

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud Mammeri 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*

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

**Activité antifongique des bactéries des genres *Bacillus* et
Pseudomonas et effet de leur inoculation en pots chez la
tomate**

Présenté par :

*BADJI Tiziri
AIT ABDELMALEK Celia*

Soutenu le 17/09/2017 devant le jury composé de:

Président : M^{elle} BEN AHMDE DJILALI A : Maitre de conférences A à l'UMMTO

Promoteur : M^r OUELHADJ A. : Maitre de conférences A à l'UMMTO

Examineur : M^r MOUALEK I : Maitre assistant A à l'UMMTO

Examineur : M^{me} BEN AZOUZ K : Maitre assistant A à l'UMMTO

Année Universitaire : 2016-2017

Remerciement

Je rends avant toute chose grâce à dieu le tout puissant de nous avoir donné la volonté et la patience nécessaires pour réaliser ce modeste mémoire nous lui sommes redevable de nous avoir guidé et soutenu durant notre long cursus scolaire. Nous formons le vœu et l'espoir qu'il continuera à nous aider à réussir tout ce qu'entreprenons.

Nous sincères remerciements s'adressent ensuite à :

Notre promoteur : Monsieur OUELHADJ A : Maitre de conférences A à l'UMMTO, d'avoir bien voulu accepter de diriger cette recherche.

Mademoiselle BEN AHMED DJILALI A : Maitre de conférences A à l'UMMTO, d'avoir accepté de présider le jury.

Madame BEN AZOUZ k: Maitre assistant A d'avoir accepté d'examiner ce travail et d'être parmi le jury.

Monsieur MOUALEK I: Maitre assistant A à l'UMMTO, pour avoir accepté d'examiner ce travail et d'être parmi le jury.

Nous tenant également à remercier les membres de jury qui nous font l'honneur de présider et d'examiner notre travail.

Enfin, on remercie tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation ce mémoire.

Remerciements * **BADJI Tiziri** *

Toutes les lettres ne seraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne seraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance...

Aussi c'est tout simplement que je dédie ce travail à...

Allah

Le tout miséricordieux, le tout puissant qui ma inespéré, qui ma guidé sur le droit chemin.

Soumissions, louange et remerciements pour votre clémence et miséricordes.

A mon très cher père

J'ai vécu dans l'administration de ta grande personnalité et de ta bonté.

Tu es pour moi l'exemple de la réussite et du grand cœur.

Puisse ce travail symbolisé le fruit de tes longues années de sacrifices consenties pour mes études et mon éducation.

A ma très chère mère

Ta noblesse et ta bonté sont sans limites

Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que tu t'es imposées afin d'assurer mon bien être

A mes grandes mères

Que Dieu tout puissant préserve vos sourires et vous assure une bonne santé et une longue vie

A mes très chères

Frères : Achour et zillancen, et **sœurs** : Thilleli, Sarah, et Manel

J'importe Dieu a vous apporte bonheur et vous aide à réaliser vos vœux

A tous mes oncles et tantes

Ce travail et aussi le fruit de vos encouragements et de vos bénédictions

A la mémoire de mon grand père

Puisse ton âme repose en paix. Que Dieu t'accueille dans son éternel paradis

A mes très chers amis (es)

Sonia, Milouda, Hayat, Kaissa, Sihem, Thanina, Zohra, Sylia, Yasmine et Zaina.

A tous mes collègues de la promotion

A mon binôme Célia Merci pour tous les moments qu'on a partagés...



Remerciements * *AIT ABDELMALEK Celia* *

Toutes les lettres ne seraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne seraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance...

Aussi c'est tout simplement que je dédie ce travail à...

Allah

Le tout miséricordieux, le tout puissant qui ma inespéré, qui ma guidé sur le droit chemin.

Soumissions, louange et remerciements pour votre clémence et miséricordes.

A mon très cher père

J ai vécu dans l'administration de ta grande personnalité et de ta bonté.

Tu es pour moi l'exemple de la réussite et du grand cœur.

Puisse ce travail symbolisé le fruit de tes longues années de sacrifices consenties pour mes études et mon éducation.

A ma très chère mère

Ta noblesse et ta bonté sont sans limites

Que ce travail soit un hommage aux énormes sacrifices que tu t'es imposées afin d'assurer mon bien être

A mes grandes mères

Que Dieu tout puissant préserve vos sourires et vous assure une bonne santé et une longue vie

A mes très chères

Frère : AHCEN

Et mes sœurs

J'importe Dieu a vous apporter bonheur et vous aide à réaliser vos vœux

A mon fiancé Slimane

Pour le soutien moral

A tous mes oncles et tantes

Ce travail et aussi le fruit de vos encouragements et de vos bénédictions

A la mémoire de mon grand père

Puisse ton âme repose en paix. Que Dieu t'accueille dans son éternel paradis

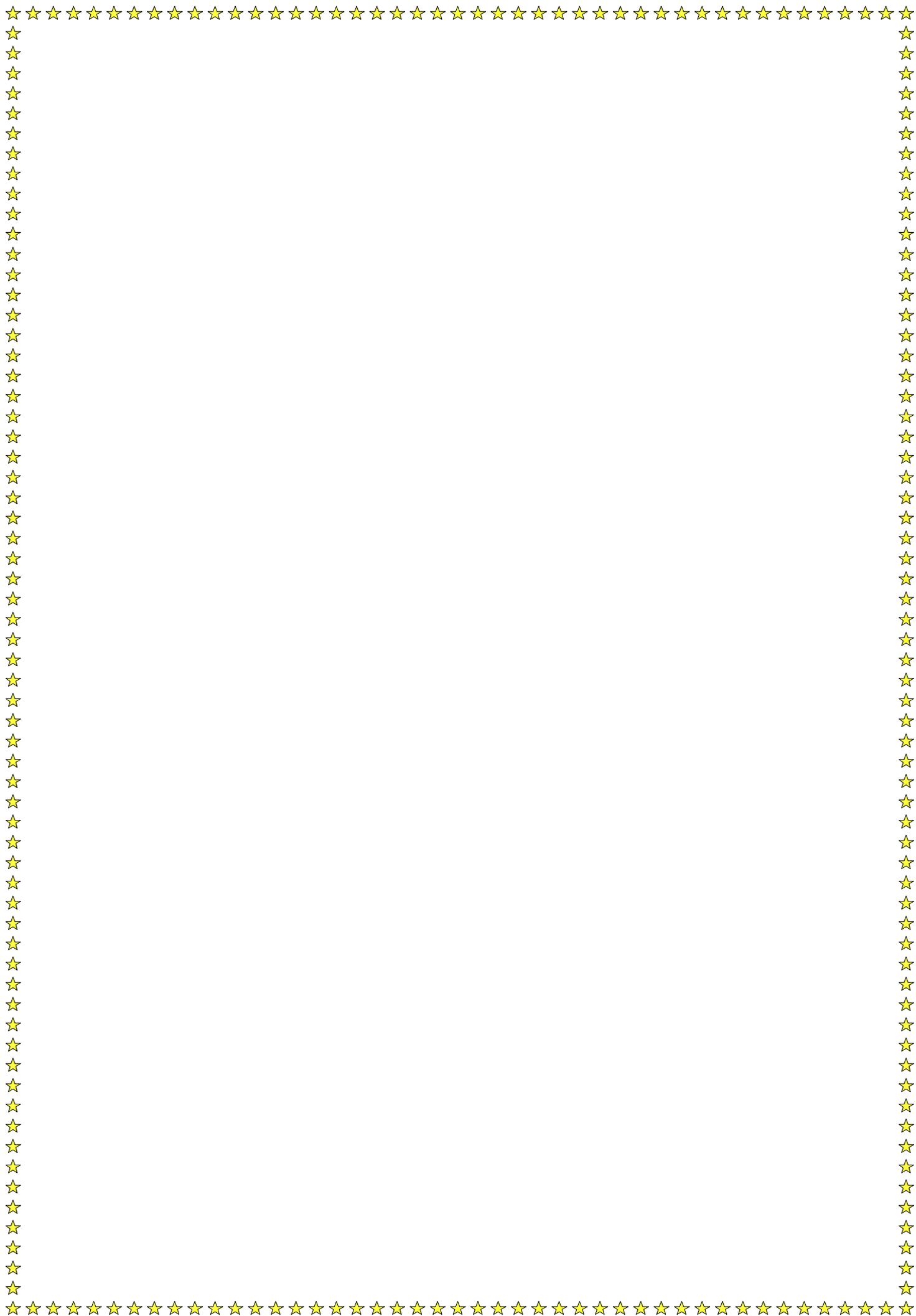
A mes très chères amis (es)

Massissilia, Hocine, Hakima, Zohra, Sylia, Yasmine, Zaina.

A tous mes collègues de la promotion

A mon binôme Tiziri

Merci pour tous les moments qu'on a partagés 



Liste des abréviations

PGPR: Plant Promoting Growth Rhizobacteria. (Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes).

ISR: Induced Systemic Resistance.

DDT: Dichloro diphényl trichloroéthane.

MH: Mueller- Hinton.

GN: Gélose Nutritive.

BHIB: Brain Heart Infusion Broth.

SAB : Gélose Sabouraud.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations.(Organisation des nations unies pour l'Alimentation et l'Agriculture).

B : *Bacillus*.

P : Phosphore.

AIA : Acide indole-3-acétique.

µm : Micromètre.

C° : Degré Celsius.

Cm : Centimètre.

Mm : Millimètre.

T : Temps.

Liste des tableaux

Tableau I : Milieux de culture utilisés.....	31
Tableau II : Les appareilles utilisés.....	32
Tableau III : Résultats de l'examen macroscopique des souches bactériennes sur milieu GN à 37C° pendant 24h.....	39
Tableau IV : Résultats de la coloration de Gram des souches bactériennes.....	41
Tableau V : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne en confrontation directe avec les bactéries antagonistes.....	45
Tableau VI : Les taux d'inhibition (%) des la croissance mycélienne en confrontation indirecte avec les souches antagonistes.....	53
Tableau VII : Résultats de l'estimation de la hauteur des plantes de tomate.....	59

Figure 1 : Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	12
Figure 2 : Principaux caractères morphologiques des <i>Penicillium</i>	14
Figure 3 : Principaux caractères morphologiques de <i>Botrytis cinerea</i>	15
Figure 4 : Jaunissement des feuilles de tomate.....	17
Figure 5 : Cloque de feuille du pêcher causé par le champignon <i>Taphrina deformans</i>	18
Figure 6 : Flétrissement des plantes de tomates.....	18
Figure 7 : Pourriture grise sur chasselas causée par <i>Botrytis cinerea</i>	19
Figure 8 : Chancre sec de la tige causé par le champignon <i>Fusarium solani</i>	19
Figure 9 : Tomates atteintes de mildiou causé par le champignon <i>Phytophthora infestans</i>	20
Figure 10 : Feuilles de maïs avec des symptômes de la rouille causée par <i>Puccinia sorghi</i>	20
Figure 11 : Fusariose des épis de blé.....	21
Figure 12 : Taches angulaires de la feuille de l'haricot causées par <i>Phaeosariopsis griseola</i>	21
Figure 13 : Photos des témoins négatifs.....	36
Figure 14 : Photos des témoins positifs.....	37
Figure 15 : Plantes contaminées par <i>Botrytis cinerea</i> et pulvérisées par la souche bactérienne.....	37
Figure 16 : Aspect macroscopiques des souches bactériennes.....	40
Figure 17 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	42
Figure 18 : Aspect macroscopique de <i>Botrytis cinerea</i>	42
Figure 19 : Aspect macroscopique de <i>Penicillium</i> sp.....	43
Figure 20 : Aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	43

Figure 21 : Aspect microscopique de <i>Botrytis cinerea</i>	44
Figure 22 : Aspect microscopique de <i>Penicillium</i> sp.....	44
Figure 23 : Résultats d'antagonisme direct des bactéries testées contre <i>Penicillium</i> sp.....	47
Figure 24 : Résultats d'antagonisme direct des bactéries testées contre <i>Botrytis cinerea</i>	48
Figure 25 : Résultats d'antagonisme directe des bactéries testées contre <i>Aspergillus niger</i>	49
Figure 26 : Diagramme représentant les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation direct avec les bactéries antagonistes.....	50
Figure 27 : Résultats d'antagonisme indirect des bactéries testées contre <i>Penicillium</i> sp.....	54
Figure 28 : Résultats d'antagonisme indirect des bactéries testées contre <i>Botrytis cinerea</i>	55
Figure 29 : Résultats d'antagonisme indirect des bactéries testées contre <i>Aspergillus niger</i>	56
Figure 30 : Diagramme représentant les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation indirecte avec les souches antagonistes.....	57
Figure 31 : Effet de la batérisation sur la croissance des plantes, après 3 semaines.....	60
Figure 32 : Effet de la batérisation sur la croissance des plantes après 5 semaines.....	61
Figure 33 : Plante de tomate traitée par l'antagoniste et le pathogène.....	62
Figure 34 : Plante de tomate non traitée (témoin négatif).....	62
Figure 35 : Plante de tomate traitée par le pathogène <i>Botrytis cinerea</i>	63

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

INTRODUCTION 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : MICROFLORE DU SOL

1. La rhizosphère et les bactéries rhizosphériques.....	3
1.1. Les Rhizobactéries promotrice de la croissance des plantes (PGPR).....	4
1.2. Effets des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes.....	4
1.2.1. Effets directs	4
1.2.1.1. Fixation d’azote	4
1.2.1.2. Solubilisation de phosphate	4
1.2.1.3. La production des phytohormones.....	5
1.2.1.4. Induction de la résistance systémique	5
1.2.2. Effets indirects	5
1.2.2.1. La compétition	5
1.2.2.2. La production d’antibiotiques.....	5
1.2.2.3. Détoxification du milieu	6
1.3. Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère.....	6
1.3.1. L’antibiose et parasitisme	6
1.3.2. Mutualisme.....	7
1.3.3. Compétition.....	7
1.3.4. Commensalisme	7
1.4. Quelques rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes	7
1.4.1. Le genre <i>Pseudomonas</i> sp.....	7
1.4.1.1. Classification et habitat.....	7

1.4.1.2.	Caractéristiques métaboliques	8
1.4.1.3.	Le genre <i>Pseudomonas</i> en association avec les plantes	8
1.4.2.	Le genre <i>Bacillus</i> sp.....	9
1.4.2.1.	Classification et habitats	9
1.4.2.2.	Caractéristiques métaboliques	9
1.4.2.3.	Le genre <i>Bacillus</i> en association avec les plantes	9

CHAPITRE II : LES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES

1.	Généralité	10
➤	Archimycètes	10
➤	Phycomycètes	11
➤	Ascomycètes	11
➤	Basidiomycètes	11
➤	Deutéromycètes	11
2.	Les principaux genres de champignons telluriques phytopathogènes.....	11
2.1.	Genre <i>Aspergillus</i>	11
2.1.1.	Généralité.....	11
2.1.2.	Potentiel toxigène	12
2.2.	Genre <i>Penicillium</i> sp.....	13
2.2.1.	Généralité.....	13
2.2.2.	Le potentiel toxigène	14
2.3.	Genre <i>Botrytis cinerea</i>	14
2.3.1.	Généralité.....	14
2.3.2.	Le potentiel toxigène	15
3.	Les maladies des plantes	16
3.1.	Définition	16
3.2.	Le triangle de la maladie.....	16
3.3.	Classification des maladies.....	16

3.3.1. Les maladies non infectieuses	16
3.3.2. Les maladies infectieuses	17
3.4. Principaux symptômes de maladies fongiques	17
3.4.1. Hypoplasie	17
a. Jaunissement	17
b. Nanisme	17
3.4.2. Hyperplasie	18
a. Verrues, galles, balais de sorcière, cloque de feuille.....	18
3.4.3. Nécrose	18
a. Flétrissement.....	18
b. Pourritures.....	19
c. Chancres.....	19
d. Mildiou.....	20
e. Rouilles	20
f. Fusariose	21
g. Tache.....	21
4. Les relations plante-pathogène.....	22
4.1. La relation non-hôte	22
4.2. La relation hôte	22

CHAPITRE III : LES MOYENS DE LUTTE

1. La lutte chimique	23
1.1. Les fongicides	23
1.1.1. Historique	23
1.1.2. Définition.....	23
1.1.3. Les fongicides non systémiques.....	24
1.1.4. Les fongicides systémiques.....	24
1.2. Le mode d'action des fongicides	24

➤ Pénétration du fongicide dans le champignon	24
➤ Effets du fongicide sur le contenu cellulaire	24
1.3. Les inconvénients de la lutte chimique.....	25
1.3.1. La résistance des champignons pathogènes aux fongicides.	25
1.3.2. Effets sur la santé humaine.....	25
1.3.3. Effets sur l'environnement	26
2. La lutte biologique	26
2.1. Historique.....	27
2.2. Définition	27
2.3. Les auxiliaires de la lutte biologique	28
2.3.1. Les bactéries utilisées en lutte biologique.....	28
2.3.1.1. Mode d'action.....	29
➤ L'antagonisme.....	29
➤ Induction de résistance chez la plante hôte.....	29
2.4. Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique	29
2.4.1. Les avantages	29
2.4.2. Les inconvénients	30

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I: MATERIEL ET METHODES

1. Matériel	31
1.1. Les souches fongiques.....	31
1.2. Les souches bactériennes	31
1.3. Milieu de culture	32
1.4. Solutions et réactifs.....	32
1.5. Appareillage	32
2. Méthodes	32
2.1. Repiquage et revivification des souches bactériennes.....	32

2.2. Les caractères morphologiques des souches bactériennes.....	33
2.2.1. L’aspect macroscopique des colonies.....	33
2.2.2. L’aspect microscopique des souches bactériennes	33
2.3. Repiquage des souches fongiques.....	33
2.4. Les caractères morphologiques des souches fongiques.....	33
2.4.1. L’aspect macroscopique.....	33
2.4.2. L’aspect microscopique	34
2.5. Préparation de l’inoculum.....	34
2.5.1. Standardisation des suspensions fongiques	34
2.5.2. Standardisation des suspensions bactériennes	34
2.6. L’étude de l’action antagoniste des bactéries vis-à-vis les champignons tests.....	35
2.6.1. Etude in vitro.....	35
2.6.1.1. Confrontation directe entre bactérie et champignon.....	35
2.6.1.2. Confrontation indirecte entre bactérie et champignon (Production des substances inhibitrices volatiles).....	35
2.6.2. Test in vivo.....	36
2.7. Analyse statistique	38

CHAPITRE II : RESULTATS ET DESCUSSION

1. Resultats des critères morphologiques des souches bactériennes.....	39
1.1. Aspect macroscopique	39
1.2. Aspect microscopique.....	41
2. Resultats des critères morphologiques des souches fongiques.....	42
2.1. Aspects macroscopiques	42
2.1.1. <i>Aspergillus niger</i>	42
2.1.2. <i>Botrytis cinerea</i>	42
2.1.3. <i>Penicillium</i> sp.....	43

2.2. Aspects microscopiques.....	43
2.2.1. <i>Aspergillus niger</i>	43
2.2.2. <i>Botrytis cinerea</i>	44
2.2.3. <i>Penicillium</i> sp.....	44
3. Résultats de l'antagonisme in vitro	45
3.1. Résultats de l'antagonisme par confrontation directe en boîte de pétri..	45
3.2. Résultats de l'antagonisme par confrontation indirecte.....	53
4. Résultats d'antagonisme in vivo	58
4.1. Stimulation de la croissance des plantes.....	59
4.2. Pouvoir pathogène de <i>Botrytis cinerea</i>	61
4.3. Antagonisme in vivo : inhibition de <i>Botrytis cinerea</i>	61
CONCLUSION	65

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

ANNEXES

RESUME

ABSTRACT

INTRODUCTION

Tout au long de leur cycle de vie, les plantes et les agents pathogènes interagissent avec une grande variété d'organismes ; ces interactions peuvent affecter la santé des plantes d'une manière positive et/ou négative (**Corbaz, 1990 ; Nakkeeran et al., 2005**). On estime que près de 50% de la production agricole mondiale est perdue avant et après la récolte. L'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives (**Seitz et al., 1982 ; Alderman et al., 1996**). Les pertes économiques sont énormes. D'après la F.A.O (1999) les maladies phytopathogènes réduisent de 12 à 14% la production agricole mondiale, 70% des dommages étant d'origine fongique.

La majorité des maladies de plantes sont causées par les champignons phytopathogènes qui réduisent de façon importante la productivité des cultures dans le monde entier. En provoquant des pourritures de cultures aussi ils endommagent de nombreuses espèces d'arbres forestiers. Pour lutter contre ces maladies, l'application illimitée de pesticides dans les sols peut entraîner la pollution de l'environnement et les eaux souterraines. En outre, l'efficacité des fongicides chimiques est souvent compromise par l'émergence de pathogènes résistants, et par ailleurs, sont responsable de divers problèmes sur la santé chez les humains et les animaux (**Gerhardson, 2002**).

Pour faire face à ces problèmes, des solutions alternatives sont donc recherchées. De nouvelles stratégies biotechnologiques ont pour but d'introduire des microorganismes bénéfiques afin de stimuler les capacités défensives naturelles des plantes et d'interférer avec les mécanismes employés par les bioagresseurs. La compréhension des bases moléculaires des systèmes de défense des plantes et des stratégies des attaques microbiennes ont ouvert de nouvelles voies pour une agriculture durable et plus respectueuse de l'environnement (**Gust et al., 2010**).

Le contrôle biologique des maladies telluriques par l'introduction de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère est proposé comme une solution de rechange ou complémentaire à l'utilisation des produits chimiques de synthèse. Certaines bactéries associées aux plantes (plant growth promoting rhizobacteria) ont été exploitées comme des inoculants pour l'induction de la résistance systémique chez les plantes, le biocontrôle, la biofertilisation et la phytostimulation (**Choudhary et al., 2009**). Des bactéries de divers genres ont été identifiées comme PGPR, dont *Pseudomonas* et *Bacillus* sont prédominant (**Podile et Kishor, 2006**).

L'objectif principale de ce travail est l'étude de l'effet antagoniste des souches bactériennes des genres *Pseudomonas* et *Bacillus* sur trois agents phytopathogènes : *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp, et ceci par des confrontations in vitro en boîtes de pétri et à l'aide des différentes méthodes. Une deuxième série d'essais a été effectuée in vivo afin d'apprécier l'effet protecteur de la souche *Pseudomonas* sp vis-à-vis des plantes tests (tomate) infectées par *Botrytis cinerea*.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

MICROFLORE DU SOL

1. La rhizosphère et les bactéries rhizosphériques

Le sol est considéré comme l'un des environnements les plus complexes de la biosphère (**Faugier, 2010**), il est constitué de 5 composants majeurs : la fraction minérale, matière organique, eau, air et organismes vivants (**Morel, 1989**). Les microorganismes du sol présentent environ un quart de toute la biodiversité terrestre (**Potočnik, 2010**), ils comprennent les microbes (archées, bactéries, champignons) et la microfaune (animaux de moins de 0,1 mm) (**Stengel et Gascuel, 2015**), de part de leur diversité taxonomique, ces microorganismes jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement du sol, au travers du cycle du carbone, de l'azote et de la biodisponibilité des éléments nutritifs (**Milou, 2009**). Les microorganismes du sol ont une influence directe sur le développement de la plante. Il existe une zone où les relations entre plantes et microorganismes sont particulièrement actives ; c'est la rhizosphère.

Le terme rhizosphère a été utilisé la première fois en 1904 par le microbiologiste et agronome bavarois Lorenz Hiltner pour désigner la zone du sol influencée par les racines et leurs microorganismes associés (**Garbaye, 2013**). Ces microorganismes trouvent en effet dans cette zone des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : les sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... (**Adam, 2008**).

Il est évident que tous les microorganismes ne sont pas attirés de la même manière par les racines. Parmi les bactéries, alors que les gram-positives comme les *Bacillus* ne sont guère influencées par la rhizosphère, les gram-négatives tels les *Pseudomonas* y répondent très fortement. De même, certains champignons sont très bien représentés dans la rhizosphère : *Fusarium*, *Aspergillus*, *penicillium*, *Gliocladium*,... D'autre part comme les exsudats des racines varient d'une espèce de plante à l'autre, il n'est également pas étonnant que la composition et la quantité des microorganismes s'y trouvent varient également (**Jacques et Hérissé, 1999**). Certains de ces microorganismes, 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) (**Adam, 2008**).

1.1. Les Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) ont été décrits par Kleopfer et Schroth en 1978 (**Compant et al., 2005**). Parmi tous les microorganismes rhizosphériques, les PGPR représentent un groupe de bactéries inoffensives qui colonise la rhizosphère et contribue à la croissance et la santé des plantes en supprimant les pathogènes du sol (**Beneduzi et al., 2012**).

Les PGPR affecte la croissance des plantes de deux manières, indirectement ou directement (**Glick, 1995**). Elles stimulent directement la croissance des plantes, en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux (**Hallaman et al., 1997**). La promotion indirecte de la croissance des plantes se produit lorsque le PGPR diminue ou empêche les effets délétères d'un ou plusieurs organismes phytopathogènes (**Glick, 1995**).

1.2. Effets des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

1.2.1. Effets directs

Certaines souches de PGPR des genres *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Rhizobium*, ont récemment été décrites pour leur effet direct positif sur la croissance des plantes et l'augmentation du rendement de la culture (**Vessey, 2003**). Ces PGPR exercent leurs actions sur la croissance des plantes de plusieurs façons :

1.2.1.1. Fixation d'azote

Plusieurs genres bactériens ont été décrits comme étant capables de fixer l'azote atmosphérique, dans le sol et également lors de la symbiose associative avec la plante. En conditions de micro-anaérobiose, ces bactéries convertissent l'azote atmosphérique en ammoniac grâce à l'action de la nitrogénase (**Benmati, 2014**).

1.2.1.2. Solubilisation de phosphate

Le phosphore P est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes mais aussi un important élément nutritif limitant cette croissance. Les bactéries solubilisant le phosphate sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (**Vessey, 2003**). Ces bactéries ont la capacité de solubiliser le phosphore organique par l'action de phosphatase ou le phosphore inorganique par la libération d'acide organique (**Kleopfer et al., 1989**).

1.2.1.3. La production des phytohormones

La production des phytohormones par les PGPR est considérée comme l'un des mécanismes les plus importants pour améliorer la croissance des plantes. Ce sont des petites molécules de signale produites en très faible concentration, elles agissent comme des messagers chimiques influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes. Il existe cinq principaux groupes d'hormones : les auxines, les gibbérellines, l'éthylène, les cytokinines et l'acide abscissique. L'acide indole-3-acétique (AIA) est le plus important du groupe des auxines, il joue un rôle très important dans l'élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants (**Martinez-V et al., 2010**).

1.2.1.4. Induction de la résistance systémique

Certaines PGPR peuvent stimuler le système immunitaire des plantes et leur permettre une résistance contre certains virus, champignons et même les bactéries pathogènes. Le phénomène est désigné ISR (Induced Systemic Resistance) ou résistance systémique induite (**Benmati, 2014**).

1.2.2. Effets indirects

Certaines PGPR produisent des effets bénéfiques sur la croissance des plantes en présence d'un pathogène. Ces modes d'action indirects sont généralement attribuables à la compétition, à la production d'antibiotiques et à la détoxification du milieu (**Beauchamp, 1993**).

1.2.2.1. La compétition

La présence des PGPR dans la rhizosphère génère dans certains cas une relation de compétition trophique à l'avantage des bactéries bénéfiques. Cette compétition s'exprime surtout par rapport au fer, élément indispensable au métabolisme des organismes aérobies. Des stratégies multiples de captage ont été développées par les microorganismes. Citons des sidérophores des *Pseudomonas* qui sont des captures externes de fer et dont l'efficacité est supérieure à celle des pathogènes. Ainsi ces derniers sont mal alimentés et ont de grandes difficultés à se multiplier, ce qui se traduit par la diminution des nuisances causées à la plante hôte (**Kirdi, 2011**).

1.2.2.2. La production d'antibiotiques

Certaines souches de PGPR ont la capacité d'excréter des métabolites actifs contre différents bactéries et champignons. Certaines de ces molécules sont de véritables antibiotiques, qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du

pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité comme les toxines (**Benmati, 2014**).

1.2.2.3. Détoxification du milieu

Les phytotoxines sont produits par des microorganismes saprophytes et parasites du sol et inhibent à des faibles concentrations la croissance et le développement des plantes. Dans le sol, ces toxines s'accumulent en quantité plus appréciable lors de monoculture. Certaines souches du genre *Pseudomonas* éliminent ces phytotoxines (**Beauchamp, 1993**).

1.3. Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère

Les microorganismes en particuliers les bactéries sont fréquemment impliqués dans une multitude d'interactions non génétiques avec d'autres microorganismes, notamment au niveau de la rhizosphère. Ces interactions sont souvent nutritionnelles. Dans d'autre cas, un microorganisme peut exercer un effet nuisible sur les autres microorganismes, par exemple par la production d'antibiotiques ou des composés toxiques.

Les interactions entre populations microbiennes peuvent être reconnues comme des interactions négatives (compétition), positives (commensalisme, synergie et mutualisme), ou positives pour l'une et négatives pour l'autre population (parasitisme) (**Kaioua et Grairi, 2015**).

1.3.1. L'antibiose et parasitisme

L'antibiose est définie comme inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme. Les produits métaboliques sont de différentes natures comme des agents lytiques, enzymes, substances volatiles et des substances toxiques. L'antibiose joue un rôle important dans le contrôle biologique (**Sharma et al., 2013**). Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production des métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. Plusieurs facteurs abiotiques (l'oxygène, la température, des sources spécifiques du carbone, et des micro-éléments), biotiques (la plante hôte, le pathogène, la microflore indigène, et la densité des cellules de la souche productrice) et physiologiques ont été identifiés pour influencer la production des antibiotiques par les agents bactériens de biocontrôle. Certaines souches de PGPR ont la capacité d'excréter des métabolites qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité comme les toxines. Ainsi la capacité de certaines bactéries à parasiter et à dégrader les spores des pathogènes à travers la production d'enzymes détruisant la barrière cellulaire (**Adam, 2008**).

1.3.2. Mutualisme

C'est une interaction entre deux ou plusieurs espèces, dans laquelle les organismes impliqués tirent tous les deux profits de cette relation. On parle alors d'une interaction à bénéfices réciproques. Toutefois, le mutualisme au sens strict n'est pas une relation obligatoire entre les individus impliqués. Dans ce cas plutôt de symbiose qu'est une forme de mutualisme dans laquelle les espèces concernées, les symbiotes et leurs hôtes respectifs, vivent en contacte directe les une avec les autres (**Janzen, 1985**).

1.3.3. Compétition

C'est une interaction directe ou indirecte, de type compétition pour une ressource insuffisante pour deux espèces occupants une même niche écologique (**Bronstein, 2004**). Certains microorganismes (bactéries, levures, champignons filamenteux) peuvent ainsi inhiber la germination des conidies de cet agent pathogène via la compétition pour des éléments nutritifs comme l'azote, le carbone, ou des macro ou micro-éléments présents dans le milieu (**Ajouz, 2009**).

1.3.4. Commensalisme

C'est une association entre deux espèces dont une seule tire profit sans pour autant nuire à l'autre. (**Bronstein, 2004**). Il existe de nombreux exemples de commensalisme. Beaucoup concernent l'utilisation par une espèce, de produits secondaire du métabolisme d'une autre espèce. Dans d'autre cas, au lieu de profiter de la fourniture d'un métabolite utile, le commensal bénéficie de la dégradation d'un produit toxique, ou d'une modification des conditions du milieu dans un sens plus favorable (**Davet, 1996**).

1.4. Quelques rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes

1.4.1. Le genre *Pseudomonas* sp

1.4.1.1. Classification et habitat

Le genre *Pseudomonas* est découvert en 1894 par Migula, il appartient au phylum des proteobacteria, classe des Gammaproteobacteria, Famille des pseudomonaceae, Ordre des Pseudomonales (**Moore et al., 2006**). Ce sont des bacilles à Gram négatif de 0.5 à 1µm de diamètre sur 1.5 à 5µm de long, mobiles et asporulées (**Bell-Pekins et Lynch, 2002**). Les *Pseudomonas* sp sont des bactéries ubiquistes particulièrement abondants dans les sols, les eaux, et souvent pathogènes des animaux et des végétaux. Elles possèdent plusieurs caractéristiques 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 remarquables (**Hass et Keel, 2003**).

1.4.1.2. Caractéristiques métaboliques

Le genre *Pseudomonas* est caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisé comme accepteurs d'électrons ce qui permet une croissance en aérobiose). Les *Pseudomonas* sp sont chimio-organotrophes facultatifs et peuvent utiliser H₂ comme source d'énergie et n'ont pas besoin de facteurs de croissance pour ce multiplier (**Stanier et al., 1966**).

1.4.1.3. Le genre *Pseudomonas* en association avec les plantes

Les *Pseudomonas* sp sont les habitants type des sols agricoles et la rhizosphère des plantes, et sont impliqué dans de nombreuses interactions avec les plantes (**Schroth et al., 1992**), elles incluent des souches pathogènes et des souches bénéfiques. Ces bactéries ont une capacité élevée à coloniser la rhizosphère ainsi que les racines des plantes et sont capable de former des associations intimes avec leurs hôtes. Les exsudats racinaires, et en particulier les sucres et les acides aminés, attirent les bactéries par chimiotactisme à la surface des racines. Ils stimulent notamment la mobilité flagellée des bactéries, ce qui permet à ces dernières de coloniser la rhizosphère (**De Weert et al., 2002**). Ces associations peuvent mener à une maladie chez les plantes hôte sensible.

Néanmoins, certaines espèces de *Pseudomonas* sont capables de mettre en place des interactions mutualistes influençant avantageusement l'hôte végétal, elles sont désignées sous le terme « plant-probiotic *fluorescens Pseudomonas* spp » (**Hôte et Altier, 2010**). Ces bactéries sont connues comme promotrice de la nutrition et la croissance des plantes par la solubilisation des minéraux comme le phosphore, par la production des sidérophores ou par la production de régulateurs de croissances comme les auxines (**Lemanceau, 1992**).

L'inoculation des plantes à l'aide de certaines souches de *Pseudomonas* sp s'accompagne en effet d'une augmentation significative du rendement de la culture. Celle-ci résulte de la stimulation de la croissance des plantes et de leur protection contre des microorganismes pathogènes. Deux types de mécanismes sont responsables de ces effets bénéfiques. L'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère, l'autre la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante. Ainsi la compétition et

l'antibiose exercés par les *Pseudomonas* sp baissent la densité et l'activité néfaste des microorganismes pathogènes (**Lemanceau, 1992**).

1.4.2. Le genre *Bacillus* sp

1.4.2.1. Classification et habitat

Les *Bacillus* forment un genre de bactéries à gram positif, appartenant à la famille des bacillacées (Bacillaceae), l'ordre des bacillales (Bacillales), la classe des bacilles (Bacilli). Ces bactéries sont capables de produire des endospores leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables (**Benmati, 2014**). Les cellules bactériennes de ce genre ont une taille large, allant de 0.5 à 2.5 µm x 1.2 à 10 µm. Ce genre est généralement présent dans le sol et les plantes où elles ont un rôle important dans le cycle du carbone et de l'azote (**Koneman, 2001**).

1.4.2.2. Caractéristiques métaboliques

Les bactéries du genre *Bacillus* peuvent dégrader la plupart de la matière organique animale ou végétale (cellulose, amidon, protéines, hydrocarbures...) par la production d'enzymes extracellulaires (**Chirif, 2014**), sont des bactéries aérobies ou aéro-anaérobies facultatifs, et tirent leur énergie par respiration ou fermentation. Les *Bacillus* sont hétérotrophes, saprophytes et ubiquitaires, il existe des espèces thermophiles, acidophiles, psychrophiles, alcalinophiles (**Bounoua, 2008**).

1.4.2.3. Le genre *Bacillus* en association avec les plantes

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

CHAPITRE II
CHAMPIGNONS
PHYTOPATHOGENES

1. Généralité sur les champignons phytopathogènes

Les champignons sont définis comme des organismes eucaryotes, sporogones et non chlorophylliens, se reproduisant par voie sexuée ou asexuée. Le terme « champignons » regroupe principalement : les levures, les champignons filamenteux (communément appelés moisissures) et les champignons supérieures (ou champignons comestibles) (**Sylvain, 1996**).

Les champignons filamenteux sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif forme un thalle composé de filaments microscopiques, souvent ramifiés, appelés hyphes ; l'ensemble de ces hyphes forme le mycélium. Les hyphes sont entourés par une paroi cellulaire protectrice, qui permet les échanges avec le milieu extérieur. Elle est en générale formée de chitine associée à d'autres constituants (chitosanes, glucanes, protéines) (**Champion, 1997**). Les champignons filamenteux sont ubiquitaires et très répandus dans la nature, notamment au niveau des végétaux en décompositions, ils sont hétérotrophes, et plus particulièrement absorbotrophes puisqu'ils absorbent les éléments, digères de manière extracellulaire, au travers de leur appareil végétatif présentant une perméabilité pariétale. Ils ne peuvent pas synthétiser de matière organique à partir du gaz carbonique atmosphérique. En effet, ils sont incapables d'assurer la photosynthèse. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement. Ils synthétisent leurs propres nutriments à partir de l'eau et des éléments nutritifs et minéraux qu'ils puisent dans leur environnement. Il joue un rôle important dans le recyclage des matières organiques en puisant leur énergie à partir de ces sources carbonées externes (**Lecellier, 2013**). La plupart des champignons sont mésophiles avec des optimums de croissance variant de 25°C à 35°C (**Nguyen Minh Tri, 2007**).

Les champignons se reproduisent essentiellement par des spores uni- ou pluricellulaires. On distingue, selon leur origine, les spores sexuées et les asexuées. La forme sexuée, ou téléomorphe, a pour fonction de maintenir l'espèce et apparaît souvent en fin de saison alors que la forme asexuée, dite aussi forme imparfaite ou anamorphe, assure la propagation.

Les grands groupes de champignons sont au nombre de cinq (**Corbaz, 1990**).

- **Archimycètes**

Ils sont très primitifs, liés à la présence d'eau, car les zoospores flagellées ne se trouvent que dans la terre (**Corbaz, 1990**).

- **Phycomycètes**

Les phycomycètes ou siphomycètes, sont des champignons primitifs à thalle en forme de tubes non cloisonnés, à cellules reproductrices flagellées, aquatiques. certaines moisissures sont des phycomycètes saprophytes ; elles attaquent les aliments, le linge, le cuir (**Doucet, 2008**).

- **Ascomycètes**

Ils possèdent un mycélium cloisonné ; les spores sexuées sont formées dans un sac, l'asque, située au centre d'un réceptacle foncé appelé périthèce ou apothécie selon la forme. Les spores asexuées se trouvent soit en surface, soit à l'intérieure de divers réceptacle dénommé pycnides ou acervules (**Corbaz, 1990**).

- **Basidiomycètes**

Leur mycélium est aussi cloisonné. Les spores sexuées ou basidiospores sont formées au sommet des basides, homologue des asques. Les basides ne sont pas enfermées dans des réceptacles mais se trouvent en surface (**Corbaz, 1990**).

- **Deutéromycètes**

Les deutéromycètes, ou champignons imparfait, sont caractérisés par un mycélium septé et qui regroupent tous les champignons dont on connaît que la phase végétative ou qui n'ont pas de phase sexuée (**Doucet, 2008**).

2. les principaux genres de champignons telluriques phytopathogènes

Plusieurs genres des champignons telluriques sont capables d'infecter les racines de plantes sauvages et cultivées et de causer des dégâts importants. Il s'agit notamment des *Aspergillus*, des *Penicillium*, les *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Pythium*, *Verticilium*, *Botrytis*... (**Agrios, 2005**). Ils sont la principale cause des maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70% des maladies des plantes cultivées (**Deacon, 2006**).

2.1. Genre *Aspergillus*

2.1.1. Généralité

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. Certaines formes sexuées d'*Aspergillus sp* sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*. Il existe actuellement environ 180

espèces reconnues d'*Aspergillus* (Gugnani, 2003), définies d'après les caractères de l'appareil reproducteur (Botton *et al.*1990). Les espèces d'*Aspergillus* se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires et les céréales (Gugnani, 2003).

La répartition géographique des *Aspergillus* est assez vaste. Ils sont les plus souvent présents dans les zones tropicales et subtropicales, donc adaptés à des climats chauds et à des milieux pauvres en eau (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Les *Aspergillus* poussent rapidement, ils sont poudreux ou duveteux, de couleur variables : blanc, vert, brun à noir. Ils se caractérisent par la formation d'organes de reproduction asexués : les têtes Aspergillaires. Le conidiophore, de longueur variable, se renfle à son extrémité terminale formant une vésicule globuleuse, à partir de celle-ci se forment des phialides, soit directement, soit par l'intermédiaire de métules. Les phialides forment des conidies unicellulaires, basipétales disposées en chainettes (Rouviere, 2002).

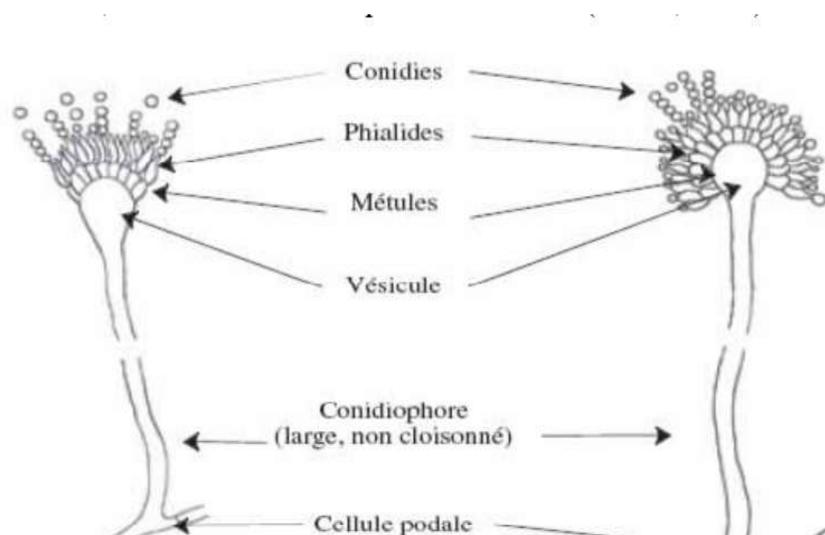


Figure 1 : Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus* (Bendaoud-Tabet Aoul, 2014).

2.1.2. Potentiel toxigène

De nombreuses espèces appartenant au genre *Aspergillus* sont connues pour leur capacité à produire certaines mycotoxines (Pitt, 2000).

Aspergillus terreus élabore des substances antibactériennes, de toxicité variable (flavipine, terréine, citrinine, erdine et molécules voisines, calavacine) (Botton *et al.*, 1990).

Aspergillus flavus et *Aspergillus parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxines. L'aflatoxine B1 est classée comme cancérigène chez l'homme et l'animale (**Iarc, 1993**).

Aspergillus fumigatus synthétise plusieurs métabolites très toxiques comme la fumagiline, acide helovlique, la gliotoxine, des alcaloïdes voisins de ceux de l'ergot de seigle (**Moreau, 1982**).

Aspergillus niger synthétise de l'acide oxalique (**Raistrick et Clark, 1919**), des malformines, et certaines souches synthétisent des aflatoxines.

Aspergillus ochraceus est le principale producteur d'ochratoxine A. Il colonise de très nombreux substrats (**Ramos et al., 1998**).

2.2. Genre *Penicillium*

2.2.1. Généralité

Le genre *Penicillium* comprend entre 150 et 300 espèces, réparties en quatre sous genres appartenant à la division des Deutéromycètes. Les formes téléomorphe de certaines d'entre elle sont connues et appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes dont les genres les plus représentatifs sont *Eupenicillium* et *Talaromyces* (**Pitt et Hoking, 1997**). Ce genre de moisissure est très rependu dans les régions à climat tempéré. Certaines espèces de *penicillium* contaminent les céréales et les grains avant la récolte.

Les *penicilliums* sp sont les organismes dominants des « moisissures bleues et vertes » associées ou pourrissement des aliments en particulier les fruits et les légumes. 85 espèces sont connues pour être toxinogène, et la plupart des mycotoxines sont produites par un petit nombre d'espèces (**Rouviere, 2002**).

Les *penicilliums* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés, en faisceaux lâche ou agrégés en corémies bien individualisés (**Anani et Bentaleb, 2016**).

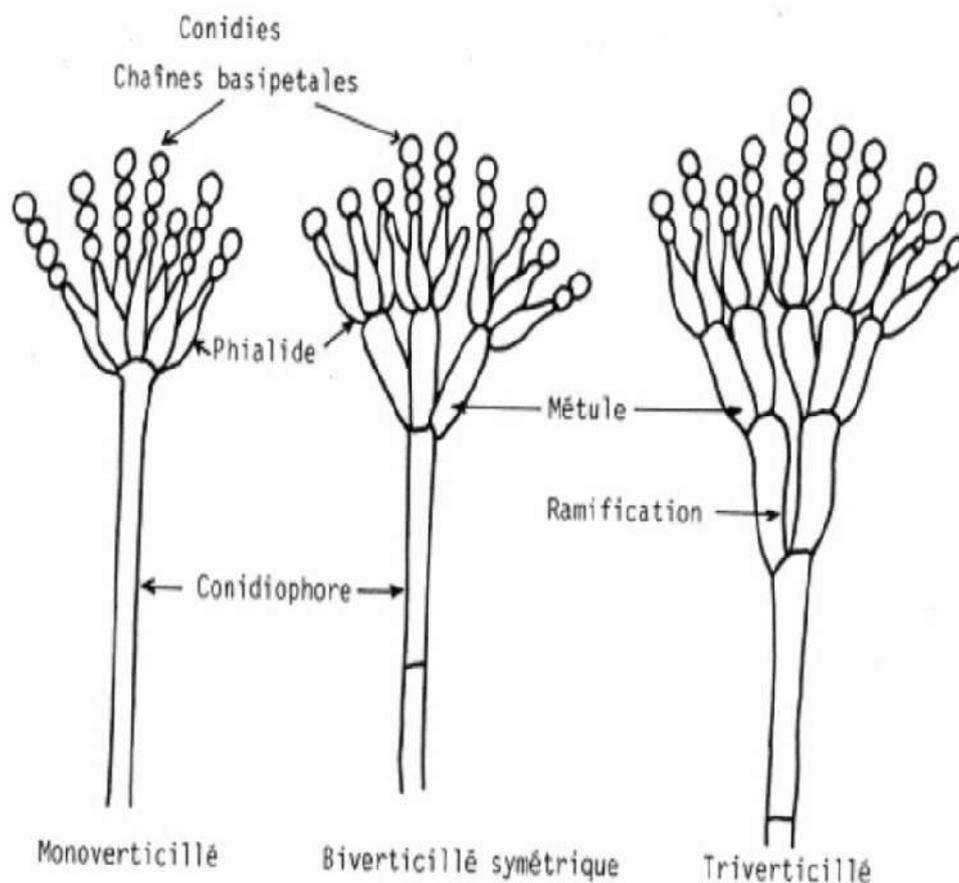


Figure 2 : Principaux caractères morphologiques des *pénicilliums* (Tabuc, 2007).

2.2.2. Potentiel toxigène

La majorité d'espèce du genre *penicillium* sont capable de produire des mycotoxines : l'acide cyclopiazonique (*Penicillium chrysogenum*) ; l'acide pénicillique (*Penicillium cyclopium*) ; la patuline ou la clavacine (*Penicillium expansum*, *Penicillium griseofulvum*) ; la citrinine (*Penicillium expansum*) ; l'ochratoxine A (*Penicillium verrucosum*) (Pitt, 2000).

2.3. Genre *Botrytis*

2.3.1. Généralité

Le genre *Botrytis* comprend 22 espèces dont la plupart ont un spectre d'hôte restreint comme *Botrytis fabae* sur les légumineuses. Au contraire *Botrytis cinerea* est capable d'attaquer plus de 230 espèces de plantes sur lesquelles il peut engendré des dégâts sérieux avant et après la récolte. Ce champignon appartient à la division de Deutéromycètes de la classe Hyphomycètes, de l'ordre de Moniliales, famille des moniliaceae. Les formes

téléomorphe appartient à l'embranchement des Ascomycota, de la classe Ascomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae (Jarvis, 1977).

Botrytis cinerea est un champignon ubiquiste, très polyphage et opportuniste qui colonise plus facilement les tissus affaiblis (Blancard et al., 2003). Le mycélium du champignon observé au microscope lors de son développement, montre des houppes constituées par de gros tubes se ramifiant au sommet sous forme arborescente. Lorsque le développement de la moisissure est assez avancé, on aperçoit aux extrémités des grappes très nombreuses formées de conidies ; de ces conidies se détachent des spores ovoïdes.

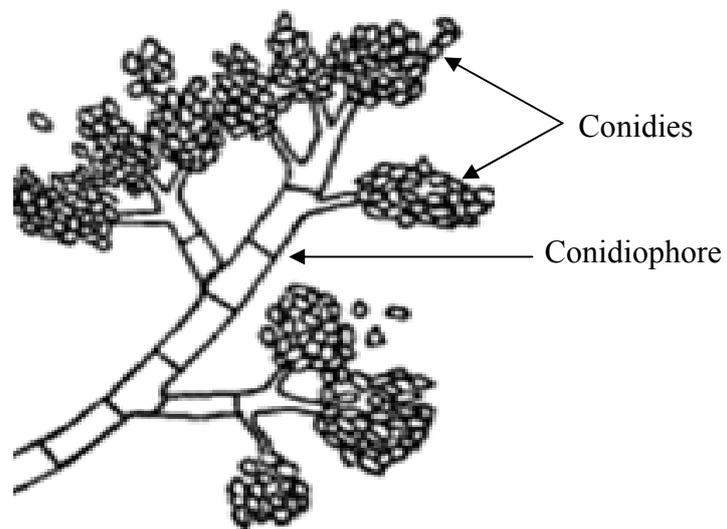


Figure 3 : Principaux caractères morphologiques de *Botrytis cinerea* (Agrios, 2005).

2.3.2. Le potentiel toxigène

Botrytis cinerea a la capacité de produire beaucoup d'enzymes qui jouent un rôle dans sa virulence, en particulier les pectinases qui dégradent la pectine, un polysaccharide majoritaire des parois de la cellule végétale.

Les enzymes pectolytiques sont sécrétées par l'agent pathogène lors de contact avec la paroi des cellules végétales. Ce n'est que lorsque la fraction pectique de la paroi est suffisamment dégradée que d'autres enzymes comme les cellulases, xylanases et protéases sont sécrétées (Le poivre, 2003).

Botrytis cinerea sécrète aussi des toxines non spécifiques pour tuer un large spectre des plantes. La toxine la plus connue est le sesquiterpène botrydial (Mathias et al., 2007). De même *Botrytis cinerea* est capable de produire des métabolites secondaires comme l'acide

abscisique et l'acide botcinique qui sont impliqués dans sa pathogénicité (Collado *et al.*, 2007).

3. Les maladies des plantes

3.1. Définition

Une maladie des plantes peut être définie par une succession de réponses invisibles et/ou visibles à un microorganisme phytopathogène ou à la modification d'un facteur environnemental (température, pH, humidité et disponibilité d'oxygène), qui provoque des bouleversements de forme, de fonction ou de l'intégrité de la plante. Il existe de ce fait deux types de maladies des plantes : des maladies non infectieuses (abiotiques) et des maladies infectieuses (biotiques) causées par les champignons, bactéries, des virus, nématodes et des protozoaires (Sarah *et al.*, 2008).

3.2. Le triangle de la maladie

Pour qu'une maladie d'une plante se développe, trois composants sont nécessaires : la plante et le pathogène doivent se mettre en contact et interagir, et les conditions de l'environnement doivent être favorables. Par ailleurs, chacun de ces trois composants peut varier considérablement aboutissant à différents degrés de sévérité de la maladie pour une plante. La plante peut être plus ou moins résistante, sensible, jeune, âgée... Le pathogène peut être plus ou moins virulent, actif, dormant... Les conditions de l'environnement peuvent affecter plus ou moins la croissance, la sensibilité et la résistance de la plante hôte, la croissance, la multiplication, le degré de virulence et la dispersion du pathogène...L'interaction plante hôte, pathogène et environnement est généralement considérée comme formant un triangle appelé « le triangle de la maladie » (Nasraoui, 2008).

3.3. Classification des maladies

3.3.1. Les maladies non infectieuses

Les maladies non infectieuses résultent d'une inadéquation de conditions environnementales, qui ne sont pas favorables pour la plante, ils peuvent s'agir de problèmes liés en carence des conditions minérales du sol (azote, potassium, magnésium, fer...), inondation des sols, trop de soleil, exposition ou polluants atmosphériques (ozone, dioxyde de soufre), l'exposition accidentelle aux herbicides...(Knudsen, 2013).

3.3.2. Les maladies infectieuses

Les maladies infectieuses sont des maladies causées par des organismes phytopathogènes tels que les champignons, les bactéries, les nématodes, et les virus (il y a aussi quelques plantes parasites).

Les champignons et les nématodes peuvent entrer dans les plantes par les blessures ou les ouvertures naturelles, et aussi directement.

Les bactéries et les virus peuvent entrer dans les plantes par les blessures ou les ouvertures naturelles, ou par vecteur, mais jamais directement (**Knudsen, 2013**).

3.4. Principaux symptômes des maladies fongiques

Un symptôme est une indication de la présence de la maladie par la réaction de l'hôte (par exemple, le chancre, la tache des feuilles, le flétrissement) (**Knudsen, 2013**). On peut répartir les symptômes en trois groupes.

3.4.1. Hypoplasie

Réduction de la chlorophylle ou de tissus entraînant la diminution en taille (**Prabhu, 1992**).

a. **jaunissement** : les feuilles jaunissent ce qui est due à un agent pathogène (figure 4). la carence en Zn, Fe ou Mn provoque le même effet (**Prabhu, 1992**).



Figure 4 : Jaunissement des feuilles de tomate (**Aydi, 2013**).

b. **Nanisme** : l'organe de la plante ou la plante devient nains (**Prabhu, 1992**).

3.4.2. Hyperplasie

a. **verrues, galles, balais de sorcière, cloque de feuille** : les organes tels que la racine, la feuille (figure 5), le fruit ou parfois la tige deviennent plus gros que leur taille normale (Prabhu, 1992).



Figure 5 : Cloque de feuille du pêcher causé par le champignon *Taphrina deformans* (Gaveriaux, 2010).

3.4.3. Nécrose : mort cellulaire ou tissulaire (Prabhu, 1992). Est un symptôme très fréquent sur les différents organes d'un végétal (feuilles, rameaux, tiges, branches, racines, etc.) (Clément, 1981).

a. **flétrissement** : c'est une infection vasculaire. Le mycélium bloque les vaisseaux. En même temps le champignon secrète des toxines affectant la vitalité des tissus. La plante perd sa vigueur et devient molle (Prabhu, 1992) (figure 6).



Figure 6 : Flétrissement des plantes de tomates (Aydi, 2013).

b. pourritures : Les pourritures se rencontrent sur tous les organes, aériens et souterrains, des plantes. Selon l'agent responsable, elles s'extériorisent différemment, ce qui permet, dans de nombreux cas, d'identifier la maladie. Selon les cas, la pourriture peut être sèche, humide ou molle. Lorsqu'il s'agit d'une pourriture d'origine cryptogamique, les tissus malades sont envahis par le champignon, qui bien souvent ne tarde pas à fructifier.

Parmi les pourritures les plus fréquemment rencontrées chez les plantes cultivées, on peut citer les pourritures des fruits, la pourriture grise, due à un *Botrytis* (Mazoyer, 2002) (figure 7).

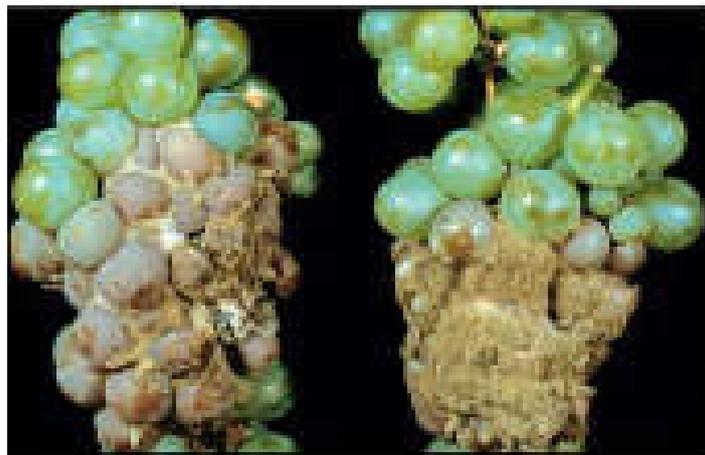


Figure 7 : Pourriture grise sur chasselas causée par *Botrytis cinerea* (Ajouz, 2009).

c. Chancre : Sur les tiges, au voisinage du sol apparaissent des taches noires allongées, nombreuses et bientôt confluentes. Les parties malades se creusent donnant l'aspect d'un chancre (Lechvalier, 1947) (figure 8).



Figure 8 : Chancre sec de la tige de tomate causé par le champignon *Fusarium solani* (Lambert, 2015).

d. **Mildiou** : Maladie cryptogamique des plantes due à des champignons appartenant aux genres *Phytophthora*, *Plasmopara* et *Peronospora* (**Mazoyer, 2002**). L'agent pathogène attaque d'abord les feuilles. Des taches, d'abord petites, jaunes puis brunes et qui sèchent rapidement apparaissent. Les tiges sont ensuite attaquées et présentent de grandes taches brunes irrégulières. La perte de récoltés est potentiellement très forte par destruction des plantes (**Knudsen, 2013**) (figure 9). La maladie provoque des dégâts considérables dans des conditions favorables (**Prabhu, 1992**).



Figure 9 : Tomates atteintes de mildiou causé par le champignon *Phytophthora infestans* (**Aydi, 2013**).

e. **Rouille** : Est une maladie causée par un agent pathogène appartenant à la classe des basidiomycètes (**Prabhu, 1992**). Elle apparaît en général à la fin de l'été et ne cause que peu de mal. Sur les feuilles s'observent de petites taches de couleur jaune de 1 à 2 mm, de diamètre. A la face inférieure, la tache est plus claire et porte au centre une petite pustule atteignant 1/3 de mm, de diamètre, de couleur foncée, brune ou noire. Les taches de rouilles peuvent être très nombreuses (figure 10). Dans ce cas, le champignon épuise les feuilles qui ne tardent pas à jaunir (**Lechevalier, 1947**).



Figure 10 : Feuilles de maïs avec des symptômes de la rouille causée par *Puccinia sorghi* (**Narla, 2015**).

f. **Fusariose** : Maladie cryptogamique due à un champignon appartenant au genre *Fusarium* .Il existe de nombreuses espèces de *Fusarium* qui, du fait de leur pouvoir d'adaptation qui se recouvrent des points noirs (Clément, 2002) (figure 11). Cette maladie est en voie d'extension depuis quelques années et provoque de très graves pertes (Lechevalier, 1947).



Figure 11 : Fusariose des épis de blé (Siu, 2013).

g. **Tache** : C'est une lésion précise, localisé, ronde régulière, souvent avec une bordure de couleur différente, caractérisée quant à l'emplacement (la tâche des feuilles, la tâche des fruits.) et la couleur (tache brune, tache noire) (figure 12) ; si elles sont nombreuses ou si des taches agrandissent et fusionnent, une grande tache régulière ou une brûlure peuvent se développer comme tache grise de la feuille de la tomate (Narla, 2015).



Figure 12 : Taches angulaires de la feuille de l'haricot causées par *Phaesariopsis griseola* (Narla, 2015).

4. Les relations plante-pathogène

D'une manière générale, les plantes mettent en œuvre des mécanismes très efficaces qui contrôlent leurs rapports avec les agents potentiellement pathogènes. A cet égard, il est classique de distinguer deux grands types de relations (**Lepoivre, 2003**).

4.1. La relation non – hôte

Les plantes sont des « non- hôte » vis-à-vis de la plupart des microorganismes de leur environnement. Elles ne sont attaquées que par un nombre restreint de microorganismes (**Rocher, 2004**).

4.2. La relation hôte

L'évolution d'une maladie fongique ainsi que ses symptômes sont étroitement liés aux relations qui s'établissent entre le végétal et son parasite. Si le champignon ne réveille pas les mécanismes de défense de la plante, il s'y installe pour s'y développer, la plante est alors dite sensible. Au contraire, certaines plantes, dites résistantes, répondent rapidement à la tentative d'invasion et sont épargnées. Cette propriété est largement utilisée pour sélectionner des variétés résistantes (**Mazoyer, 2002**).

CHAPITRE III

MOYENS DE LUTTE

Les luttes applicables

Les plantes subissent souvent des dégâts causés par des « ravageurs ». Insectes et acariens sont les plus importants et leur contrôle a souvent constitué une des préoccupations majeures des agriculteurs. Les plantes peuvent être aussi attaquées par des maladies du fait du développement de bactéries, de champignons, de virus. Les ravageurs et les maladies constituent les ennemis des cultures que l'on appelle communément parasites. Pour lutter contre ces ennemis, l'homme a développé un ensemble de pratiques et de produits (**Resche-Rigon, 2008**).

1. La lutte chimique

La lutte chimique est l'application d'un produit phytosanitaire en vue de détruire une population indésirable. Une population a pris possession d'un territoire grâce à des facteurs perturbants ou favorisants.

1.1. Les fongicides

1.1.1. Historique

Depuis les débuts de l'agriculture, l'homme utilise divers moyens pour protéger les plantes cultivées de leurs bioagresseurs. Les premières mentions, mal référencées, de l'activité biocide de l'arsenic et du soufre seraient évoquées par Homère et par Pline l'ancien. En France, la lutte chimique se démocratise peu à peu à partir de la seconde moitié du XIX^{ème} siècle (notamment avec la découverte de la bouillie bordelaise) (**Walker, 2013**). Des améliorations notables seront faites chaque année concernant l'utilisation de ces produits ou de leurs mélanges. Les organo-mercuriques s'ajouteront à la gamme des fongicides en 1913 par l'intermédiaire de REHM. Ce n'est qu'à partir de 1934 que TISDALE et WILLIAMS ouvriront une nouvelle voie dans la recherche des fongicides (**Lhoste, 1960**).

1.1.2. Définition

Le mot "fongicide" désigne un produit chimique capable de tuer un champignon. Au terme fongicide il faut adjoindre les termes de fongistatique et d'antisporeur. Le terme de fongistatique qualifie l'effet d'un produit qui inhibe le développement d'un champignon, soit sous sa forme végétative, soit sous sa forme de conservation. Lorsque le produit n'entrave pas la croissance du mycélium, mais seulement les phénomènes de sporulation ou de reproduction, il est dit antisporeur ou génestatique (**Lhoste, 1960**).

1.1.3. Les fongicides non systémiques

Les fongicides non systémiques sont ceux qui demeurent au niveau du point d'application sur la plante. Ils sont dits de surface s'ils restent à l'extérieur du végétal, à la surface des feuilles dans le cas d'une application foliaire. Lorsque les fongicides sont suffisamment lipophiles, ils sont piégés au niveau de la cuticule des feuilles ; on les appelle alors cuticulaires. Ils peuvent aussi franchir la cuticule et diffuser dans les parois des premières couches cellulaires. Dans ce cas, il s'agit de fongicides pénétrants (**Rocher, 2004**).

1.1.4. Les fongicides systémiques

La systémie des fongicides se limite uniquement à une systémie xylémienne : le produit diffuse de la semence (zone d'application) vers le sol environnant puis est absorbé par les racines au moment de la germination pour migrer vers les parties aériennes (**Rocher, 2004**).

1.2. Le mode d'action des fongicides

Le mode d'action des fongicides sur les cryptogamiques est évidemment variable en fonction de la nature chimique des composés.

➤ **Pénétration du fongicide dans le champignon** : Pour agir, le toxique doit franchir, la membrane cellulosique semi- perméable. Lorsque les produits sont partiellement solubles dans l'eau, donc l'opération est assez simple. Le toxique passe dans le milieu intérieur en même temps que l'eau nécessaire à la vie du champignon. Mais lorsque le produit est considéré comme insoluble, la pénétration du toxique dans l'organisme est plus compliquée. Dans ce cas, le produit pénétrerait sous la forme de molécules qui se détacheraient sous des influences variées. Parmi celles-ci ont été retenus : les gaz atmosphériques, l'excrétion des organes du végétal –hôte ou l'excrétion des organes du cryptogame (**Lhoste, 1960**).

➤ **Effets du fongicide sur le contenu cellulaire** : Ces effets sont certainement nombreux et complexes. Au seul point de vue du métabolisme, les fongicides attaquent et détruisent les lourdes molécules protéiniques comme certains d'autres brisent les molécules de glucose ou empêchent leur utilisation. Il s'en suit l'élimination des métabolites. Leurs structures est alors assez voisine du corps entrant dans le métabolisme du champignon (**Lhoste, 1960**). La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stéroïdes ou la division cellulaire (**Leroux, 2004**).

1.3. Les inconvénients de la lutte chimique

L'utilisation irraisonnée des produits chimiques a eu dans certaines situations, des conséquences inattendues sur la santé humaine et pour l'environnement telles que, la pollution importante des écosystèmes et problèmes de santé publique causé par le chlordécone, aux Antilles (Dallaire et al., 2012). Pour les fongicides, leur usage intensif a rapidement conduit à la sélection des souches résistantes (le premier cas est celui de la résistance aux benzimidazoles, premiers fongicides de synthèse à cible biochimique unique, chez de nombreux champignons phytopathogènes). Cette résistance est d'autant plus facilitée, chez les champignons, que ces organismes possèdent des caractéristiques biologiques favorisant leur adaptation aux contraintes anthropiques (Stukenbrock et McDonald, 2008).

1.3.1. La résistance des champignons pathogènes aux fongicides

Etant donné que de nombreux organismes unicellulaires et pathogènes peuvent acquérir une immunité partielle ou totale lorsqu'ils sont mis en présence de sulfamides ou d'antibiotiques, que de nombreuses espèces d'insectes sont devenues résistantes aux insecticides, il n'y a apparemment aucune raison pour que certains champignons ne puissent devenir résistants aux fongicides (Lhoste, 1960). Comme les fongicides : régimes de reproduction mixte, grande tailles de population, grandes capacités de dispersion, temps de génération courts contribuant ainsi à généraliser les résistances sur de larges territoires. D'un point de vue théorique, l'évolution des pathogènes aux fongicides constitue un cas d'école de sélection naturelle, observable in natura est sur une échelle temporelle humaine, voire parfois très courte par exemple : chez *Zymoseptoria tritici*, l'agent de la septoriose du blé, la résistance aux strobilurines (Torriani et al., 2009). Diverses études ont mis en évidence des niveaux différents de résistances aux fongicides sur 38 souches de *Botrytis cinerea* de cultures maraichères en Suisse (tomate et laitue principalement), 44.7% sont résistantes aux diacboximides, 73,6 % aux benzimidazoles et 31.8% présentaient une double résistance (Corbaz, 1990).

1.3.2. Effets sur la santé humaine

La révolution verte nous a enseigné que l'emploi intensif de pesticides et d'engrais est nocif pour les écosystèmes et par conséquent pour la santé de l'animal et de l'homme (Rachel, 1962). Plusieurs études expérimentales ou épidémiologiques laissent supposer un risque important d'atteinte par certaines formes de cancer à la suite de l'exposition chronique à certains pesticides couramment utilisés. Les types de cancers les plus souvent cités sont le cancer de cerveau, de poumon, de foie, de l'estomac et la leucémie. Ils peuvent même affecter

la reproduction humaine en exerçant une toxicité directe sur les organes de reproduction ou en interférant avec la fonction hormonale (Capkin et al., 2006). L'exposition à ces produits augmente les risques d'atteinte par des maladies infectieuses en plus des effets comme la chute de production d'anticorps et des réactions d'hypersensibilité. D'autre part, ils pourraient supprimer la réponse normale du système immunitaire humain à l'invasion de virus, de bactérie, de parasite et de tumeurs. Les effets neurologiques constituent l'une des manifestations les plus fréquents des intoxications aiguës des pesticides (Cuppen et al., 2000).

1.3.3. Effets sur l'environnement

D'un point de vue écologique, les pesticides ne sont pas des produits anodins. En effet, ils sont responsables de nombreux effets toxiques secondaires causant des risques potentiels pour l'environnement (Relyea, 2009). L'utilisation intensive des pesticides affecte la fertilité de sol. La longueur des racines de plantes colonisées pas les mycorhizes était ainsi 40% plus élevé dans les systèmes biologiques que dans les exploitations conventionnelles (Mader et al., 2002). Des études ont montré aussi que les herbicides sulfonylurées metsulfuron et dans une moindre mesure le chlorsulfuron sont à l'origine d'une réduction de la croissance des bactéries du sol *Pseudomonas* (Boldt et Jacobsen, 2006). Les animaux absorbent les produits phytosanitaires via la nourriture ou l'eau d'alimentation, via l'air respiré ou au travers de leur peau. Ayant franchi diverses barrière, le toxique atteint les sites du métabolisme ou il est stocké. Cette exposition peut engendrer chez les mammifères toute une gamme d'effets toxiques dont des baisses spectaculaires de fertilité souvent remarquée (Aissaoui, 2013).

2. La lutte biologique

Le milieu agricole et le milieu forestier sont l'objet depuis plusieurs années de critiques concernant leur impact environnemental. Les citoyens s'inquiètent de la dégradation des milieux naturels ainsi que de l'innocuité des aliments qu'ils consomment. Cette perception négative a été exacerbée en Europe suite aux crises successives qui ont frappé le milieu agricole (contamination de poulets à la dioxine, crise de la vache folle, épidémie de fièvre aphteuse). Face à ces critiques et afin de rendre moins polluante et moins risquée l'agriculture moderne, un certain nombre de solutions, dont la lutte biologique, sont proposées (Boivin, 2001).

2.1. Historique

Les débuts de l'agriculture remontent au Néolithique (10000 à 8000 avant Jésus christ). Ces nouvelles pratiques ont entraîné une concentration des ressources et une diminution des ennemis naturels par modification de l'environnement local. De plus, il est aussi vite devenu indispensable de stocker les récoltes au fur et à mesure de l'extension des villages et des villes. Ce développement de l'agriculture s'est aussi accompagné de la nécessité de protéger les cultures et les élevages par des techniques empiriques dont on a retrouvé de multiples traces (**Suty, 2010**). La première utilisation référenciée de la lutte biologique a été effectuée dans les vergers chinois, aux environs de l'an 400 avant Jésus- christ. Les fermiers utilisaient alors des fourmis tisserandes pour lutter contre les ravageurs des fruits. Depuis, d'autres utilisations ont été effectuées avec succès (**Lambert, 2010**). En 1762 dans l'île Maurice, des oiseaux sont importés pour lutter efficacement contre des sauterelles (**Resche- Rigon, 2008**). En 1840, le français Boisgiraud est le premier à tester la lutte biologique en plein champ : il a utilisé des coléoptères comme les carabiques et les staphylins pour en faire des lâchers en vue de limiter les pullulations du bombyx disparate (ou spongieuse), puis pour combattre l'invasion du phylloxera de la vigne. Ces techniques très empiriques, ont été utilisées partout dans le monde de manière assez limitée jusqu'à la fin du XIXème siècle. Un pionnier, Charles Valentine Riley, a donné ses lettres de noblesse à la lutte biologique moderne (**Suty, 2010**). Des succès importants ont donc été constatés, mais aussi beaucoup d'échecs à l'arrivée du DDT en 1939 la lutte biologique a été boudée au profit de la lutte chimique. Depuis 1955 suite à la prise de conscience des problèmes liés à l'utilisation de produits chimiques (résistances et résidus) on se mit à penser à une mise en œuvre de techniques de protection des cultures associant différents moyens, dont la lutte biologique (**Resche- Rigon, 2008**).

2.2. Définition

Dans le domaine agronomique, on entend par la lutte biologique toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et /ou la nocivité des divers ennemis des cultures. Rongeurs, insectes et acariens, nématodes, agent des maladies des plantes et mauvaises herbes sont justiciables d'une telle lutte, qui est basée sur des relations naturelles entre individus ou entre espèces, mises à profit par l'homme de diverses manières. L'organisme vivant utilisé comme agent de lutte est un « auxiliaire » de l'homme (**Grisson 1991**). Il existe de nombreuses définitions de la lutte biologique mais nous nous en tiendrons à une définition plus large de la lutte biologique est parfois utilisée : « Toute action mettant en

jeu des organismes modifiant l'hôte, y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite » (**Corbaz, 1990**). Une autre définition générale telle celle proposée par Van Drische et Bellows, (1996) : « La lutte biologique est un processus agissant au niveau des populations et par lequel la densité de population d'une espèce est abaissée par l'effet d'une autre espèce qui agit par prédation, parasitisme, pathogénicité ou compétition ». Le concept de lutte biologique a subi une évolution au cours du temps et intègre dans sa définition actuelle toutes les formes non chimiques de contrôle des ravageurs des récoltes mais aussi des mauvaises herbes (**Kouassi, 2001**).

2.3. Les auxiliaires de la lutte biologique

Pratiquement tous les organismes vivants peuvent être considérés comme des ennemis naturels selon l'angle avec lequel on examine leur écologie. Cependant dans un contexte de lutte biologique en agriculture et en foresterie, et surtout en ce qui concerne la lutte biologique contre les insectes ravageurs, quatre groupes d'organismes sont surtout utilisés. Ce sont les microorganismes, les nématodes, les prédateurs et les parasitoïdes (**Boivin, 2001**). Ces organismes sont aussi nommés les auxiliaires de lutte (**Lambert, 2010**).

2.3.1. Les bactéries utilisées en lutte biologique

Selon **Starnes et al. 1993**, plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique. Ces bactéries entomopathogènes se retrouvent chez les espèces non sporogènes telles les pseudomonadaceae (*Pseudomonas*) et les Enterobacteriaceae (*Aerobacter*) et les bactéries sporogènes tels les Bacillaceae (*Bacillus*, *Clostridium*) (**Boivin, 2001**). A L'heure actuelle, *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus sphaericus* sont les espèces les plus utilisées en lutte contre les ravageurs (**Kouassi, 2001**). Les premières applications de *Bacillus thuringiensis* dans l'environnement datent de 1933. Il a été utilisé dès les années 1950 dans les forêts, les champs et les vignobles. Jusqu'au milieu des années 1970, sa principale application était la lutte contre les lépidoptères défoliateurs dans les forêts et certains papillons parasites des grandes cultures, de maïs notamment (**Bounoua, 2008**). De nombreuses publications ont fait écho à des essais réalisés en serre ou en champ qui montrent l'intérêt potentiel des *Pseudomonas fluorescens* non pathogènes en tant qu'agent de lutte biologique contre les pathogènes responsables de maladies des plantes (**Whipps, 2001 ; Weller et al., 2002**).

Pour ce qui des mécanismes généraux de lutte microbiologique contre les maladies cryptogamiques des plantes d'origines tellurique, on distingue deux types principaux : l'antagonisme microbien, et l'induction de résistances chez la plante hôte.

2.3.1.1. Mode d'action

➤ L'antagonisme

La lutte biologique est mieux contrôlée via un antagoniste bactérien, qui va interagir directement avec l'agent pathogène et/ou indirectement c'est-à-dire avec la plante- hôte (**Tomashow, 1996**). La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'actions tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogène. L'étude de ces mécanismes d'actions est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (**Jijakli, 2003**).

➤ Induction de résistance chez la plante hôte

Dans le cas d'une interaction entre un agent pathogène et une plante, une succession d'évènements se met en place. Ceci commence par la reconnaissance des deux partenaires, suivie de la transduction de signaux émis à l'interface et qui vont conditionner la réponse finale, à savoir la mise en place de réactions de défense chez la plante. La résistance induite chez la plante est un mode d'action de certains agents de protection biologique (**Sequeira, 1983**). Cette résistance peut s'établir de différentes façons chez la plante : épaississement des parois végétales, synthèse de substances antimicrobiennes (comme la phytoalexines) ou de composés impliqués dans la signalisation de l'agression vers d'autres cellules (**Fernandes, 2005**).

2.4. Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique

2.4.1. Les avantages

La lutte biologique présente de nombreux avantages des points de vue environnementaux, sociaux et économiques (**Lefort, 2010**).

- Efficace.
- Permet de restreindre ou d'éliminer l'utilisation des pesticides chimiques.
- Moins toxique que les pesticides chimiques.
- Elle est utilisable en serre.
- Permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques.

- Plus grande spécificité d'action.
- Faible coût de développement.
- Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricole.
- Pas de délai de traitement avant la récolte.
- Non contamination des produits (pas de résidus chimiques).
- Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution.

2.4.2. Les inconvénients

- Lutte souvent faite en prévention et moins efficaces lorsque curative.
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'application).
- Effets différé.
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre.
- Efficacité relative aux conditions climatiques.
- Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur.
- Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi- vie et températures plus fraîche).
- Nécessite d'excellentes connaissances de l'écologie des pathogènes cibles et des agents de contrôles biologiques et de relation pathogène cible- agent de contrôle biologique.

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE I
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie commun à l'université de Mouloud MAMMERI durant la période de Février à Juin 2017.

1. Matériel

1.1. Les souches fongiques

Les souches utilisées dans cette étude appartiennent à trois espèces de moisissures, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp et *Botrytis cinerea*.

La souche *Botrytis cinerea* nous a été offerte par notre promoteur Monsieur OUELHADJ. *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp sont des souches pures fournies par le laboratoire de microbiologie de l'université de Mouloud MAMMERI.

1.2. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude nous ont été offertes par notre promoteur Monsieur OUELHADJ.

- *Bacillus* sp.1
- *Bacillus* sp.3
- *Bacillus* sp.8
- *Pseudomonas* sp

Ces souches ont été isolées à partir de sol rhizosphériques dans la wilaya de Tizi-Ouzou et conservée à -4 °C

1.3. Milieux de cultures

Tableau I : Milieux de culture utilisés

Milieu de culture	Abréviation	Utilisation
Brain Heart Infusion Broth	BHIB	La culture des microorganismes exigeants
Gélose Sabouraud	SAB	La culture des levures et des moisissures
Gélose nutritive	GN	La culture des microorganismes
Milieu Mueller-Hinton	MH	Utilisé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques

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

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

1.4. Solutions et réactifs

- Eau distillé
- Violet de Gentiane
- Solution de Lugol
- Alcool
- Fuchsine
- Huile à immersion
- Eau physiologique
- Solution antifongique (Fungizone à 10%).

1.5. Appareillage**Tableau II** : Les appareils utilisés

Appareillage	Source
Autoclave	WEBECO. Allemagne
Bain Marie	MEMMERT. Allemagne
Réfrigérateur	ENIEM. Algérie
Spectrophotomètre	Vis-7220 G. Biotech Engineering. Management CO.LTD (UK)
Etuve (30 °C)	BINDER. Allemagne
Etuve (37 °C)	BINDER. Allemagne
Balance de précision	KERN 770. Allemagne
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	GERHARDT. Allemagne

2. Méthodes**2.1. Repiquage et revivification des souches bactériennes**

Les souches bactérienne utilisées sont sous forme congelées en culture pure à -4°C. En premier lieu elles sont activées par un repiquage de quelques colonies dans 5 ml de milieu de BHIB liquide et incubées à 37°C pendant 24h. Le deuxième repiquage est effectué sur milieu solide (gélose nutritive) la veille de la réalisation des tests antifongiques, l'ensemble a été incubé à 37°C pendant 18h pour avoir des cellules bactériennes à leur phase exponentielle de

croissance. Avant leur utilisation, un examen microscopique est nécessaire pour identifier les bactéries et contrôler leur état de développement.

2.2. Les caractères morphologiques des souches bactériennes

2.2.1. L'aspect macroscopique des colonies

La détermination des caractères macroscopiques, se fait à l'œil nue. Les souches cultivées pendant 18h à 37°C sur GN nous permet de renseigner sur la couleur, la forme, la taille, l'aspect, la consistance, l'opacité et l'odeur.

2.2.2. L'aspect microscopique des souches bactériennes

La coloration de Gram est la première étape de vérification de la pureté des souches bactériennes, avant de commencer la coloration, un frottis doit être préparé comme suit :

- Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique stérile
- Prélever un fragment de colonie à l'aide d'une anse à boucle
- Dissocier soigneusement la colonie dans la goutte d'eau, puis sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme de bec benzène sans trop chauffer (**Leyral et Joffin, 2001**).

Une fois refroidi, on entame la coloration de Gram :

- Recouvrir la lame de violet de Gentiane et laisser agir 1 minute.
- Rincer rapidement à l'eau de robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Recouvrir la lame de Lugol et laisser agir 45 secondes.
- Rincer rapidement à l'eau de robinet et éliminer l'excès d'eau.
- Recouvrir la lame de l'alcool pendant 30 secondes.
- Rincer rapidement à l'eau de robinet.
- Recouvrir la lame de la fuchsine pendant 1 minute.
- Rincer rapidement à l'eau de robinet.
- Sécher puis observer au microscope optique (objectif x 100 à immersion) (**Singleton, 2005**).

2.3. Repiquage des souches fongiques

A l'aide d'une anse de platine stérile, gratter, au bord de la colonie un fragment du mycélium et le déposer au centre de la nouvelle boîte de pétri contenant le milieu Sabouraud. L'incubation des cultures est effectuée à 28°C pendant 4 à 5 jours.

2.4. Les caractères morphologiques des souches fongiques

2.4.1. L'aspect macroscopique

Lors de l'analyse macroscopique des colonies obtenues après culture des champignons filamenteux, plusieurs aspects de l'appareil végétatif sont observés :

- L'aspect : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre.
- Le relief : plat, plissé ou cérébriforme.
- La taille : petite, étendue ou envahissante.
- La couleur : blanche, crème ou colorée (verte, brune, orangée, grise...).

La présence d'un pigment diffusant dans la gélose ainsi que certains paramètres tels que la vitesse de la pousse des colonies et la température de développement peuvent être des bons indicateurs pour l'identification de la moisissure.

2.4.2. L'aspect microscopique

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores.

- **Observation microscopique à l'état frais**

- On prélève un échantillon du mycélium dans la colonie, à l'aide d'une anse de platine stérile puis le déposer dans une goutte d'eau sur une lame en verre.
- On dilacère le fragment mycélien avec l'anse de platine pour le rendre moins dense et mieux observable, sans autant l'abimer complètement.
- On recouvre la préparation par une lamelle et la faire passer ou dessus de la flamme de bec benzène pour éliminer les bulles d'air formées.
- On passe à l'observation microscopique aux grossissements (x10) puis (x40).

2.5. Préparation de l'inoculum

Les tests antifongiques doivent être réalisés à partir des cultures jeunes, de 18 à 24h pour les bactéries et de 4 à 5 jours pour les champignons. A partir de ces cultures fraîches, on prélève quelques colonies que l'on mélange avec de l'eau physiologique stérile.

2.5.1. Standardisation des suspensions fongiques

La standardisation des suspensions fongiques à 10^7 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'une cellule malassez qui permet la détermination de nombre de spores contenus dans un volume précis de l'eau physiologique, les résultats de numérotation sont exprimés en concentration cellulaire c'est-à-dire en nombre de cellules (spores) par millilitre. La numérotation cellulaire est réalisée directement par comptage au microscope optique. On prélève 0,1 μ l de la suspension standardisée et on l'étale à l'aide d'un râteau stérile dans des boîtes de pétris contenant le milieu Sabouraud puis les incubée à 28°C pendant 5 à 6 jours.

2.5.2. Standardisation des suspensions bactériennes

La standardisation des suspensions bactériennes est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm afin d'obtenir une densité optique entre

0,08-0,1, l'équivalent de 10^7 UFC/ml. A l'aide d'une pipette pasteur on prélève 20 μ l de la suspension standardisée et on l'étale dans des boites de pétris contenant le milieu MH puis les incubées à 37°C pendant 18-24h.

2.6. L'étude de l'action antagoniste des bactéries vis-à-vis les champignons tests

L'action antagoniste des bactéries a été évaluée par deux tests. Le premier test réalisé in vitro, est un test de confrontation directe et indirecte entre les bactéries et les champignons tests. Le second test est réalisé in vivo sur les plantes de tomates.

2.6.1. Etude in vitro (Bezert et al., 1996)

2.6.1.1. Confrontation directe entre bactérie et champignon

Les tests de confrontation directe est réalisés dans des boites de pétris contenant le milieu Sabouraud. Un disque de jeune culture mycélienne de 6 mm de diamètre a été déposé au centre de la boite de pétri entouré par trois disques de la culture bactérienne, la distance entre les disques est de 2,5 cm.

Chaque bactérie a été testée sur les trois champignons, ainsi deux répétitions ont été effectuées pour chaque bactérie/champignon. L'incubation est réalisée à 28°C, observée quotidiennement pendant 10 jours.

Les témoins sont des monocultures réalisées pour chaque champignon. On a deux types des témoins.

Le témoin négatif, dans lequel le champignon est ensemencé dans un milieu Sabouraud pur.

Le témoin positif, dans lequel le champignon est ensemencé dans un milieu Sabouraud mélangé avec 5 ml d'antifongique (Fungizone à 10%).

L'action antagoniste des bactéries vis-à-vis les champignons tests a été évalués par le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon l'équation suivante : (**Idris et al., 2007**).

$$PI = [(M_0 - M_i) / M_0] \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

M_0 : Mesure de la croissance mycélienne normale de champignon témoin

M_i : Mesure de la croissance mycélienne influencée par la bactérie

2.6.1.2. Confrontation indirecte entre bactérie et champignon

Le champignon et la bactérie sont ensemencés dans une boite de pétri dans deux compartiments différents.

Le disque de champignon a été déposé au centre de fond d'une boite de pétri contenant le milieu Sabouraud, la suspension bactérienne standardisée a été étalée sur le couvercle de la

boite de pétri contenant une fine couche du milieu MH. L'incubation est faite à 28°C pendant 10 jours et la lecture des résultats se fait comme décrit précédemment.

Les boîtes témoins sontensemencées uniquement par le champignon.

On observe si la présence de la bactérie ralentit la croissance du champignon.

2.6.2. Test in vivo

Après la sélection de la souche bactérienne antagoniste et la mise en évidence de son effet inhibiteur sur le développement de champignon pathogène *Botrytis cinerea* (test in vitro). La détermination de l'efficacité de l'antagoniste contre ce champignon a été étudiée par la réalisation des incisions sur les feuilles de tomate.

Le traitement a été appliqué sur des plantes de tomate d'environ 20 cm de hauteur qu'on a repiqué dans des pots remplis de terreau, les pots ont été séparés en trois lots :

1^{er} lot : deux plantes comme témoins négatifs (sans traitement).

2^{ème} lot : deux plantes ont été incisées à l'aide d'un bistouri stérile et contaminées par *Botrytis cinerea* provenant d'une culture de cinq jours (témoins positifs).

3^{ème} lot : à partir d'une culture bactérienne de 24h de la souche antagoniste, une suspension bactérienne est préparée avec de l'eau physiologique et ajustée à 10^7 CFU/ml. Deux nouvelles plantes de tomate incisées et contaminées par *Botrytis cinerea* sont pulvérisées par la suspension bactérienne standardisée à l'aide d'une seringue.

Le suivi de la croissance des plantes a été effectué chaque semaine pendant 5 semaines



Figure 13 : Photos des témoins négatifs.



Figure 14 : Photos des témoins positifs.



Figure 15 : Plantes contaminées par *Botrytis cinerea* et pulvérisées par la souche bactérienne.

2.7. Analyse statistique

Une analyse statistique des données a été utilisée pour valoriser les résultats obtenus par l'utilisation de logiciel Statistica version 7.1, en utilisant le test de la variance (ANOVA) à un facteur.

S'il existe une différence significative, le test de l'ANOVA est suivi par le test de Newman keuls afin d'établir les différents groupes homogènes.

CHAPITRE II
RESULTATS ET
DISCUSSION

1. Résultats des critères morphologiques des souches bactériennes

1.1. Aspect macroscopique

L'observation macroscopique des souches bactériennes après 24h sur le milieu GN, a permis de révéler les différents aspects morphologiques (tableau III).

Tableau III : Résultats de l'examen macroscopique des souches bactériennes sur milieu GN à 37C° pendant 24h.

Bactérie	Forme	Contour	Relief	Taille	Surface	Couleur	Opacité
<i>Bacillus</i> sp.1	Ronde	Régulier	Convexe	2 mm	Lisse brillante	Crème	Translucide
<i>Bacillus</i> sp.3	Ronde	Régulier	Bombé	1 mm	Lisse brillante	Blanc jaunâtre	Translucide
<i>Bacillus</i> sp.8	Ronde	Irrégulier	Convexe	4 mm	Lisse brillante	Blanc jaunâtre	Translucide
<i>Pseudomonas</i> sp	Irrégulier	Irrégulier	Convexe	4 mm	Lisse sèche	Vert diffuse	Opaque

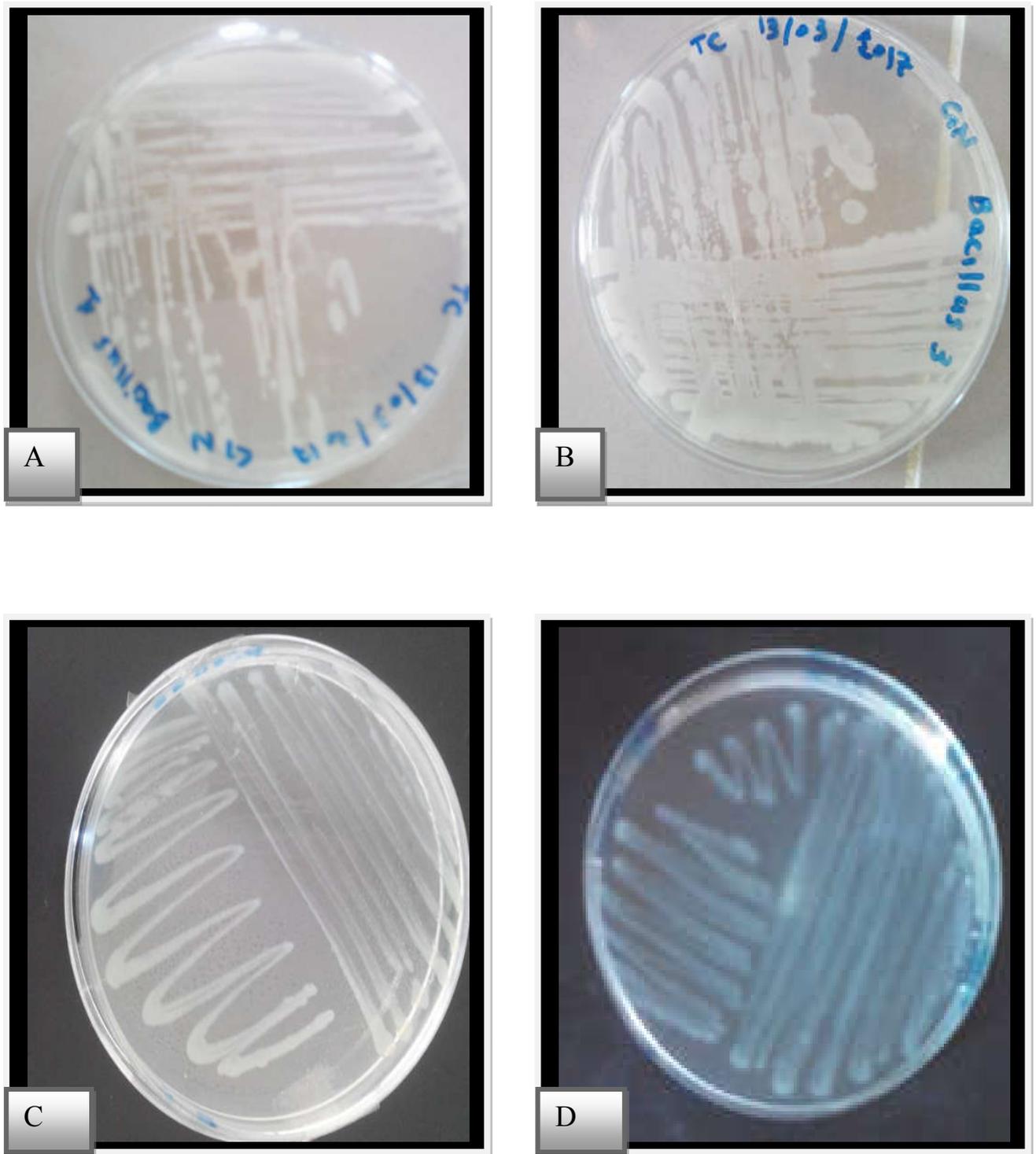
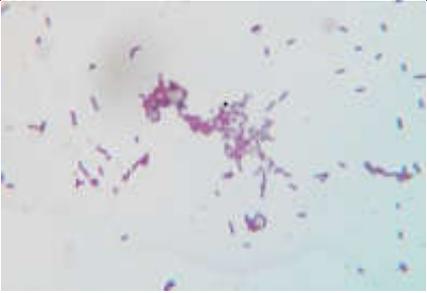


Figure 16 : Aspect macroscopiques des souches bactériennes.

A : *Bacillus* sp.1, **B** : *Bacillus* sp.3, **C** : *Bacillus* sp.8, **D** : *Pseudomonas* sp.

1.2. Aspect microscopique

Tableau IV : Résultats de la coloration de Gram des souches bactériennes.

Souche	Coloration de Gram			
	Forme	Gram	Agencement	Aspect microscopique
<i>Bacillus</i> sp.1	Gros bacilles	Positif	En chaînette En lettre V	
<i>Bacillus</i> sp.3	Gros bacilles	Positif	En chaînette En lettre V	
<i>Bacillus</i> sp.8	Bacilles	Positif	Diplobacilles	
<i>Pseudomonas</i> sp	Colibacilles	Négatif	Isolées Diplobacilles	

2. Résultats des critères morphologiques des souches fongiques

2.1. Aspects macroscopiques

2.1.1. *Aspergillus niger*

Les spores d'*Aspergillus niger* ont une couleur noirâtre et les conidies sont globuleuses et brunes (figure 17).



Figure 17 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus niger*

2.1.2. *Botrytis cinerea*

L'aspect macroscopique de *Botrytis cinerea* est présenté par une colonie de couleur blanche puis grise ayant un développement très rapide sur toute la boîte de pétri (figure 18).



Figure 18 : Aspect macroscopique de *Botrytis cinerea*.

2.1.3. *Penicillium* sp

Les colonies de cette souche présentent une surface poudreuse blanche et un revers incolore à jaunâtre (figure 19).



Figure 19 : Aspect macroscopique de *Penicillium* sp.

2.2. Aspects microscopiques

2.2.1. *Aspergillus niger*

Aspergillus niger est formé des hyphes septés, haploïdes et ramifiés. Il est caractérisé par un conidiophore possédant une extrémité renflée qui porte des phialides. Ces dernier sont plus ou moins allongées, présentent plusieurs sites de bourgeonnement (figure 20).

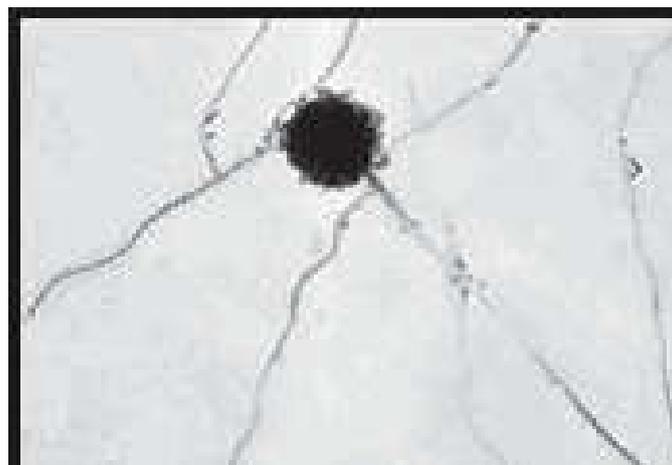


Figure 20 : Aspect microscopique d'*Aspergillus niger*.

2.2.2. *Botrytis cinerea*

Botrytis cinerea est formé de filaments mycéliens portant des conidiophores à ramifications arborescentes chargés des conidies (figure 21).

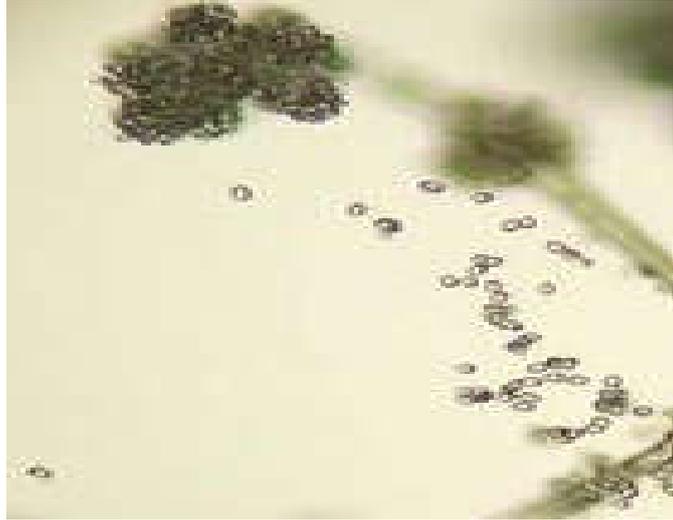


Figure 21 : Aspect microscopique de *Botrytis cinerea*.

2.2.3. *Penicillium* sp

Penicillium sp présente des conidiophores ramifiés ressemblants à celle d'un pinceau. Les phialides sont ampulliformes et les conidies sont sphériques (figure 22).

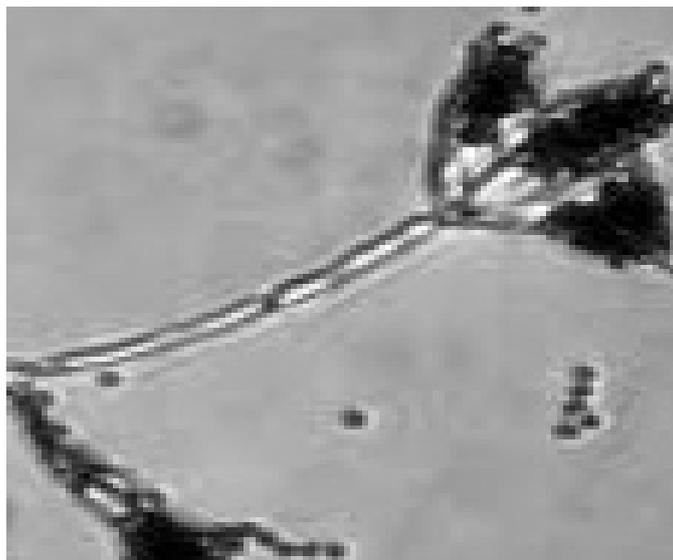


Figure 22 : Aspect microscopique de *Penicillium* sp.

3. Résultats de l'antagonisme in vitro

3.1. Résultats de l'antagonisme par confrontation directe en boîte de pétri

Après 10 jours de confrontation en culture mixte (directe), l'activité antifongique in vitro, met en évidence une action inhibitrice des champignons phytopathogènes testés.

Les résultats de ce test ont montrés que la croissance mycélienne enregistrée chez les témoins négatifs est nettement supérieure à celle des interactions bactérie / champignon et à celle des témoins positifs.

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne varient selon les souches bactériennes, les résultats sont illustrés par le Tableau (V) et les figures (23, 24, 25 et 26).

Tableau V : Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne en confrontation directe avec les bactéries antagonistes (moyenne \pm écart-type) (n=2).

Souches	Taux d'inhibition %		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Penicillium</i> sp
<i>Bacillus</i> sp.1	11,15 \pm 0,024	57,6 \pm 0,033	44,11 \pm 0,041
<i>Bacillus</i> sp.3	11,76 \pm 0,083	49,4 \pm 0,016	42,35 \pm 0,066
<i>Bacillus</i> sp.8	1,76 \pm 0,024	50 \pm 0,024	2,9 \pm 0,041
<i>Pseudomonas</i> sp	64,1 \pm 0,008	64,7 \pm 00	67,64 \pm 0,124

Les plus importants pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne des trois champignons phytopathogènes ont été obtenus avec la souche *pseudomonas* sp et atteignent les valeurs de 67,6% pour *penicillium* sp et 64% pour *Aspergillus niger* et *Botrytis cinerea* (Tableau V).

Les souches *Bacillus* sp.1 et *Bacillus* sp.3 présentent un pouvoir d'inhibition important vis-à-vis deux champignons phytopathogènes, *Botrytis cinerea* et *Penicillium* sp, avec un taux d'inhibition variant entre 42% et 57%, et un pouvoir d'inhibition faible d'environ 11% vis-à-vis *Aspergillus niger*.

Cependant la souche *Bacillus* sp.8 inhibe seulement la croissance d'un seul champignon, *Botrytis cinerea*, avec un taux d'inhibition de 50%.

Les plus faibles pourcentages d'inhibition ont été obtenus avec la souche *Bacillus* sp.8, qui présente un pouvoir d'inhibition presque nul (1,76% à 2,9%) vis-à-vis *Aspergillus niger* et *Penicillium* sp.

Certaines souches présentent une efficacité plus spécifique, par exemple la souche *Bacillus* sp.8 provoque une inhibition plus importante de 50% sur la croissance de *Botrytis cinerea* et une inhibition très faible sur les deux autres champignons testés.

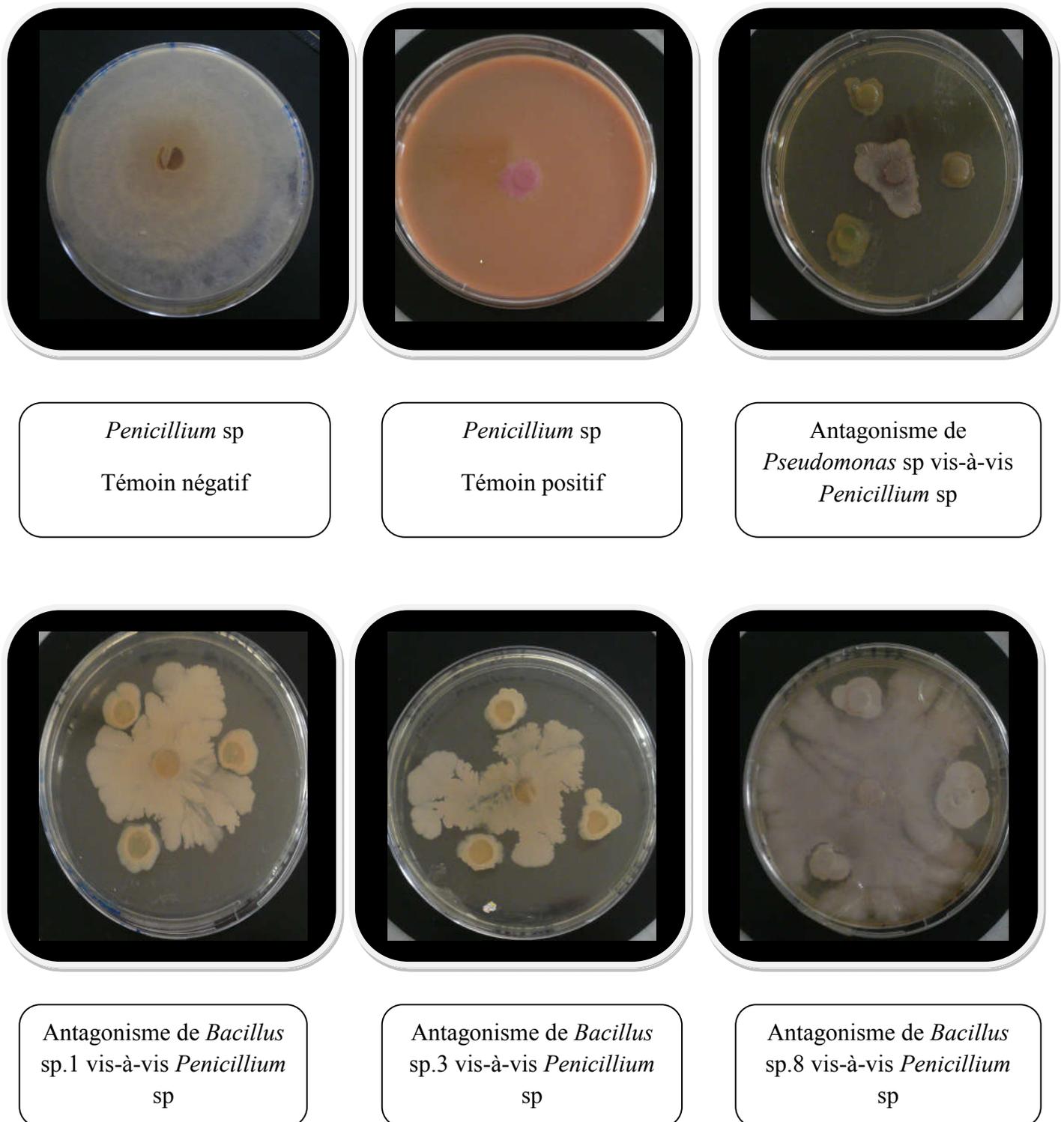


Figure 23 : Résultats d'antagonisme direct des bactéries testées contre *Penicillium* sp.

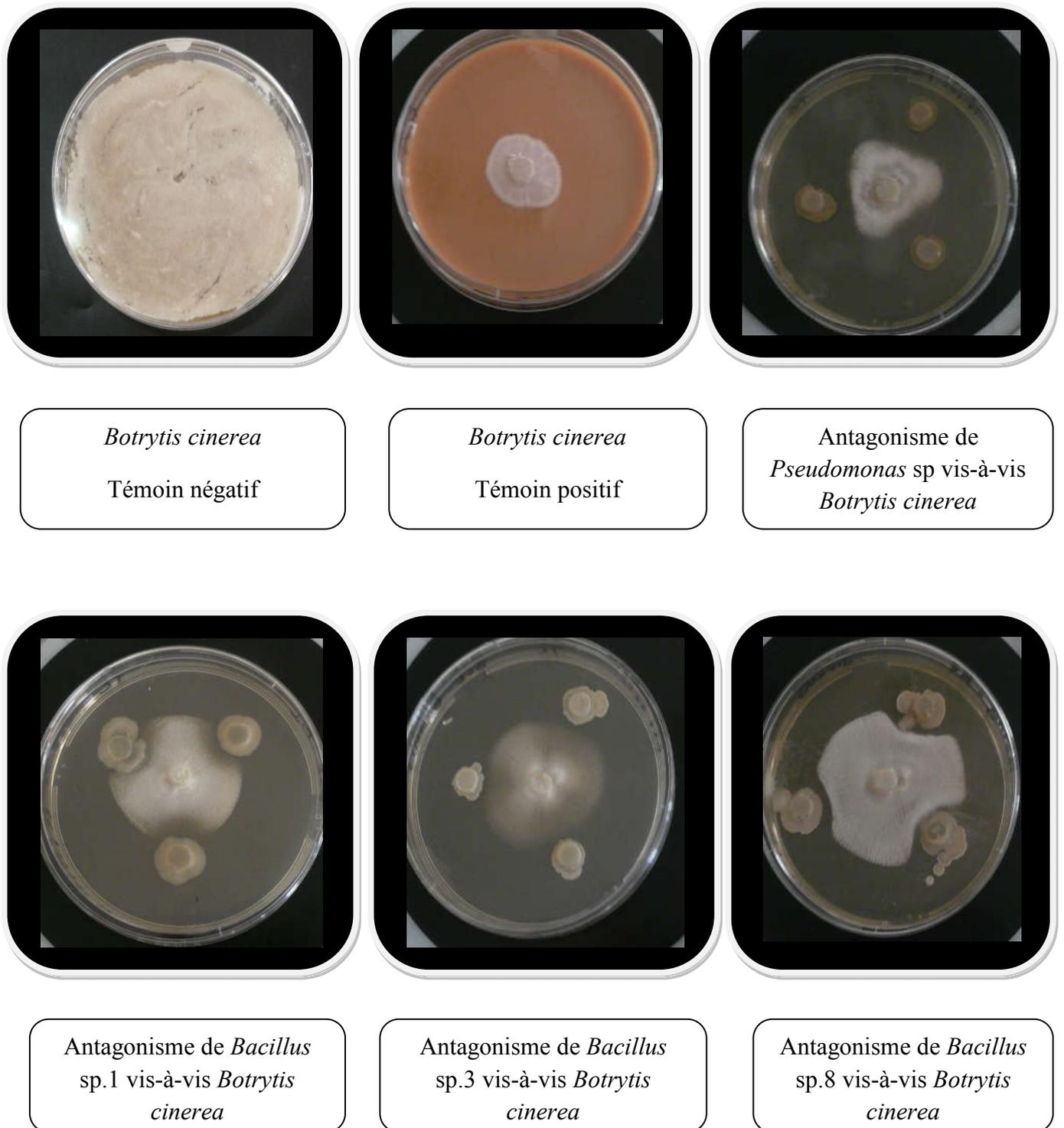


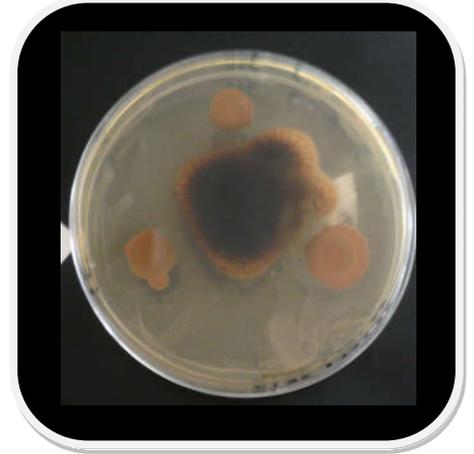
Figure 24 : Résultats d'antagonisme direct des bactéries testées contre *Botrytis cinerea*.



Aspergillus niger
Témoin négatif



Aspergillus niger
Témoin positif



Antagonisme de *Pseudomonas* sp vis-à-vis *Aspergillus niger*



Antagonisme de *Bacillus* sp.1 vis-à-vis *Aspergillus niger*



Antagonisme de *Bacillus* sp.3 vis-à-vis *Aspergillus niger*



Antagonisme de *Bacillus* sp.8 vis-à-vis *Aspergillus niger*

Figure 25 : Resultats d'antagonisme directe des bactéries testées contre *Aspergillus niger*.

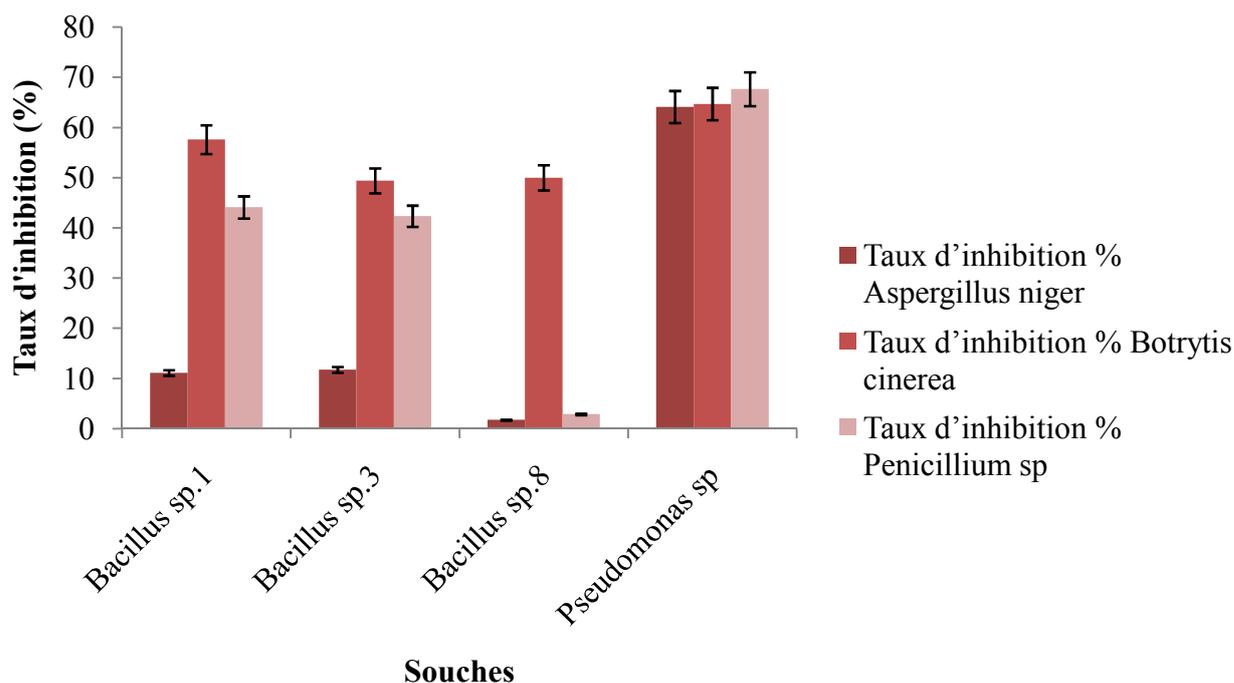


Figure 26 : Diagramme représentant les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation directe avec les bactéries antagonistes.

Le test d'antagonisme in vitro a permis d'estimer le potentiel inhibiteur des bactéries vis-à-vis des trois souches fongiques phytopathogènes utilisés. Cette évaluation a révélé des intensités inhibitrices variables selon la souche antagoniste (figure 26).

Les résultats obtenus montrent que pour la souche antagoniste la plus performante, *Pseudomonas* sp, la zone d'inhibition est tellement grande qu'il n'y a pas eu de contact physique avec le pathogène (figure 23, 24 et 25), concluant que la bactérie produit des métabolites antifongiques (Montealegre et al., 2003).

Les analyses de la variance révèlent que l'effet antagoniste des souches bactériennes présente des différences significatives ($P = 0,01$) (Annexe 2A). Le test complémentaire de Newman-Keuls a classé les bactéries selon l'effet antagoniste le plus élevé.

La différence entre les pourcentages d'inhibition des souches fongiques testées suggère que le mode d'action et/ou le type des métabolites produit par les bactéries peut varier, mais aussi que ces bactéries sont taxonomiquement différentes (Williams et Asher, 1996).

Dans le présent travail, les résultats montrent que la souche *Pseudomonas* sp présente un pouvoir antagoniste très important (64%-67,6%) contre les trois souches fongiques utilisées,

ces résultats sont proches à ceux de **Etebarian et al. (2005)** qui ont montrés que la souche *Pseudomonas fluorescens* isole 1100-6 réduit la zone des colonies des isolats de *Penicillium* sp avec un pourcentage d'inhibition de 78,5%.

Farhan et al. (2010) ont montrés que les souches, *Pseudomonas putida* 2 et *Pseudomonas fluorescens* 3 présentent un pouvoir d'inhibition de 94,6% vis-à-vis plusieurs espèces de *Fusarium*. Ces souches sont plus efficaces que notre souche *Pseudomonas* sp.

Contrairement à nos résultats, **Amir (1991)** a constaté que 4 souches de *Pseudomonas fluorescens* ont montrées une aptitude faible ou nulle envers le champignon *Fusarium oxysporum*.

L'action antagoniste de la souche *Pseudomonas* sp ne semble pas spécifique de l'agent pathogène, agissant sur presque tous les agents cryptogamiques testés. La variabilité dans l'expression de l'activité antagoniste de cette souche suggère une diversité dans le mécanisme impliqué dans le biocontrôle. Nos résultats soulignent la possibilité d'un effet à large spectre affectant des champignons appartenant à toutes les classes fongiques.

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce *Pseudomonas fluorescens*, sont connues depuis longtemps par leur aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogène (**Allair, 2005**).

Les mécanismes responsables des effets bénéfiques de certaines souches de *Pseudomonas* sp *fluorescens* reposent sur l'activité antagoniste qu'elles exercent à l'encontre des microorganismes pathogènes inducteurs de maladies et de réductions de croissance chez les plantes. Parmi les modes d'action antagoniste de ces souches, la compétition et l'antibiose (**Lemanceau, 1992**).

Ren et al. (2005) ont suggéré que la majorité des *Pseudomonas fluorescens* produisent des sidérophores peptidiques complexes, qui sont des capteurs de fer très efficaces. Ces bactéries peuvent protéger et améliorer la croissance des plantes grâce à la production de ces molécules qui fixent efficacement le fer de l'environnement et le rende indisponible pour d'autres agents colonisateurs du sol.

Rabhi (2011) est constaté que la forte activité antifongique exercée par les souches de *Pseudomonas fluorescens* à l'encontre de *Fusarium oxysporum* pourrait associée à l'implication des sidérophores. La même constatation est signalée par **Albuvette et al. (1998)**

qui ont montré que la suppression de la croissance radiale de *Fusarium oxysporum* est induite par une compétition du fer par les *Pseudomonas* sp.

La plupart des *Pseudomonas* sp. *fluorescens* dont l'efficacité a été prouvée dans le biocontrôle des maladies des plantes, produisent un ou plusieurs antibiotiques autres que les sidérophores. Parmi les composés antibiotiques sécrétés par ces souches, cinq ont prouvés leur efficacité dans le biocontrôle des maladies racinaires : les phénazines, phloroglucinols, pyrolutérine, pyrrolnitrine et les lipopeptides cycliques (**Hass et Défago, 2005**).

Les souches *Bacillus* (sp.1, sp.3 et sp.8) présentent une action antagoniste puissante contre *Botrytis cinerea* avec un pourcentage d'inhibition allant de 49% à 57%, ces résultats sont proches à ceux de **Jemni et al. (2009)** qu'ont montré que les deux souches de genre *Bacillus* SB1 et SB2 présentent un effet inhibiteur de 50% sur la croissance de *Botrytis cinerea*. Sur la même idée **Tour et al. (2004)** ont trouvé que le taux d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* par la souche *Bacillus amyloliquefaciens* était 70%.

Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de *Penicillium* sp obtenus avec les souches *Bacillus* sp.1 et sp.3 sont respectivement 44% et 42%, ces résultats sont proches à ceux de **Jemni et al. (2009)** qu'ont obtenus avec la souche *Bacillus* (SB2) un pourcentage d'inhibition de la croissance de *Penicillium italicum* estimé à 50%.

Les souches testées appartenant au genre *Bacillus* présentent un effet inhibiteur très faible de 1,76%-11,6% vis-à-vis *Aspergillus niger*, contrairement à nos résultats **Jemni et al. (2009)** ont montré que les souches du genre *Bacillus* (SB1 et SB2) antagoniste d'*Aspergillus niger* avec un pourcentage d'inhibition de 70%. A partir de ces résultats, on peut constater que l'action antagoniste des bactéries du genre *Bacillus* testées dépend du l'agent pathogène.

Les *Bacillus* sp. ont été considérée comme des agents potentiels de lutte biologique grâce à leur forte production des spores, qui sont souvent résistantes à la dessiccation, à la chaleur, aux UV, aux solvants organiques et à l'irradiation (**Ling et al., 2007**).

Alippi et Monaco (1994) ont démontré que plusieurs souches de *Bacillus* pouvant produire des molécules antifongiques telles que subtiline, bacitracine, bacilline et bacillomycine qui appartiennent à la famille des iturines.

Mari et al. (1996) ont signalé que les bactéries à Gram positif appartenant au genre *Bacillus* étaient plus efficaces contre *Botrytis cinerea*. Cependant, dans le cas de notre étude

les souches de *Bacillus* (sp.1, sp.3 et sp.8) ne sont pas montrées meilleures que la souche *Pseudomonas* sp.

Les *pseudomonas fluorescens* et certaines espèces de *Bacillus* jouent un rôle actif dans la suppression des microorganismes phytopathogènes. Ces antagonistes bactériens renforcent la suppression des agents pathogènes des plantes par la sécrétion des métabolites extracellulaires, qui exercent un pouvoir inhibiteur à des faibles concentrations (Siddiqui, 2005).

3.2. Résultats de l'antagonisme par confrontation indirecte

Le compartimentage évite le contact entre la gélose supportant la bactérie et la gélose sur la quelle se trouve le champignon. On empêche ainsi la diffusion des substances dans le milieu de culture. Seule une substance volatile produite par la bactérie pourra dans cet essai provoquer une inhibition de la croissance du champignon. Les résultats obtenus dans cette expérience sont présentés dans le tableau (VI) et les figures (27, 28, 29 et 30).

Tableau VI : Les taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne en confrontation indirecte avec les souches antagonistes (moyenne \pm écart-type) (n=2).

Souches	Taux d'inhibition (%)		
	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Penicillium</i> sp
<i>Bacillus</i> sp.1	31,17 \pm 0,108	100 \pm 00	100 \pm 00
<i>Bacillus</i> sp.3	40,59 \pm 0,091	100 \pm 00	100 \pm 00
<i>Bacillus</i> sp.8	100 \pm 00	100 \pm 00	00 \pm 00
<i>Pseudomonas</i> sp	25,29 \pm 0,024	52,94 \pm 00	37,05 \pm 0,074

D'après les résultats obtenus, on constate que malgré l'absence d'un contact direct entre les champignons testés et les souches bactériennes, certaines de ces dernières ont pu exercer une activité inhibitrice sur le développement des colonies des champignons. Ceci

s'expliquerait par la capacité de ces antagonistes à produire des substances volatiles qui sont capables de limiter et même de stopper la croissance des champignons.

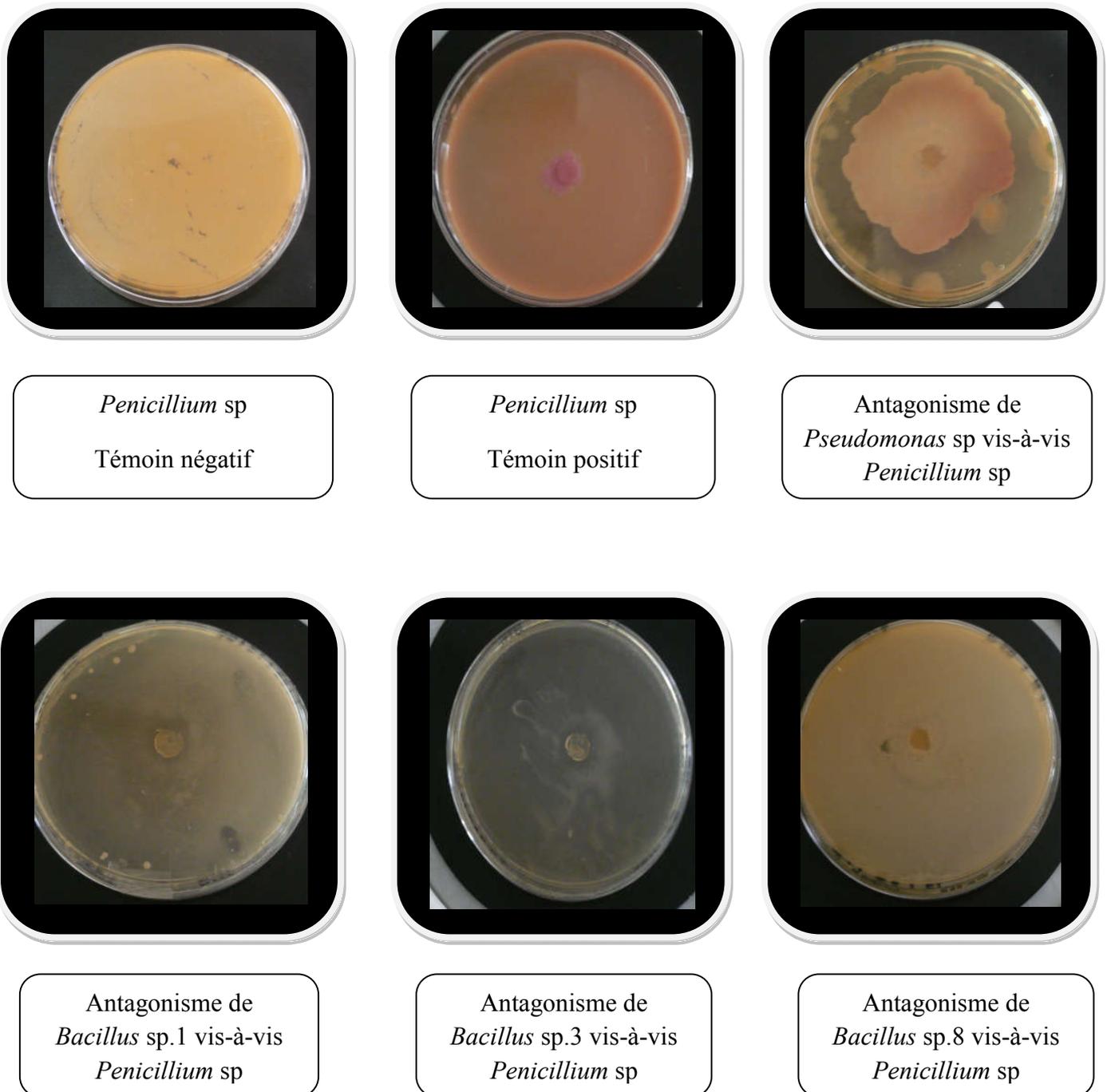


Figure 27 : Résultats d'antagonisme indirect des bactéries testées contre *Penicillium sp.*

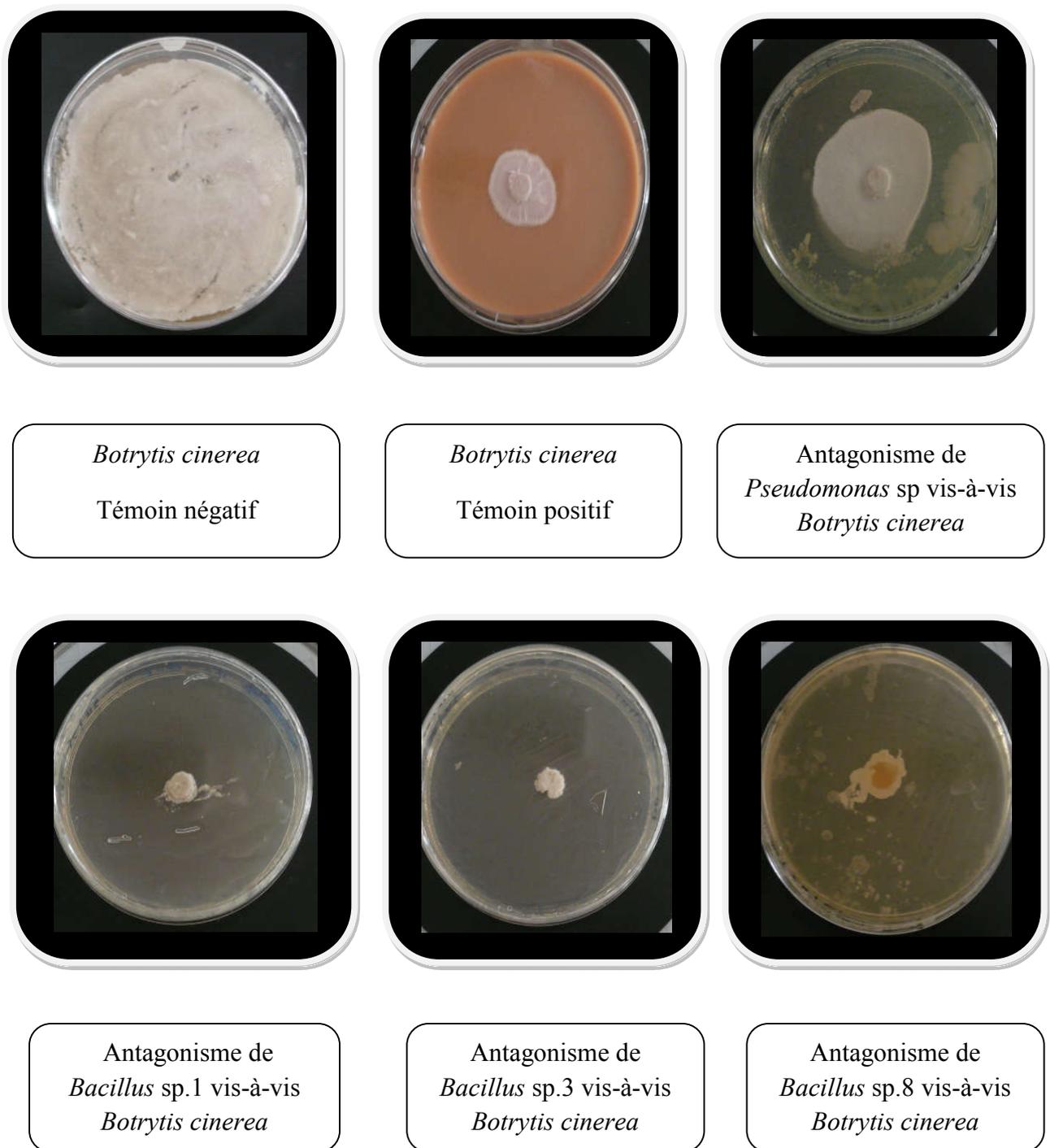
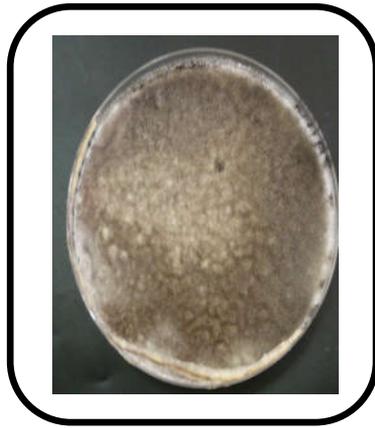


Figure 28 : Résultats d'antagonisme indirect des bactéries testées contre *Botrytis cinerea*.



Aspergillus niger
Témoin négatif



Aspergillus niger
Témoin positif



Antagonisme de
Pseudomonas sp vis-à-vis
Aspergillus niger



Antagonisme de
Bacillus sp.1 vis-à-vis
Aspergillus niger



Antagonisme de
Bacillus sp.3 vis-à-vis
Aspergillus niger



Antagonisme de
Bacillus sp.8 vis-à-vis
Aspergillus niger

Figure 29 : Résultats d'antagonisme indirect des bactéries testées contre *Aspergillus niger*.

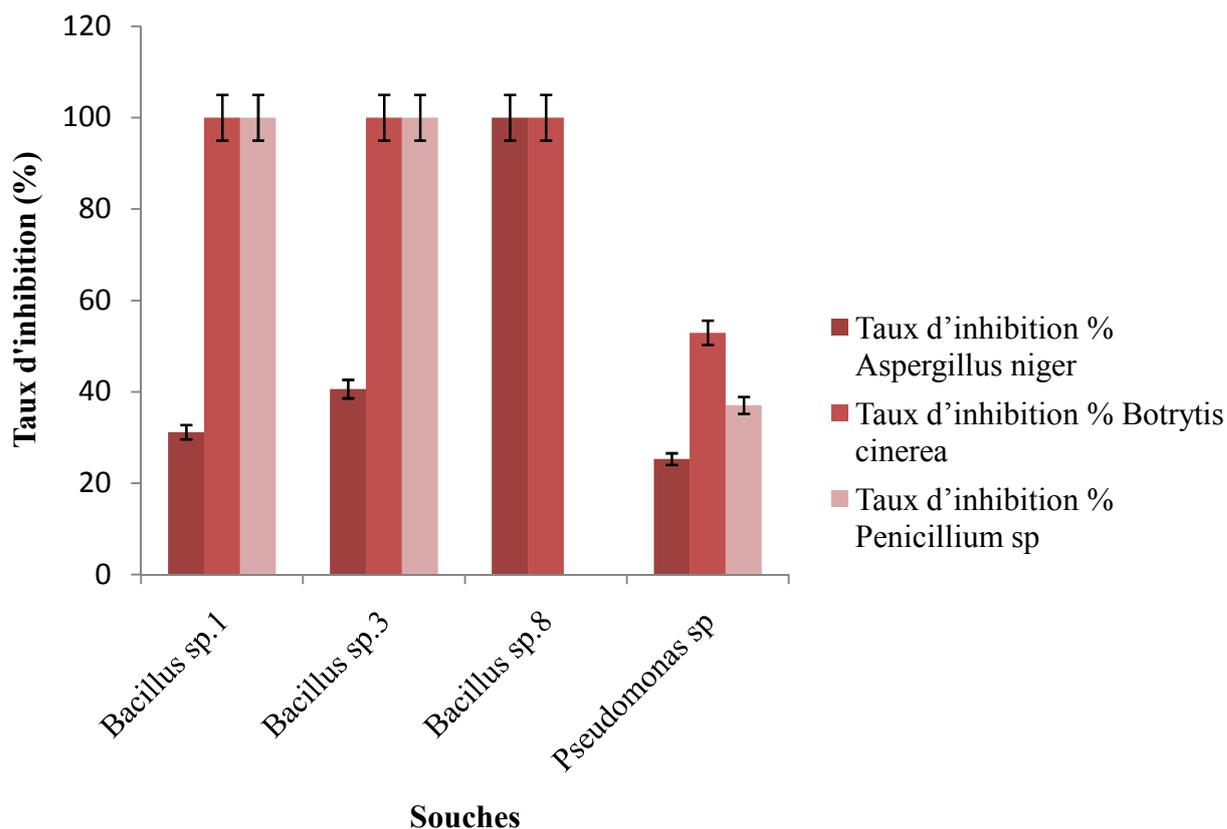


Figure 30 : Diagramme représentant les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne en confrontation indirecte avec les souches antagonistes.

Le test statistique ANOVA a montré que l'effet antagoniste des substances volatiles produites par les souches bactériennes envers les champignons utilisés présente une différence significative ($P = 0,001$) (Annexe 2B). Le test complémentaire de Newman keuls a classé les bactéries selon l'effet antagoniste le plus élevé.

Les tests indirects ont révélé que toutes les souches testées présentent un effet antagoniste contre les trois champignons phytopathogènes utilisés à l'exception de *Bacillus* sp.8 qui ne présente aucune activité antifongique contre *Penicillium* sp.

Moore-Landecker et Stotzky (1972) ont montré que certaines bactéries produisent des substances antibiotiques volatiles qui inhibent fortement la croissance et la sporulation de plusieurs champignons phytopathogènes.

Les *Bacillus* utilisées dans notre étude se sont révélés capable d'inhiber complètement (100%) la croissance de certaines souches fongique, ceci dans le cas de *Bacillus* sp.1 et *Bacillus* sp.3 contre *Penicillium* sp et *Botrytis cinerea*, et *Bacillus* sp.8 contre *Aspergillus*

niger et *Botrytis cinerea*. Ces résultats rejoignent ceux de **Zheng et al. (2013)**, signalant que les composés volatiles antifongiques, 2-nonanone, β -benzeneethanamine et 2-decanone produits par les souches *Bacillus pumilus* et *Bacillus thuringiensis* inhibent complètement la croissance de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Chaves-Lopez et al. (2015) ont signalé que les souches *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* et *Bacillus cereus* sont les meilleurs producteurs des substances volatiles antifongiques.

Contrairement aux résultats de confrontation directe, les souches du genre *Bacillus* exercent un effet inhibiteur plus important sur la croissance des trois souches fongiques. Dans le même ordre d'idées **Hmouni et al. (1999)** avait rapporté que certaines bactéries sont plus actives via la libération des substances volatiles que diffusible et vis versa.

Les pourcentages d'inhibition de la souche *Pseudomonas* sp varient entre 25 à 52%, ceci montre que l'action des composés volatiles sur la croissance des champignons utilisés est moins importante que lors de la confrontation directe. Des résultats analogues ont été obtenus par **Tripathi et Johri (2002)** qui ont constaté que les composés volatiles antifongiques produits par des *Pseudomonas fluorescens* ayant un pouvoir antifongique moins important que leurs produits diffusibles.

4. Résultats d'antagonisme in vivo

Le suivi de la croissance des plantes, a montré la capacité de *Pseudomonas* sp à stimuler la croissance et protéger la plante des pourritures occasionnée par *Botrytis cinerea*.

Les résultats de test in vivo sont représentés dans le tableau (VII) et les figures (31, 32, 33, 34 et 35).

4.1. Stimulation de la croissance des plantes

Tableau VII : Résultats de l'estimation de la hauteur des plantes de tomate.

Plantes	La hauteur des plantes de tomate (cm) en fonction du temps (moyenne de 2 essais \pm l'écart-type)			
	T = 0	T= une semaine	T= 2 semaines	T= 3 semaines
Témoins négatifs	19,5 \pm 00	23 \pm 0,57	26 \pm 0,42	33 \pm 2,12
Plantes traitées par <i>Pseudomonas</i> sp et <i>Botrytis cinerea</i>	20,1 \pm 00	28 \pm 0,99	31 \pm 0,14	37 \pm 1,41
Témoins positifs	20 \pm 00	22 \pm 0,28	24 \pm 0,14	28 \pm 1,55

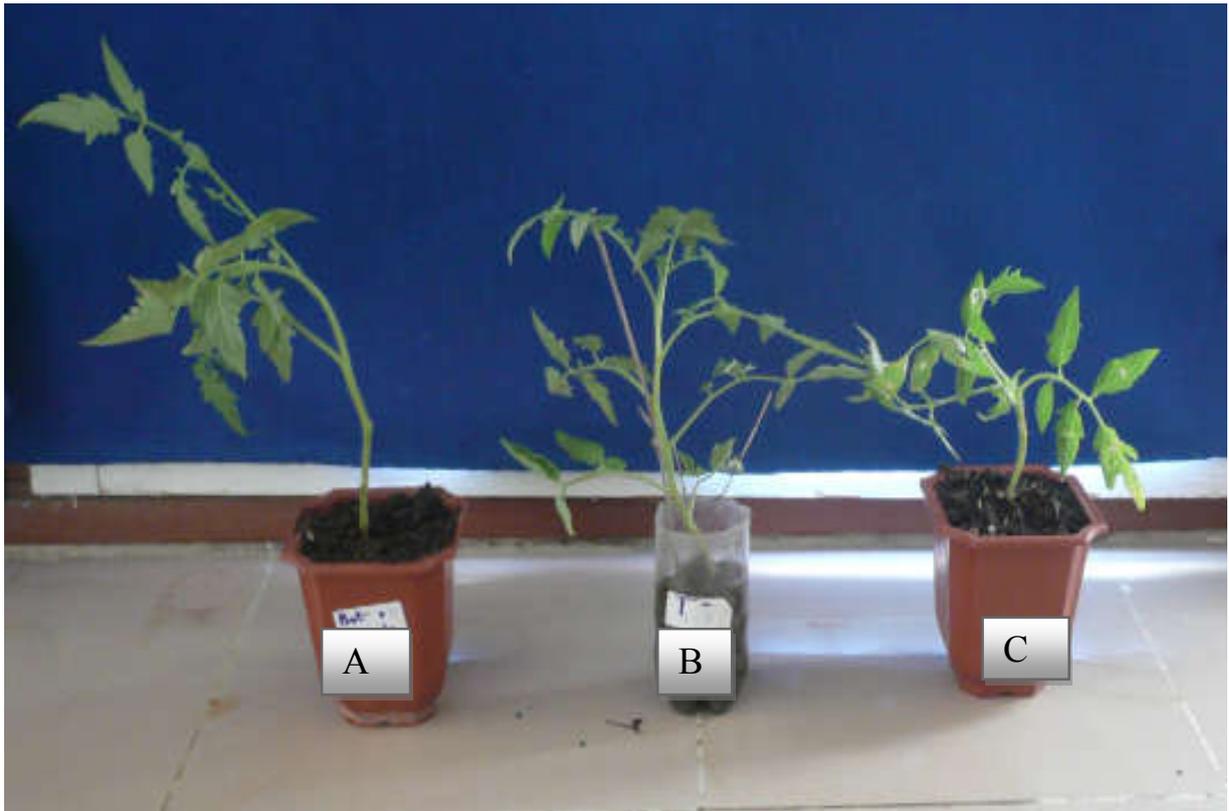


Figure 31 : Effet de la batérisation sur la croissance des plantes de tomate après 3 semaines.

A : Plante de tomate traitée avec *Pseudomonas* sp et *Botrytis cinerea*.

B : plante non traité (témoin négatif).

C : plante traitée par *Botrytis cinerea*.

Après 3 semaines de pulvérisation des plantes de tomate par la suspension bactérienne, les plantes atteignent environ 37 cm dans les lots traités par la souche *Pseudomonas* sp et *Botrytis cinerea* versus 33 cm dans les lots des témoins négatifs (plante non traité) et 28 cm dans les lots des témoins positifs (traité seulement par *Botrytis cinerea*) (tableau VII et figure 31).

L'induction de la stimulation de la croissance des plantes traitée par la suspension bactérienne à été plus marquante, en comparaison avec le témoin non traité. Alors que dans le cas des plantes traitées seulement par la souche fongique, on observe un ralentissement de la croissance.

4.2. Pouvoir pathogène de *Botrytis cinerea*

Le champignon *Botrytis cinerea* ralentit la croissance et engendre de nombreux dommages aux plantes après 3 semaines de l'inoculation. En poursuivant l'expérience pendant 5 semaines, les plantes inoculées par la souche fongique présentent un état de maladie bien développée. Alors que les plantes traitées par l'antagoniste et le pathogène ne montrent aucun signe et ces plantes sont plus grandes que le témoin non bactéries (figure 32).

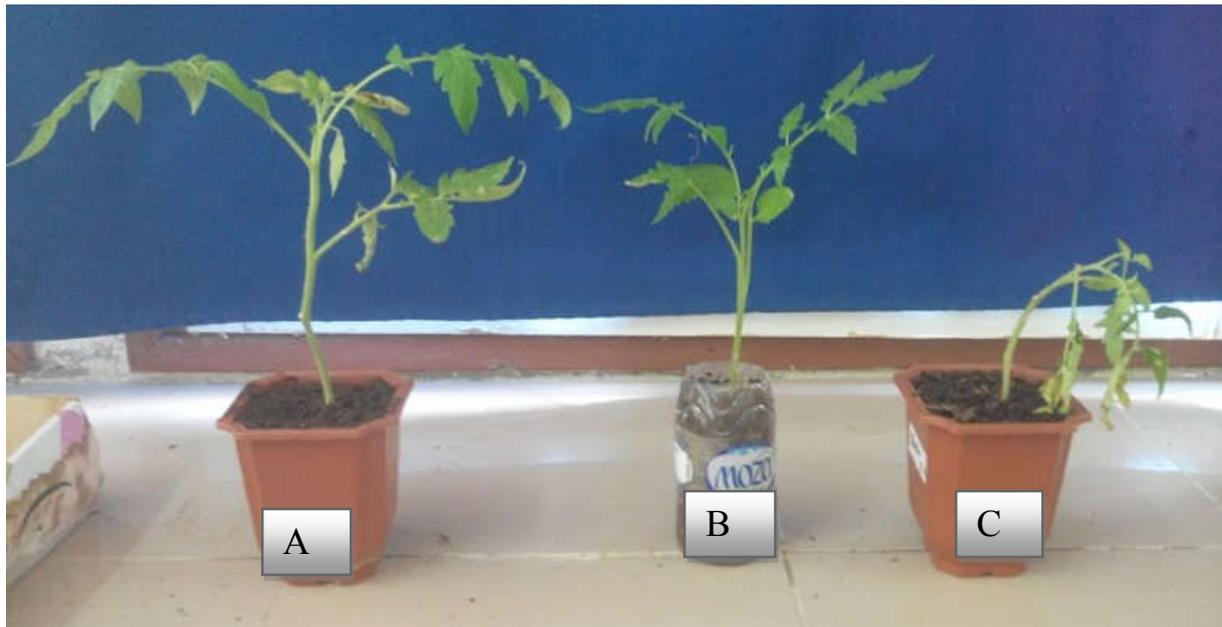


Figure 32 : Effet de la batérisation sur la croissance des plantes de tomate après 5 semaines.

A : Plante traitée avec *Pseudomonas* sp et *Botrytis cinerea*.

B : Plante non traitée (témoin négatif).

C : Plante traitée par *Botrytis cinerea*.

4.3. Antagonisme in vivo : inhibition de *Botrytis cinerea*

L'application de foliaire de la souche *pseudomonas* sp sur les plantes infestées par *Botrytis cinerea* a montré la stabilité des symptômes de la maladie (figure 33).

L'effet in vitro été confirmé par le test in vivo, En effet l'application foliaire de la souche *Pseudomonas* sp sur les plantes de tomate en présence du pathogène *Botrytis cinerea* a aboutit à la réduction des symptômes de la maladie.

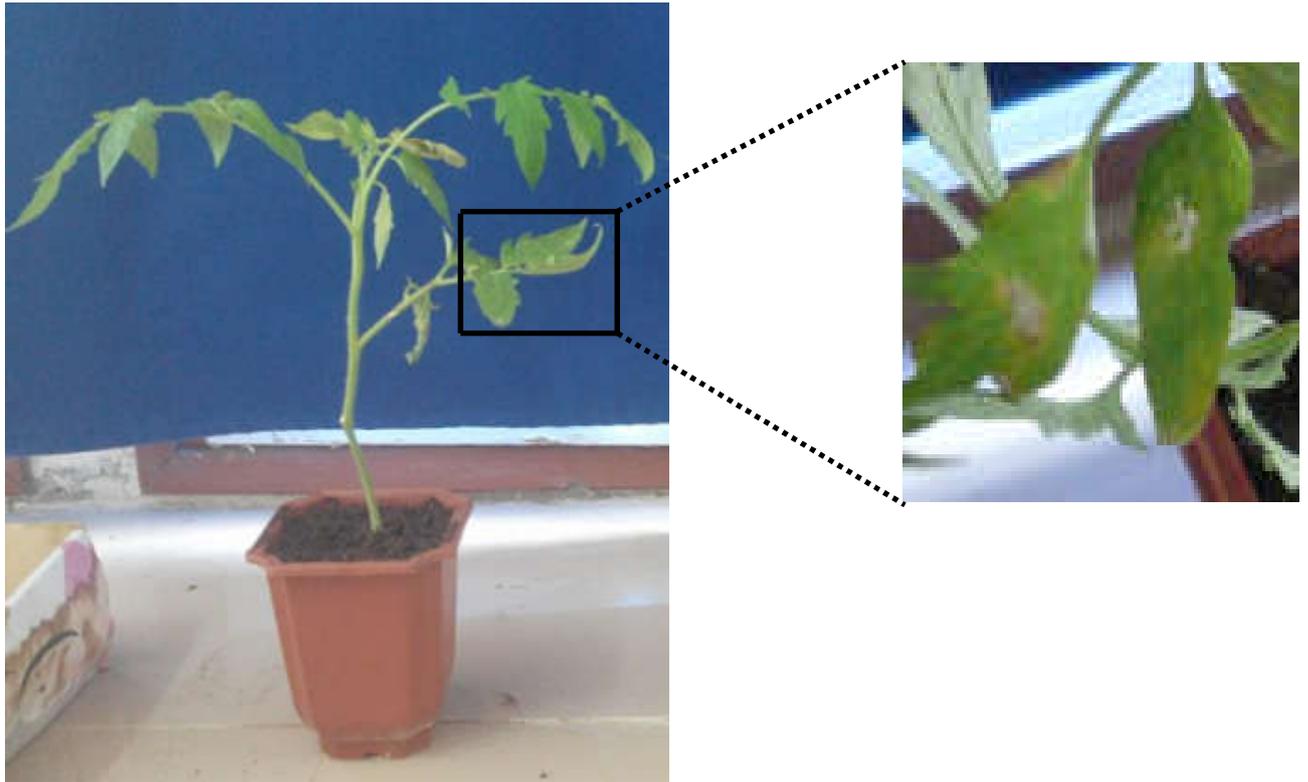


Figure 33 : Plante de tomate traitée par l'antagoniste et le pathogène.

Les plantes non traitées n'ont montrées aucun signe de maladie (figure 34).

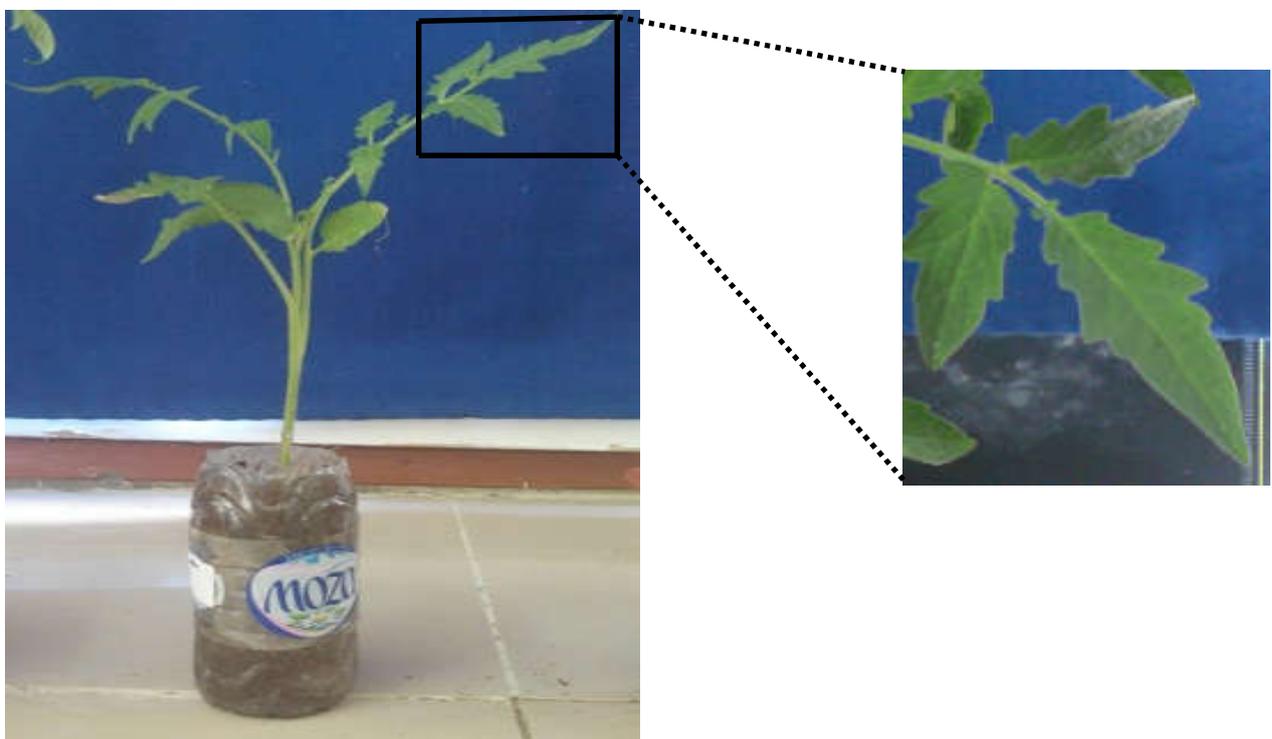


Figure 34 : Plante de tomate non traitée (témoin négatif).

Par contre le résultat de l'application foliaire de *Botrytis cinerea* a révélé l'apparition des symptômes sur les feuilles de la plante (figure 35).

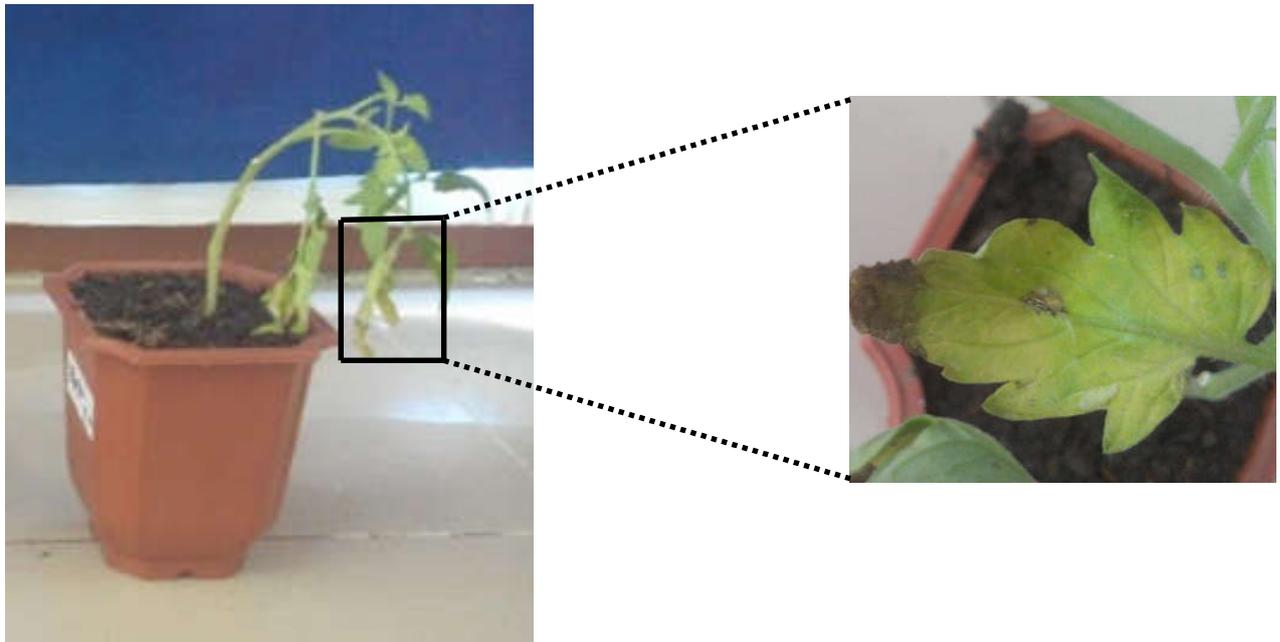


Figure 35 : Plante de tomate traitée par le pathogène *Botrytis cinerea*.

La souche bactérienne testée dans notre étude a un effet positif sur la promotion de la croissance et la protection de plante de tomate. En effet la souche *Pseudomonas* sp appliquée sur la plante infestée par l'agent pathogène, assure un meilleur effet sur la croissance de la plante et la diminution de la gravité de la maladie causée par *Botrytis cinerea*.

Des résultats analogues ont été obtenus par **Mezaache (2012)** qui a démontré que les *Pseudomonas* sp (les isolats 2 et 5) appliqués aux tubercules de pomme de terre, diminuaient considérablement l'incidence de la maladie due à *Fusarium oxysporum* et stimulaient l'augmentation de la croissance des plantes par rapport au témoin non traité. De même **Boukerma (2012)** a signalé que l'application des *Pseudomonas* sp. *fluorescens* assure une bioprotection significative des plantes de tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire.

De nombreux travaux montrent que certaines souches de rhizobactéries appartenant au genre *Pseudomonas* ont un effet positif sur la croissance des plantes et sur leur protection vis-à-vis des agents pathogènes du sol (**Digat, 1988**). Deux types de mécanismes responsables de ces effets bénéfiques. L'un concerne la modification des équilibres microbiens au niveau de la rhizosphère, l'autre la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante (**Lemanceau, 1992**).

La plus part des *Pseudomonas* produisent des antifongiques tels que des phénazines, la pyolutéorine, la pyrrolnitrine et le DPAG (2,4-diacetylphloroglucinol) qui sont les antifongiques les plus fréquemment détectés (**Hass et Défago, 2005**). Ces bactéries sont également capables de stimuler la croissance des plantes par la synthèse des phytohormones ou bien par l'augmentation de la disponibilité des nutriments dans le sol (**Couillerot, 2009**).

Le test in vivo montre que la pulvérisation de la suspension de *Pseudomonas* sp sur la plante de tomate a engendré des gains notables, en phytostimulation et en bioprotection par l'augmentation de la taille des plantes et la réduction de l'effet pathogène de *Botrytis cinerea*.

CONCLUSION

Certaines bactéries bénéfiques de la rhizosphère contribuent à la réduction des maladies des plantes, en stimulant les défenses naturelles chez l'hôte et/ou en assurant le biocontrôle direct des bioagresseurs.

L'étude *in vitro* de l'activité antifongique des souches bactériennes vis-à-vis les trois champignons phytopathogènes a révélé que toutes les bactéries possèdent une activité antifongique ou moins sur un seul champignon. En effet, les essais de confrontation entre ces mycètes et les souches bactériennes, que ce soit d'une façon directe sur milieu de culture ou bien à distance, ont révélés une inhibition de la croissance mycélienne des champignons testés.

Les activités antagonistes enregistrées dans les tests de confrontation directe entre les bactéries et les souches fongiques peuvent être attribuées au processus de synthèse des substances diffusibles inhibitrices de la croissance mycélienne (sidérophores, antibiotiques ou enzymes hydrolytiques).

Dans le cas de confrontation indirecte, malgré l'absence d'un contact direct entre les pathogènes et les souches antagonistes, une réduction des diamètres des colonies des mycètes est observée par rapport aux témoins négatifs. Cela prouve que les souches bactériennes utilisées sécrètent des substances volatiles qui sont capables de stopper à distance le développement des souches fongiques.

Les tests *in vivo* montrent que l'application de la souche *Pseudomonas* sp sur les plantes de tomate retarde l'apparition et l'évolution des symptômes et réduit intensément la cinétique d'évolution de la maladie causée par *Botrytis cinerea*, comme elle présente aussi biostimulation remarquable en phytomasse aérienne.

L'application de *Pseudomonas* sp comme agent de biocontrôle et stimulateur de la croissance chez les plantes de tomate a engendré des gains notables en phytostimulation et en bioprotection par rapport aux témoins sains et malades.

Au terme de ce travail, divers aspects semblent importants à réaliser :

- Identifier les souches : *Bacillus* sp.1, *Bacillus* sp.3, *Bacillus* sp.8 et *Pseudomonas* sp par la caractérisation phénotypique et phylogénétique.

- Déterminer les mécanismes d'action directe ou indirecte des souches bactériennes, impliqués dans leur potentiel antagoniste à l'égard des trois champignons testés ainsi que d'autres bioagresseurs des cultures.
- Identifier les métabolites actifs pouvant servir à l'élaboration des biopesticides.
- Tester les souches en plein champ pour déterminer les modalités de leur utilisation à grande échelle sous l'effet des pratiques culturales.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Adam A. (2008). Élicitations de la croissance systémique induite chez la tomate et le concombre et l'activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non – pathogènes. Thèse de Doctorat. Sciences. Université de Liège. Belgique.
- Agrios G.N. (2005). Plant Pathology. 5th Edition. Elsevier Academic Press. USA, UK.
- Aissaoui A. (2013). Evaluation du nouveau de contamination des eaux de barrage hammam Grouz de la région d'Oued Athmania (willaya de Mila) par les activités agricoles. Thèse de Magister. Ecologie végétale appliquées et gestion de l'environnement. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.
- Ajouz S. (2009). Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis Cinerea* à des biofongicides. Thèse de Doctorat. Sciences. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. France.
- Albuvette C., Schippers B., Lemanceau P et Bakker P. A. H. M. (1998). Biological control of *Fusarium wilts*. 15-36. In Boland G.J et Kuykendall L. D. Plant-microbe interactions and biological control. *Marcel Dekkar, INC*. New York, USA.
- Alderman S.C., Coats D.D et Crowe F.J. (1996). Impact of Ergot on Kentucky Bluegrass Grown for Seed in Northeastern Oregon. *Plant Disease*. 80: 853-855.
- Alippi A et Monaco C. (1994). Antagonisme in vitro des espèces de *Bacillus* contre *Sclerotium rolfsii* et *Fusarium solani*. *Revue de la faculté d'Agronomie*. 70: 91-95.
- Allaire M. (2005). Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifère en pépinière et en milieu naturel. Mémoire de Maitrise ès Sciences. Microbiologie Agricole. Université Laval. Québec.
- Amir (1991). Rôle des facteurs biotiques et abiotiques dans le detirminisme de la réceptivité de quelques sols de palmeraies algériennes aux fusarioses vasculaires. Thèse de Doctorat. USTHB. Algérie.
- Anani B et Bentaleb S. (2016). Production des protéases extracellulaire des moisissures du sol : effets de pH et de température. Mémoire du master. sciences de la nature et de la vie. Université des frères Mentouri. Constantine.
- Aydi N. (2013). Maladies de la tomate d'origine fongique. *MONASTIR*.
- Beauchamp C.J. (1993). Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*. 74 (1): 19-27.

Références bibliographiques

- Bell-Perkins I.J et Lynch J.M (2002). Rhizosphere microbiology. 2713-2728. In Bitton (ed). Encyclopedia of environmental microbiology. *A Wiley–Interscience publication*. Canada.
- Bendaoud Tabet Aoul S. (2014). Isolement de souche fongique de l'oursin comestible *Paracentrotur lividus* (Lamarck, 1816), d'Ain Franine et Cap Carbon du Littoral oriental oranais. Thèse de Magister. Science de l'environnement Marin. Université Oran.
- Beneduzi A., Ambrosini A et Passaglia L.M.P. (2012). Plant Growth- promoting Rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*. 35: 1044-1051.
- Benmati M. (2004). PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): Aspect moléculaires et génétiques. Thèse de Doctorat. Biotechnologie et génomique végétale. Université de Constantine1.
- Bezert G., Chappe P., Mourey A et Loubinoux B. (1996). Action de *Bacillus* et d'Actinomycètes sur les champignons de bleuissement du bois. Bulletin des Académie et Société Lorraines des Sciences. 35 (3): 177-190.
- Blancard D., Lot H et Maisonneuve B. (2003). Maladies des salades : identifier, connaitre, maitriser. Institut national de la recherche agronomique 147, rue de l'université 75338 Paris cedex 07. France.
- Boivin G. (2001). Parasitoïdes et lutte biologique : Paradigme ou panacée. Centre de Recherche et de développement en horticulture, agriculture et agroalimentaire. Canada.
- Boldt T.S et Jacobsen C.S. (2006). Defferent toxic effect of the sulfonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on *fluorescent Pseudomonas* isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiology Letters*. 161 (1) :29-35.
- Botton B ; Breton A ; Fevre M ; Guy P.H ; Larpeni J et Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielles. 2^{ème} Edition Massan. Paris.
- Boukerma L. (2012). Effet des PGPR (*Pseudomonas* spp. *fluorescents*) sur le biocontrôle et l'induction de la résistance systémique (IRS) chez la tomate vis-à-vis de la fusariose vasculaire. Thèse de Magister. Biotechnologie végétale. Université de Blida.

Références bibliographiques

- Bounoua M.D. (2008). Essais d'utilisation des *Pseudomonas* sp et *Bacillus* sp. Dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* sur tomate et *verticillium dahliae* sur l'olivier. Thèse de Magister. Biotechnologie. Université d'Oran. Algérie.
- Bronstein J.L. (2004). Game structures in mutualisms: What can the evidence tell us about the kinds of models we need?. *Advances in the Study of Behavior*. 34: 59-104.
- Capkin E., Altinok I et Karahan S. (2006). Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere*. 64: 1793-1800.
- Castegnaro M et Pfohl- Leszkowicz A. (2002). Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur. Lavoisier.
- Champion R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Edition Erreur Permies INRA. France.
- Chaves- Lopez C., Serio A., Gianotti A., Sacchetti G., Ndagijimana M., Ciccarone C., Stellarini A., Corsetti A et Paparella A. (2015). Diversity of food-borne *Bacillus* volatile compounds and influence on fungal growth. *Jornal of Applied Microbiology*. 199: 487- 499.
- Cherif H. (2014). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *Bacillus* sp et *Pantoea agglomerans* isolées de sols arides. Thèse de Doctorat. Microbiologie. Université Ferhat Abbas Sétif1.
- Choudhary D.K et Johri B.N. (2008). Interactions of *Bacillus* spp and plants- with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*. 164 :493-513.
- Choudhary D.K., Prakash A., Wray V et Johri B.N. (2009). Insights of the *fluorescent Pseudomonas* in plant growth regulation. *Current Science*. 97 (2): 170-179.
- Clement J.M. (1981). Dictionnaire : Larousse agricole. Edition : ISBN. Canada.
- Clement J.M. (2002). Dictionnaire : Larousse agricole. Edition : ISBN. Canada.
- Collado I.G., Sanchez A.J et Hanson J.R. (2007). Fungal terpene metabolites: biosynthetic relationships and the control of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Natural Product Reports*. 24: 674-86.
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C et Ait Barka E. (2005). Use of plant Growth Promoting bacterial for biocontrol of plant disease: Principals, mechanisms of action and future prospect. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 4951-4959.

Références bibliographiques

- Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Press polytechniques et universitaires.
- Couillerot O. (2009). Compatibilité des bactéries phytobénéfiques *Azospirillum* et *Pseudomonas* dans la rhizosphère. Thèse de Doctorat. Sciences Agricole. Université Claude Bernard- Lyon1. France.
- Cuppen J.G.M., Den Brink P.J., Uil K.F., Camps E et Brock T.C.M. (2000). Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosms. I Water quality, breakdown of particulate organic matter and responses of macro-invertebrates. *Aquatic Toxicology*. 48: 233-250.
- Dallaire R. G., Mukle F., Rouget P., Kadhel H., Bataille L., Guldner S., Seurin V., Chajes C., Monfort O., Boucher J. P., Thome S., Jacobsen W., Multigner L et Cordier S. (2012). Cognitive, visual, and motor development of month- old Guadeloupe an infant exposed to chlordécone. *Environnemental Research*. 118: 79:85.
- Davet p. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. 52-57.
- De Weert S; Vermeiren H., Mulders I.H., Kuiper I., Hendricks N., Bloemberg GV., Vanderleyden J., De Mot R et Lugtenberg B.J.J. (2002). Flagella driven chemotaxis to words exudats components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Microbe Interaction*. 15: 1173-1180.
- Deacon J.W. (2006). Fungal Biology. 4^{ème} edition. Institut of cell and Molecular Biology. Université of Edinburgh.
- Digat B. (1988). Stratégies de la batérisation par les rhizobactéries. *Full publication history*. 27-30.
- Doucet R. (2008). Les plantes agricoles et leurs maladies. Edition, Aline Côté. Centre collégial de développement de matériel didactique. Quebec.
- Etebarian H.R., Sholberg P.L., Eastwell K.C et Sayler R.J. (2005). Biological control of apple blue mold with *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Jornal of Microbiology*. 51: 591-598.
- Farhan H.N., Abdullah B.H. et Hameed A.T. (2010). The biological activity of bacterial vaccine of *Pseudomonas putida* 2 and *Pseudomonas fluorescens* 3 isolates to protect sesame crop (*Sesamum indicum*) from *Fusarium fungi* under field conditions. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1(5): 803-811.

Références bibliographiques

- Faugier A. (2010). Diversité bactérienne des sols : accès aux populations à effectifs minoritaires « the rare biosphere ». Thèse de Doctorat. Sciences du vivant. Ecole Centrale de Lyon. France.
- Fernandes B. (2005). Lutte biologique. *PHM Revue Horticole*. 465: 31-34.
- Garbaye J (2013). La symbiose mycorhizienne : une synthèse grand public sur un mécanisme universel. INRA. Paris. 280p.
- Gavériaux J.P. (2010). Le champignon responsable de la cloque du pêcher *Taphrina deformans* (Berkeley) Tulasne. *Bulletin trimestriel de la Société Mycologique du Nord de la France*. 87: 02-11.
- Gerhardson B. (2002). Biological substitutes for pesticides. *Trends in Biotechnology*. 20. (8): 338-343.
- Glick B.R. (1995). L'amélioration de la croissance des plantes par les bactéries vivantes. *Canadian Journal of Microbiology*. 41: 109-117.
- Grison P. (1991). Chronique historique de la zoologie agricole française. INRA. Paris.
- Gugnani H.C. (2003). Ecology and taxonomy of pathogenic *Aspergillus*. Institut Saint James school of Medicine. Department Microbiology and Epidemiology.
- Gust A.A., Brunner F et Nurnberger T. (2010). Biotechnological concepts for improving plant innate immunity. *Current Opinion in Biotechnology*. 21: 204-210.
- Hallman J., Quadt-Hallman A., Mahaffee W.F et Kleopfer J.W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*. 43: 895-914.
- Hass D et Defago G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by *Pseudomonas fluorescens*. *Nature Review Microbiology*. 3: 307-319.
- Hass D et Keel C. (2003). Regulation of antibiotic production in root-colonizing. *Annual Review of Phytopathology*. 41: 117-53.
- Hmouni A., Massaoui M et Douira A. M. (1999). Etude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium* spp. à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *El awamia*. 99: 76-92.
- Höfte M et Altier N. (2010). *Fluorescent pseudomonas* as biocontrol agents for sustainable agricultural systems. *Research in Microbiology*. 161: 464-471.
- Iarc L. (1993). Some naturally occurring substances, food items and constituent, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins, in monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. *World Health Organization*, Lyon. France.

Références bibliographiques

- Idris H.A., Labuschagne N et Korsten N. (2007). Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and Crown root of sorghum in Ethiopia. *Biological Control*. 40 (1): 97-106.
- Jacques G et Hérisse J.M. (1999). Fertilité des sols : Les produits biologiques : bien les connaît pour mieux les utiliser. *Biophyta Sa*. Paris.
- Janzen D.H. (1985). The natural history of mutualisms. *The biology of mutualism*. 40-99. New York.
- Jarvis W.R. (1977). *Botryotina* and *Botrytis* species: taxonomy, physiology, and pathology. A guide to the literature. *Research Branch*. Department of Agriculture. Canada
- Jemni M., Maaroufi A et Mejri S. (2009). Caractérisation et optimisation des conditions de croissance d'un biopesticide bactérien. *Revue des Régions Arides*. Jerba, Tunisie. 1367- 1370.
- Jijakli M.H. (2003). La lutte biologique en phytopathologie. In : *Phytopathologie*. Le poivre P (eds). Bruxelles, Belgique : De Boeck. 289-317.
- Kaioua A et Grairi I. (2015). Solubilisation du phosphate, production de sidérophores et activité antifongique de souche d'actinomycètes et du genre *Pseudomonas* isolées des sols rhizosphériques. Mémoire de Master. Microbiologie générale et Biologie Moléculaire des microorganismes. Université des frères Mentouri Constantine. Algérie.
- Kirdi B. (2011). Rôle des PGPR « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogames parasites. Magister. Sciences Agronomiques. Ecole National Supérieur Agronomique. El Harrach-Alger.
- Kleopfer J.W., Lifchitz R et Zablutowicz R.M. (1989). Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*. 7: 39-44.
- Knudsen G.R. (2013). *Phytopathologie : Etude de la santé des plantes*. 1^{ère} Edition, Université d'Idaho. Moscow. USA.
- Koneman E.W. (2001). *Diagnostico microbiologico : Texto y atlas de color*. Quinta edicion. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Kouassi M. (2001). La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides ?. *Vertigo*. 2 (2): 4000-4101.
- Lambert L. (2015). Moisissure grise. Agronome MAPAQ Ste-Martine.

Références bibliographiques

- Lambert L. (2010). Lutte biologique aux ravageurs : Application au Québec. Centre universitaire de formation en environnement. Université de Sherbrooke. Québec. Canada.
- Lecellier A. (2013). Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. thèse de Doctorat. Biologie-Biophysique. Université de Reims Champagne-Ardenne. France.
- Lechevalier P. (1947). Maladies des plantes cultivées et de leurs ennemis. Editeurs : 12, Rue de Tournon, 12. Paris.
- Lefort F. (2010). Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Haute Ecole de Paysage d'ingénierie et d'architecture. Genève.
- Lemanceau P. (1992). Effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes: Exemple des *Pseudomonas spp fluorescents*. *Agronomie EDP Sciences*. 12 (6): 413-437.
- Lepoivre P. (2003). Les bactéries phytopathogènes. La Phytopathology. Edition De Boeck. Bruxelles.
- Leroux P. (2004). Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. 195-222. *In Botrytis: biology, pathology and control*. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P et Delen N. Edition, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- Leyral G et Joffin J.N. (2001). Microbiologie technique. Tome 2. Document technique 2^{ème} édition. CRDP De Bordeaux.
- Lhoste J. (1960). Les fongicides. Office de la recherche scientifique et technique. *OUTRE-MER*.
- Ling Lin F., Rong X., Wei Fen L., Jiang Bing S., Ping L. et Chun Xia H. (2007). Protein secretion pathways in *Bacillus subtilis* : Implication for optimization of heterologous protein secretion. *Biotechnology Advances*. 25 (1): 1-12.
- Mäder P., Fliebbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P et Niggli U. (2002). Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*. 296: 1694-1697.
- Mari M., Guizzardi M et Pratella G.C. (1996). Biological control of gray mold in pears by antagonistic bacteria. *Biology Control*. 7: 30-37.
- Martinez-V O., Jorquera M.A., Crowley D.E., Gajardo G et Mora M.L. (2010). Mechanisms and piratical consideration involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Jornal of Soil Science and Plant Nutrition*. 10 (3): 293-319.

Références bibliographiques

- Mathias C., Fournier E., Kunz C., Levis C., Paradier J.M., Simon A et Viaud M. (2007). *Botrytis cinerea* virulence factors: new insights into a microtrophic and polyphagous pathogen. *FEMS Microbiology Letters*. 277, 1-10.
- Mazoyer M. (2002). Dictionnaire Larousse agricole. Edition ISBN. Canada.
- Mezaache S. (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. thèse de Doctorat. Microbiologie. Université Ferhat ABBAS. Sétif.
- Milou C. (2009). La biodiversité microbienne des sols cartographiée. *Culture Vie du Sol*. 84: 32-33.
- Montealegre J.R., Reses R., Perez L.M., Herrera R., Silva P et Besoain X. (2003). Selection of bioantagonistic bacteria to be use in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Electronic Journal of Biotechnology*. 6(2): 115-127.
- Moore E.R.B., Tindal B.J., Martins Dos Santo V.A.P., Piepe D.H., Ramos J.L et Palleroni N.J. (2006). Nonmedical :*Pseudomonas*. 646-703. In. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H et Stackebrandt E. Edition, Prokaryotes, Springer. USA.
- Moore-Landecker E et Stotzky G. (1972). Inhibition of fungal growth and sporulation by volatile metabolites from bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 18: 957- 962.
- Moreau C. (1982). Les mycotoxines neurotropes de l'*Aspergillus Fumigatus*, une hypothèse sur le « pain maudit » de Pont- Sain – Esprit. *Bulletin de la Société Mycologique de la France*. 98: 261-273.
- Morel R. (1989). Les sols cultivés. 2^{ème} Edition Tech et Doc. La voisier. Paris.
- Nakkeeran S et Fernando G.T.D. (2005). La croissance des plantes rhizobactéries formulation et champ d'application en matière de commercialisation de la gestion des ravageurs et des maladies. In : Siddiqui Z.A (ed) PGPR : biocontrôle et biofertilisation. Springer Dordrecht. 257-296.
- Narla R. (2015). Signes, symptômes affectés des malades des plantes.
- Nasraoui B. (2008). Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie. Main Fungal diseases of cereals in Tunisia. Centre de publication universitaire. Tunisie.
- Nguyen Minh Tri M. (2007). Identification des espèces de moisissures, potentiellement productrices de mycotoxines dans le riz commercialisée dans cinq provinces de la région centrale du Vietnam- Etude des conditions pouvant réduire la

Références bibliographiques

production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Génie des procédés et de l'environnement. Université de Toulouse. France.

- Pitt J.I et Hocking A.D. (1997). Fungi and food spoilage. 2^{ème} Edition. London : Blackie Academic and Professional.
- Pitt J I. (2002). Toxigenic fungi and mycotoxins. *British Medical Bulletin*. 56(1): 184-192.
- Podile AR et Kishore G.K. (2006). Rhizobactéries favorisent la croissance des plantes. *In* Gnanamanickam S. (ed). Bactéries associées aux plantes. Springer ; Pays – Bas. 195-230.
- Potočnik J. (2010). L'usine de la vie. Pourquoi la biodiversité des sols est-elle si importante ?. Office des publications de l'Union européenne. Luxembourg. 20 p.
- Prabhu A.V. (1992). Compilation des maladies fongiques des plantes en Algérie. Institut de Biologie. Université de Tizi-Ouzou.
- Prapagdee B., Kuekulvong C et Mongkolsulk S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolite produce by *Streptomyces hygroscopicus* against Phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Science*. 4: 330-337.
- Raaijmakers J.M; Vlami M et Souza J.T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 81 (1-4): 537-547.
- Rabhi N. H. (2011). Isolement de *Pseudomonas* spp. *fluorescents* d'un sol salé. Effet d'osmoprotecteurs naturels. Thèse de Magistère. Génie microbiologique. Université Ferhat Abbas. Sétif.
- Rachel C. (1962). Printemps silencieux (Boston : Houghton Mifflin, 1962). Paris, Plon.
- Raistrick H et Clark A.B. (1919). *On the mechanism of oxalic acid formation by Aspergillus Niger*. *Biochemical Journal*. 13: 329.
- Ramos A.J., Labernia N., Marin S., Sanchris V et Magan N. (1998). Effect of water activity and temperature and growth and ochratoxin production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology*. 44: 133-140.
- Relyea R. A. (2009). A cocktail of contaminants: How mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. *Oecologia*. (2): 363-376.
- Ren D., Zuo R et Wood T.K. (2005). Quorum-sensing antagonist (5Z)-4-bromo-5-(bromométhyle) -3-butyl-2(5H)-furanone influences siderophores biosynthesis in

Références bibliographiques

Pseudomonas putida and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 66 (6): 689-95.

- Rocher F. (2004). Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : Evaluation du systémier phloémienne de nouvelles moléculaires à l'effet fongicide et d'activateurs de réactions de défense. Thèse de Doctorat. Sciences fondamentales et appliqués. Université de Poitiers.
- Rouviere M. (2002). Ochratoxine A : Nature, origine et toxicité. Thèse de Doctorat. Sciences vétérinaires. Université Paul Sabatier. Toulouse.
- Sarah D., Ellis S.D et Bœhn MJ. (2008). Plants get sick too an introduction to plant disease. Ohio State University Extension. 401-405.
- Schroth M.N., Hildebrand D.C et Panopoulos N. (1992). Phtopatogenic *Pseudomonas* and related plant associated *Pseudomonas*. In: The Prokaryotes (MP Balows, Ed), Springer- Verlag. New York. 3104-3131.
- Seitz I., Sauer D.B., Mohr H.E. et Aldis D.F. (1982). Fungal growth and dry matter loss during bin storage of high-moisture com. *Cereal Chemistry*. 59: 9-14.
- Sequeira L. (1983). Mechanisms of Induced resistance in plants. *Annual Review of Microbiology*. 37: 51-79.
- Sharma A., Singh S., Pawar K.K., Jerman M., Singh L.B., Singh S et Srivastawar D. (2013). Le contrôle biologique et son importance dans l'agriculture. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*. 3: 175-180.
- Siddiqui I.A., Hass D et Heep S. (2005). Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the Root-Knot Nematode *Meloidogyne incognita*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71 (9): 5646-5649.
- Singh A., Mehta S., Singh H.B et Nautiyal C.S. (2003). Biocontrol of collar rot disease of betelvine (piper betle L) caused by *Sclerotium rolfsii* by using rhizosphere competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI –N6 and *P. Fluorescens* NBRI-N. *Current Microbiology*. 47: 153-158.
- Singleton P. (2005). Bactériologie : Pour la médecine, la biologie et la bactériologie. 6^{ème} édition. Dunod-Paris. 480-490.
- Siou D. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de Doctorat. Biologie. Université Paris-Sud 11. Paris.

Références bibliographiques

- Stanier R.Y., Palleroni N.J et Doudoroff M. (1966). The aerobic *Pseudomonas*: a taxonomic study. *Jornal of General Microbiology*. 43: 159-271.
- Starnes R.L., Liu C.L et Marone P.G. (1993). History, use and future of microbial insecticides. *American Entomology*. 39: 83-91.
- Stengel P et Gascuel C. (2015). Le sol, une ressource pour la vie. INRA Sciences et Impact, plaquette.
- Stukenbrock E.H et McDonald B. A. (2008). The origins of plant pathogens in agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology*. 46: 75-100.
- Suty L, (2010). La lutte biologique : vers de nouveaux équilibres écologiques. Edition: Quae, Technology and Engineering. 323p.
- Sylvain D. (1996). Dégradation de la caféine par *Aspergillus* sp et *Penicillium* sp. Etude physiologique et biochimique. Thèse de Doctorat. Biochimie et Biologie Moléculaire. Université Montpellier II.
- Tabuc C. (2007). Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Pathologie, Mycologie, Génétique et Nutrition. Institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest.
- Tomashow L.S. (1996). Biological control of plant pathogen. *Current Opinion in Biotechnology*.77: 343.347.
- Torriani S.F., Brunner P.C., McDonald B.A et Sierotzki H. (2009). Qol resistance emerged independently at least 4 times in European populations of *Mycophaearella graminicola*. *Pest Management Science*. 65(2): 155-162.
- Toure Y., Ongena M., Jacques P., Guiro A et Thonart P. (2004). Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on appel. *Applied Jornal of Microbiol*. 96: 1151-1160.
- Toussaint V. (1996). Caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF-76 antagoniste à *Phytophthora farangarae* var. *Rubi* causent le pourridié des racines du framboisier. Mémoire de Maitre és science. Biologie. Université de Sherbrooke. Québec. Canada.
- Tripathi M., Johri B.N. (2002). In vitro antagonistic potential of *fluorescent Pseudomonas* and control of sheath blight of maize caused by *Rhizoctonia solani*. *Indian Jornal of Microbiology*. 42: 207-2014.
- Vessy (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*. 255: 571-586.

Références bibliographiques

- Walker A.S. (2013). Diversité et adaptation aux fongicides des populations de *Botrytis Cinerea*, agent de la pourriture grise. Thèse de Doctorat. Biologie. Université Paris-sud. Paris.
- Weller D.M., Raaijmakers J.M., McSpadden-Gardener B.B et Thomashow L.S. (2002). Microbiol populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*. 40: 309-343.
- Whipps J.M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Jornal of Experimental Botany*. 52: 487-511.
- Williams G.F., Asher M.J.C. (1996). Selection of rhizobacteria for the control of *Pythium ultimum* and *Aphanomyces cochlioides* on sugar-beet seedlings. *Crops Protection*. 15: 479-486.
- Zheng M., Shi J., Shi J., Wang Q et Li Y. (2013). Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus* strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. *Biology control*. 65 (2): 200-206.

ANNEXES

Annexe 1

Composition des solutions et des milieux de culture utilisés.

❖ **Gélose nutritive (composition en g/l)**

Extrait de viande.....	1g.
Extrait de levure.....	2g.
Peptone.....	5g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Agar.....	15g.
Eau distillé.....	1000ml.

pH= 7,4

❖ **Milieu SABOURAUD**

Peptone.....	10g.
Agar.....	20g.
Glucose.....	20g.
Eau distillé.....	1000ml.

pH= 7

❖ **Gélose Mueller Hinton (composition en g/l)**

Extrait de viande.....	3g.
Amidon.....	1,5g.
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g.
Agar.....	18g.
Eau distillé.....	1000ml.

pH=7,4

❖ **Milieux Brain Heart Infusion Broth**

Protéose-peptone.....	10g.
Infusion de cervelle de veau.....	12,5g.
Infusion de cœur de bœuf.....	5g.
Glucose.....	2g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Hydrogénophosphate de sodium.....	2,5g.

pH=7,4.

❖ **Eau physiologique stérile (composition g/l)**

Chlorure de sodium (NaCl).....	9g.
--------------------------------	-----

Eau distillé.....1000ml.

pH=7.

Stérilisation à 120C° pendant 15min.

Annexe 2

Résultats des tests statistiques

A) Table de l'ANOVA et Newman keuls pour les résultats de l'antagonisme bactérien par confrontation directe

Tests Univariés de Significativité pour Var3 pourcentage (Feuille thiziri) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse						
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	23477,16	1	23477,16	63,71594	0,000000	
Var2 bac	8158,54	6	1359,76	3,69032	0,015626	
Erreur	6263,92	17	368,47			

Test de Newman-Keuls ; variable Var3 pourcentage (Feuille thiziri) Groupes Homogènes, alpha = ,05000 Erreur : MC Inter = 368,47, dl = 17,000				
Cellule N°	Var2 bac	Var3 pourcentage Moyenne	1	2
7	bacillus 8	2,94000	****	
1	bacillus 1	25,28500	****	****
4	bacillus8	25,88000	****	****
3	bacillus3	32,44000	****	****
6	bacillus 3	42,35500	****	****
2	bacillus1	43,81250	****	****
5	pseudo	65,48167		****

B) Table de l'ANOVA et Newman keuls pour les résultats de l'antagonisme bactérien par confrontation indirecte

Tests Univariés de Significativité pour Var3 pourcentage (Feuille thiziri) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse						
Effet	SC	Degr. de Liberté	MC	F	p	
ord. origine	85738,96	1	85738,96	143,2273	0,000000	
Var2 bac	21713,72	6	3618,95	6,0455	0,001549	
Erreur	10176,57	17	598,62			

Test de Newman-Keuls ; variable Var3 pourcentage (Feuille thiziri)						
Groupes Homogènes, alpha = ,05000						
Erreur : MC Inter = 598,62, dl = 17,000						
Cellule N°	Var2 bac	Var3 pourcentage Moyenne	1	2		
7	bacillus 8	0,0000		****		
5	pseudo	38,4300	****	****		
1	bacillus 1	61,7650	****			
3	bacillus3	70,2950	****			
2	bacillus1	84,7050	****			
6	bacillus 3	100,0000	****			
4	bacillus8	100,0000	****			

RESUME

La lutte biologique par l'utilisation des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) peut être un outil promoteur pour l'amélioration de la production végétale et la gestion intégrée des champignons parasites des cultures.

L'objectif de ce travail consiste à mettre en évidence l'effet antagoniste de certaines bactéries rhizosphériques de genres *Bacillus* et *Pseudomonas* vis-à-vis trois champignons phytopathogènes (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium* sp). A cet effet, les essais préliminaires d'antagonisme in vitro ont montrés que les souches bactériennes utilisées exercent un pouvoir inhibiteur appréciables et variables sur la croissance mycélienne des champignons par la sécrétion des composés diffusibles (antibiotiques, sidérophores, enzymes hydrolytiques...) et des composés volatiles.

Les tests in vivo ont été réalisés sur les plantes de tomate infestées par *Botrytis cinerea*. La bactériation des plantes de tomate par la souche *Pseudomonas* sp a montrée un ralentissement de l'évolution et de développement de la maladie causée par le champignon pathogène. En plus de cet effet de biocontrôle, l'application de *Pseudomonas* sp a engendrée des situations de phytostimulation et une nette amélioration des aspects physiologique et biochimiques (gain dans la biomasse, chlorophylle totale)

L'application de *pseudomonas* sp induit une tolérance chez les plantes de tomate vis-à-vis *Botrytis cinerea* en stimulant la croissance de la plante et en agissant par antagonisme directe sur le parasite.

Mots clés : Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, Effets antagonistes, Composés diffusibles, Composés volatiles, Biocontrôle, Phytostimulation.

ABSTRACT

Biological control through the use of rhizobacteria promoters of plant growth (PGPR) can be a promoter tool for improving crop production and integrated management of parasitic fungi of crops.

The aim of this work is to demonstrate the antagonistic effect of certain rhizospheric bacteria of the genus *Bacillus* and *Pseudomonas* against three phytopathogenic fungi (*Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium* sp). For this purpose, tests preliminary in vitro antagonism have shown that the bacterial strains used exert an appreciable and variable inhibitory power on the mycelia growth of fungi by the secretion of diffusible compounds (antibiotic, siderophores, hydrolytic enzymes, etc.) and compounds volatiles.

In vivo test were carried out on tomato plants infested with *Botrytis cinerea*. The beating of the tomato plants by the strain *Pseudomonas* sp showed a slowing of the evolution and development of the disease caused by pathogenic fungus. In addition to this biocontrol effect, the application of *Pseudomonas* sp led to phytostimulation situations and a marked improvement in the physiological and biochemical aspects (gain in biomass, total chlorophyll).

The application of *Pseudomonas* sp induces a tolerance in tomato plants against *Botrytis cinerea* by stimulating the growth of the plant and acting by direct antagonism to the parasite.

Key words: Rhizobacteria promoters of plant growth, Antagonist effects, Diffusible compounds, Compounds volatiles, Biocontrol, Phytostimulation.