de sodium	2g/l
	Sulfate de magnésium	0,2g/l
	Bleu de bromotynol	0,08g/l
	Agar	18g/l
	pH=6,6, autoclaver à 120°C pendant 20 mn	
Gélose Triple SugarIron (TSI)	Peptone	20g
	Extrait de viande	3g
	Extrait de levure	3g
	Chlorure de sodium	15g
	Glucose	1g
	Lactose	10g
	Saccharose	10g
	Citrate de fer	0,5g
	Hyposulfite de sodium	0,5g
	Rouge de phénol	25 ml
	Agar	12g
	pH=7,4, autoclaver à 115°C pendant 15 mn	
Gélose Sabouraud	Peptone	10g
	Glucose massé	20g
	Agar-agar	15g
	Eau distillée	1000 ml
	pH = 6,0, autoclaver à 120°C pendant 20mn	

Annexe 2

A/ Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne \pm écart type) de la croissance mycélienne par confrontation directe.

Champignons	Diamètre d'inhibition en mm (moyenne des trois essais \pm l'écart type)		
Souches bactériennes	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cineria</i>	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	26,9 \pm 0,2	27,2 \pm 0,1	4 \pm 1,2
<i>Serratia</i> sp.	Pas d'effet	18,5 \pm 0,2	Pas d'effet

B/ Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne \pm écart type) de la croissance mycélienne en application VOC.

Champignons	Diamètre d'inhibition en mm (moyenne des deux essais \pm l'écart type)		
Souches bactériennes	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cineria</i>	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp.	40 \pm 1,06	15 \pm 0,7	19,5 \pm 0,6

C/ Résultats des diamètres d'inhibition en mm (moyenne \pm écart type) de la croissance mycélienne en fonction du pH du milieu.

Champignons	Diamètre d'inhibition en mm (moyenne des deux essais \pm l'écart type) à pH=8			Diamètre d'inhibition en mm (moyenne des deux essais \pm l'écart type) à pH=11		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinérea</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinérea</i>	<i>Penicillium</i> sp.
<i>Pseudomonas</i> sp	22,8 \pm 0,07	35 \pm 0,5	40 \pm 0,3	29,2 \pm 0,01	27 \pm 0,05	2,72 \pm 0,05

Annexe 3

Analyse de la variance

A/ Table de l'ANOVA et Newman Keuls pour les résultats de l'antagonisme microbien par confrontation directe.

Tests Univariés de Significativité pour Var2 (Feuille de données1) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse						
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	10217,63	1	10217,63	9,189615	0,038726	
"Var1"	1472,67	1	1472,67	1,324499	0,313903	
Erreur	4447,47	4	1111,87			

Test de Newman-Keuls ; variable Var2 (Feuille de données1) Probabilités Approximatives des Tests Post Hoc Erreur : MC Inter = 1111,9, dl = 4,0000				
Cellule N°	Var1	{1}	{2}	
1	Pseudomonas sp	56,933	25,600	0,314111
2	Serratia sp	0,314111		

B/ Table de l'ANOVA pour les résultats de l'antagonisme microbien par production de substances volatiles.

Comparaison de moyennes à un standard (constante) (Feuille de données18)								
Variable	Moyenne	Ec-Type	N	Erreur-T	Valeur de Référence	Valeur t	dl	p
Var2	24,83333	13,32604	3	7,693793	0,00	3,227710	2	0,084061

C/ Table de l'ANOVA et Newman Keuls pour les résultats Effet du pH du milieu sur l'activité antagoniste des bactéries.

Tests Univariés de Significativité pour Var2 (Feuille de données10) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	4093,526	1	4093,526	27,82773	0,006190
"Var1"	251,942	1	251,942	1,71270	0,260761
Erreur	588,410	4	147,102		

Test de Newman-Keuls ; variable Var2 (Feuille de données 10) Probabilités Approximatives des Tests Post Hoc Erreur : MC Inter = 147,10, dl = 4,0000			
Cellule N°	Var1	{1}	{2}
1	pH 8	32,600	19,640
2	pH 11	0,260990	

D/ Table de l'ANOVA pour les résultats de la stimulation de la croissance des plants de tomate par *Pseudomonas* sp.

Tests Univariés de Significativité pour Var2 (Feuille de données11) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p
ord. origine	7633,149	1	7633,149	386,5218	0,000000
"Var1"	1595,718	6	265,953	13,4671	0,000042
Erreur	276,476	14	19,748		

Résumé

Les champignons phytopathogènes causent de nombreuses maladies des plantes, dont la gravité peut être atténuée par les bactéries rhizosphériques non-pathogènes associées en guise de lutte biologique. Un total de 11 souches ont été isolées et pré-identifiées à partir de deux sols différents de la région de Tizi-Ouzou (Mekla et Ouaguenoune), recevant des cultures de tomate et de pomme de terres respectivement.

Diverses méthodes de confrontations entre les 11 souches avec les champignons phytopathogènes (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp.) ont été utilisées. Parmi les méthodes d'antagonisme *in vitro*, la méthode par confrontation directe ou à distance en VOC (Volatiles Organic Compound). Ces essais ont révélés que, seule, une souche qui est *Pseudomonas* sp. a pu inhibé la croissance mycélienne des trois champignons tests. Une inhibition significative qui varie entre 38 et 78% en confrontation directe et entre 50 et 81% en application indirecte, et ceux, par rapport aux témoins.

Des résultats intéressants ont également été obtenus *in vivo* : en effet, le repiquage des plants de tomate en pots inoculés par la *Pseudomonas* sp. s'accompagne d'une stimulation significative de la croissance et ce, par la croissance de la tige. Une hauteur de 45cm a été mesurée sur un plant inoculé contre 36cm du témoin non inoculé.

La souche *Pseudomonas* sp. a un double effet bénéfique : effet antagoniste vis-à-vis des champignons phytopathogènes et effet d'optimisation de la croissance chez les plantes.

Ces résultats nous orientent sur les stratégies à entreprendre à l'avenir pour développer une agriculture biologique durable.

Mots clés : Antagonisme, bactérie rhizosphérique, champignons phytopathogènes, inhibition, lutte biologique, VOC (Volatiles Organic Compound), *in vitro*.

Abstract

The plant pathogenic fungi causes many plant diseases, the severity can be mitigated by non-pathogenic bacteria associated rhizosphere as a biological control. A total of 11 strains were isolated and pre-identified from two different floors of the region of Tizi-Ouzou (Mekla and Ouaguenoune) receiving tomato and potato crops respectively.

Various methods of confrontations between the 11 strains with phytopathogenic fungi (*Aspergillus Niger*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium* sp.) Were used. Among the antagonism *in vitro* methods, the method by direct confrontation or indirect by VOC (Volatile Organic Compound). These tests revealed that only a strain *Pseudomonas* sp. has been inhibited mycelial growth of three testing fungi. Significant inhibition which varies between 38 and 78% in direct confrontation and between 50 and 81% by indirect application, and those with respect to controls.

Interesting results were also obtained *in vivo* test: indeed, transplanting tomato plants in pots inoculated with *Pseudomonas* sp. is accompanied by a significant stimulation of the growth and by the growth of the stem. A height of 45cm was measured on a plant inoculated against the 36cm non-inoculated control.

Pseudomonas sp. has a double beneficial effect: antagonist effects versus phytopathogenic fungi and the effect of growth optimization in plants.

These results point us on the strategies to be undertaken in the future to develop a sustainable organic agriculture.

Keywords: Antagonism, rhizospheric bacteria, plant pathogenic fungi, inhibition, biological control, VOC (Volatile Organic Compound), *in vitro*