

Recherches sur la résistance de sols marocains à la fusariose vasculaire de la lentille

Haiat ESSALMANI^a, Houria LAHLOU^b

^a *Département des Sciences de la vie. Faculté des Sciences et Techniques
B.P. 416. Tanger. Maroc
Tel: (212) 039393954/55. Fax: (212) 039393953
E-mail: hessalmani@hotmail.com*

^b *Département de Biologie. Faculté des Sciences. B. P. 1014. Rabat. Maroc*

Résumé – L'estimation du niveau de réceptivité à la fusariose vasculaire de la lentille de cinq échantillons de sols provenant du Nord de Maroc montre que quatre d'entre eux sont résistants à cette maladie, alors que le cinquième est sensible. Le traitement thermique à la vapeur détruit presque totalement la résistance de ces sols qui est donc de nature micro-biologique. Les analyses microbiologiques révèlent que, la proportion de *Fusarium oxysporum* par rapport à la population fongique totale et celle de *Pseudomonas* spp. fluorescents par rapport à la population bactérienne totale, sont plus élevées dans les sols résistants que dans le sol sensible. Certaines souches de *Fusarium oxysporum* non pathogènes et de *Pseudomonas* spp. fluorescents, isolées du sol résistant de Boukhalef, sont capables de rétablir la résistance dans ce même sol traité à la vapeur suggérant que ces groupes microbiens jouent un rôle dans les mécanismes de résistance. Ainsi, la souche F₆ de *Fusarium oxysporum* non pathogène et la souche Ps₄ de *Pseudomonas putida* rétablissent parfaitement la résistance du sol de Boukhalef traité à la vapeur. Ces souches rétablissent également la résistance, de façon plus ou moins efficace, des autres sols résistants traités à la vapeur.

Sol / fusariose vasculaire / lentille / résistance

Abstract – Receptivity tests to fusarium wilt of five soils samples in the North of Morocco showed that four of them were suppressive but only one was conducive. The heat treatment destroys almost totally suppressiveness of these soils, which is therefore microbiological nature. The microbiological analysis showed that the proportion of *F. oxysporum* in the whole fungal population and the proportion of fluorescents *Pseudomonas* spp. in the whole bacterial population are higher in resistant soils than in the conducive one. Some strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and fluorescents *Pseudomonas* spp. isolated from the suppressive soil of Boukhalef were able to re-establish suppressiveness of this heat-treated soil, suggested their primordial role in the mechanisms of the suppression. Like this, two highly suppressive strains, the nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, strain F₆, and *Pseudomonas putida*, strain Ps₄, showed their complementarity in the total establishment of the suppressiveness of the heat-treated same soil. They were also able to induce suppressiveness with more or less efficacy in the others heat-treated suppressive soils.

Soil / fusarium wilt / lentil / suppressiveness

INTRODUCTION

Certaines souches de *Fusarium oxysporum* (Schlecht) présentent non seulement une phase de croissance saprophyte dans la rhizosphère des plantes hôtes mais également une phase parasite en présence de la plante hôte à laquelle elles sont inféodées. La gravité de ces maladies est fonction non seulement de l'inoculum du champignon mais également de la réceptivité du sol et de celle de la culture (Alabouvette *et al.*, 1982). Ainsi, les sols résistants s'opposent à l'expression de la fusariose même en présence d'une forte concentration d'inoculum. Des résistances naturelles et stables aux fusarioses vasculaires ont été signalées en Californie dans les sols de Salinas (Smith & Snyder, 1971) et en France dans les sols de Châteaurenard (Louvet *et al.*, 1976). Des recherches menées sur la résistance de ces sols ont montré la nature microbiologique du phénomène. La résistance des sols aux fusarioses est basée sur la coopération de plusieurs micro-organismes et mécanismes (Schippers, 1992; sy *et al.*, 1991). Plusieurs études ont mis en évidence le rôle des *Fusarium* spp. saprophytes (Rouxel, 1978; Tamietti & Alabouvette, 1986; Tamietti & Pramotton, 1990) et des *Pseudomonas* spp. fluorescents (Scher & Baker, 1980). Parmi les mécanismes jouant un rôle important dans la résistance des sols aux fusarioses, la compétition pour le fer par des bactéries produisant des sidérophores présentant une forte affinité pour le fer ferrique (Elad & Baker, 1985 a et b) et / ou la compétition pour le carbone déterminée par l'ensemble de la microflore et en particulier par les populations de *F. oxysporum* non pathogènes (Couteaudier & Alabouvette, 1990).

Le but du présent travail est d'apprécier pour la première fois, la réceptivité de 5 sols agricoles marocains à la fusariose vasculaire de la lentille et par la suite d'identifier des micro-organismes impliqués dans la résistance des sols étudiés.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Sols et Analyses microbiologiques

Cette étude a porté sur cinq sols agricoles provenant du Nord du Maroc (Tanger) dont les caractéristiques physico-chimiques et culturales sont résumées dans le tableau 1. La présence de la fusariose vasculaire de la lentille dans le champ de Dar Zhiro et leur absence dans les champs de Boukhalef, Bougdour, Ain Dalia Sghira et Ouama sont la cause principale qui nous a incité à choisir ces sols pour mener cette étude. Le prélèvement des échantillons du sol est effectué dans l'horizon situé entre 0 et 20 cm de profondeur. L'échantillon final représentatif de chaque parcelle du terrain (environ 30 kg) est constitué d'un mélange de terres prélevées à 6 endroits différents.

Les analyses microbiologiques sont effectuées par la méthode des suspensions dilutions. Une série de dilution au 1/10 est réalisée à partir d'une suspension de solution mère contenant 10 g de sol dans 90 ml d'eau stérile. Un ml de la suspension diluée est étalé à la surface des milieux, PDA additionné de streptomycine (0,1 g.l⁻¹) et Komada (1975); pour le comptage de la microflore fongique totale et des *Fusarium*, respectivement. Les bactéries et les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont dénombrées après étalement de 20 µl des mêmes dilutions sur milieu King B additionné de nystatine (0,1 g.l⁻¹, Sigma). Pour chaque dilution

Tableau I. Caractéristiques physico-chimiques et agronomiques des échantillons de sols utilisés dans cette étude. Analyses INRA-Tanger.

	Sols				
	<i>Boukhalef</i>	<i>Bougdoor</i>	<i>A.D. Sghira</i>	<i>Ouama</i>	<i>Dar Zhiro</i>
Argile %	65	50	73	64	53
Limon %	25	34	12	21	36
Sable %	10	16	15	15	11
pH eau	8,05	8,1	8,15	8,2	7,8
pH KCl	7,25	7,3	7,3	7,35	7,2
M. organique %	0,8	1,36	1,6	1,78	1,46
C. organique %	0,46	0,79	0,93	1,03	0,27
K ₂ O %	0,3	0,35	0,28	0,3	0,9
Calcaire total %	0,24	0,13	0,16	0,12	0,2
Calcaire actif	Néant	Traces	Traces	Néant	Traces
Précédent cultural	Luzerne	Orge	Blé	Tomate	Orge

et chaque milieu, cinq boîtes de Pétri sont ensemencées. Les résultats présentés sont exprimés en unité formant colonie par gramme de sol (UFC.g⁻¹ de sol) et correspondent à la moyenne des densités de populations enregistrées au cours de trois analyses microbiologiques. Parmi les fusaria cultivables les *Fusarium oxysporum* sont identifiés en utilisant la clé de Messiaen et Cassini (1968)

Préparation de l'inoculum de *Fusarium oxysporum*

La souche pathogène MR 84 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* et les dix souches de *F. oxysporum* non pathogènes sont cultivés en étalant une suspension concentrée de conidies provenant d'une culture mère à la surface du milieu potato-dextrose-agar (PDA, Difco). La suspension de conidies est recueillie après quatre jours par lavage de la culture avec de l'eau distillée stérile. La densité de la suspension conidienne est ajustée à la valeur désirée par estimation de la densité initiale à l'aide d'une cellule de Thomas puis dilution. Les dix souches de *F. oxysporum* non pathogènes sont isolées à partir de plantes saines de lentille cultivées dans le sol de Boukhalef exposé au pathogène. La non-pathogénicité de ces souches est vérifiée après leur inoculation à de fortes doses (4×10^4 conidies.g⁻¹ de sable) à des plantes de lentille sensibles (Variété L 24 de *Lens culinaris*).

Évaluation de la réceptivité des sols

Les échantillons de sols sont infestés avec des doses croissantes (0,5, 1, 2, et 4×10^4 conidies.g⁻¹ de sol) d'un inoculum de la souche pathogène MR 84. Pour chaque traitement, huit pots de 500 ml sont semés chacun avec cinq graines de lentille préalablement désinfectées (hypochlorite de calcium 5 % pendant 20 mn). Les pots sont couverts et déposés à 25 °C à l'obscurité jusqu'à la germination des graines puis ils sont transférés en chambre de culture.

Le traitement thermique des sols est effectué à l'autoclave où 5 kg de chaque sol résistant sont soumis soit à 60 °C pendant 30 mn soit à 120 °C pendant 60 mn. Après repos des sols pendant une semaine, leur réceptivité est testée selon le protocole pré-cité.

Aptitude des *F. oxysporum* non pathogènes et des *Pseudomonas* spp. fluorescents à induire la résistance dans les sols thermotraités

L'isolement des *Pseudomonas* spp. fluorescents susceptibles d'avoir des compétences antagonistes est inspiré de la méthode décrite par Scher et Baker (1982). Il est effectué dans la rhizosphère des plantes cultivées dans le sol résistant de Boukhalef. Cinq mousselines en nylon de 1 cm de diamètre et 0,5 mm² de porosité, sont placées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. La souche pathogène MR 84 est placée au centre de la boîte. Après une semaine de culture les tamis couverts du mycélium et des spores du champignon sont enterrés et placés autour des racines, des plantules cultivées (15 à 20 jours) dans le sol résistant. Après 24 h les tamis sont récupérés et rincés avec de l'eau stérile puis placés sur le milieu B de King (KB). Dix colonies de taille différente présentant une fluorescence sont choisies et purifiées après plusieurs repiquages. L'inoculum des *Pseudomonas* fluorescents est préparé par ensemencement de chacune des souches sur milieu KB liquide et incubation sous agitation continue à 28 °C pendant 24 h. Les cellules bactériennes sont collectées par centrifugation (8000t/mn pendant 20 mn) et sont suspendues dans de l'eau distillée stérile. La densité de la suspension bactérienne est ajustée à la valeur désirée, en se basant sur la courbe standard représentant l'absorbance à 780 en fonction de nombre de cellules de la suspension bactérienne. L'identification des espèces de *Pseudomonas* est effectuée en utilisant une galerie de tests spécifiques définis selon Palleroni, (1984). Nous avons testé quatre souches de *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* Ps₁, Ps₇, Ps₈ Ps₁₀ et six souches appartenant à l'espèce *P. putida* Ps₂, Ps₃, Ps₄, Ps₅, Ps₆ et Ps₉.

Huit pots contenant chacun 500 g de sol sont inoculés avec 4×10^5 conidies.g⁻¹ de *F. oxysporum* non pathogène ou avec 2×10^6 bactéries.g⁻¹ de *Pseudomonas* spp. fluorescents. La souche F₆ de *F. oxysporum* non pathogène et Ps₄ de *P. putida* sont introduites séparément ou en association dans les sols. Ensuite cinq graines pré-stérilisées, de lentille sont semées par pot. Après 15 jours d'installation des souches dans le sol, le pathogène MR 84 est introduite dans chaque pot à la concentration de 4×10^4 conidies.g⁻¹.

Conditions de cultures et Analyse statistique

Les plantes de lentilles sont placées dans une chambre de culture à 25 °C le jour et 18 °C la nuit avec une photopériode de 16 h sous un flux énergétique de 11,7 W.m⁻² fourni par des tubes fluorescents émettant une lumière blanche (type TAB 40). Ces conditions climatiques sont favorables à l'expression de la maladie.

Les résultats sont exprimés en dénombrant les plantes saines 60 j après semis.

Chaque expérience est répétée au minimum deux fois. Les résultats expérimentaux sont comparés par l'analyse des variances au seuil de probabilité 5 % en utilisant le test de Student.

RÉSULTATS

Comparaison du niveau de résistance des sols

Les niveaux de la réceptivité des cinq sols à la fusariose vasculaire de la lentille présentés dans la figure 1 indiquent que les sols de Boukhalef et de Bougdour sont résistants. Le pourcentage des plantes saines qui est de 100 % ne

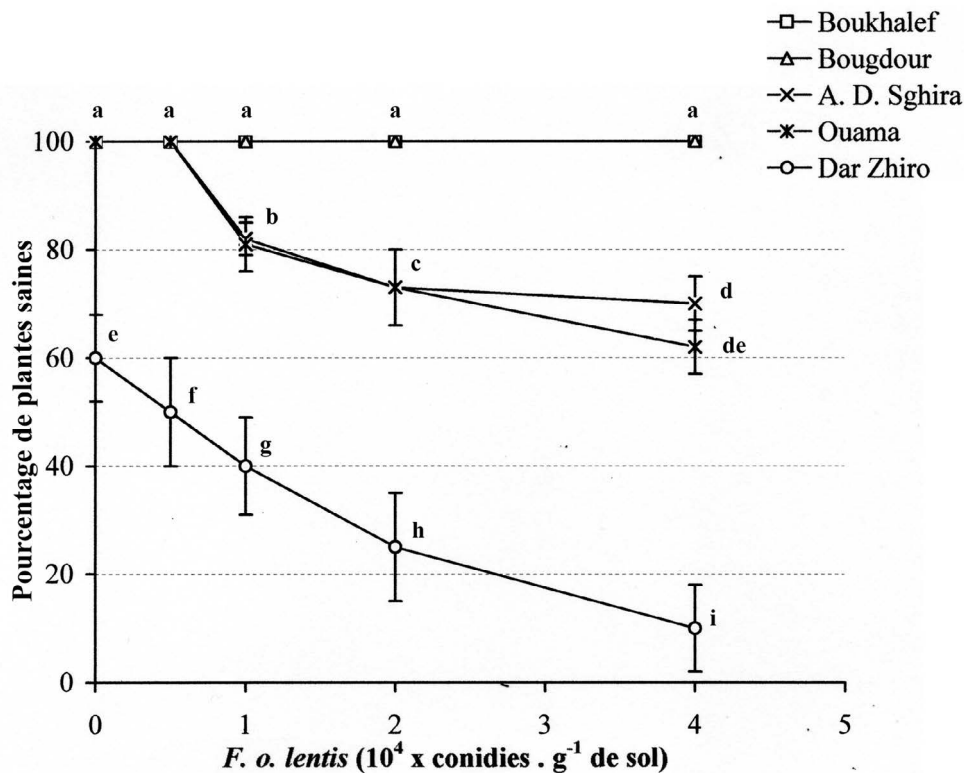


Fig. 1. Niveau de réceptivité à la fusariose vasculaire de la lentille de cinq échantillons de sol en fonction des doses croissantes de MR 84 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*.

* Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Student. Moyennes de 24 répétitions avec leur écart-type.

varie pas malgré l'augmentation de la concentration de l'inoculum de *F. oxysporum* f. sp. *lentis*. Le sol de Dar Zhiro est sensible, le taux de mortalité des plantes est de 40 % en absence même de tout apport exogène d'inoculum et augmente de façon importante avec la dose d'infestation. Les sols de Ain Dalia Sghira et de Ouama montrent une réceptivité intermédiaire entre ces deux extrêmes, mais qui se rapproche beaucoup plus des sols résistants que du sol sensible. Le pourcentage des plantes saines en présence de la plus forte dose (4×10^4 conidies.g⁻¹ de sol) est assez élevé (75 % et 62 % respectivement).

La figure 2 montre que la résistance des sols est affectée par le chauffage. Les sols de Boukhalef et Bougdour semblent être plus affectés que les sols de Ain Dalia Sghira et Ouama. Une partie de la résistance des sols est détruite à 60 °C pendant 30 mn, une autre partie est détruite à 100 °C pendant 60 mn. Une résistance résiduelle qui est faible se maintient dans les sols (20 à 30 % des plantes saines).

Le niveau de réceptivité de ces sols à la fusariose est stable et s'est manifesté de manière analogue au cours de trois expérimentations consécutives.

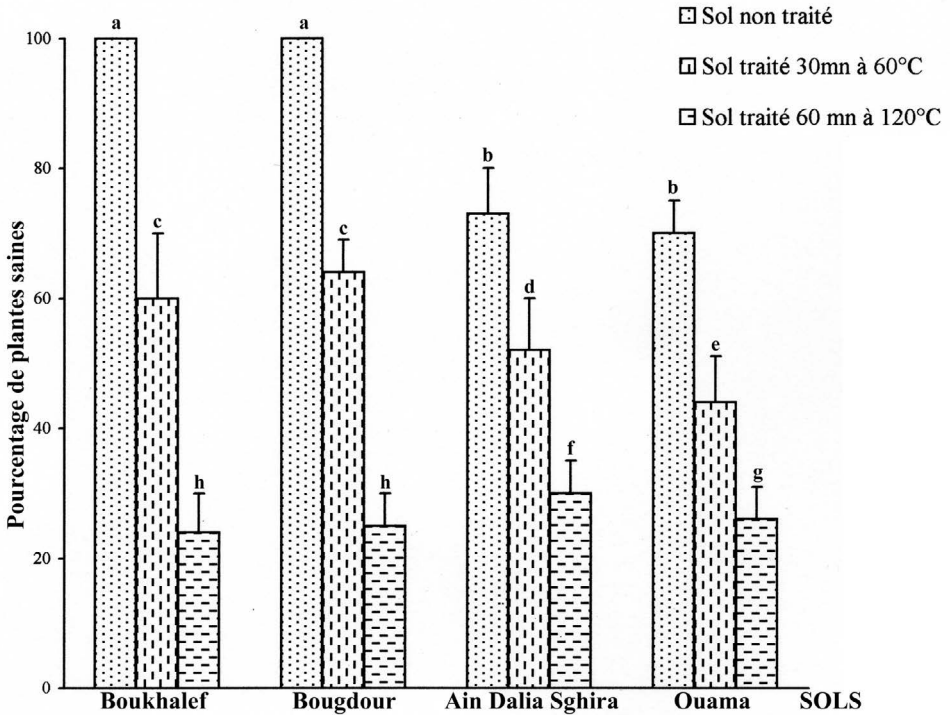


Fig. 2. Niveau de réceptivité à la fusariose vasculaire de la lentille des quatre sols résistants traités à la vapeur à 120 °C pendant 30 mn et 60 mn. Les échantillons de sol sont infestés avec 4×10^4 conidies.g⁻¹ de sol de l'agent pathogène.

* Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Student. Moyennes de 16 répétitions avec leur écart-type.

Analyse des populations microbiennes des sols

Le tableau 2 indique la densité des populations microbiennes des cinq sols étudiés. Le dénombrement des populations bactériennes totales montre que leur densité est la plus faible dans les sols de Boukhalef et de Ouama, intermédiaire dans les sols A. D. Sghira, de Dar Zhiro et est élevée dans le sol de Bougdour. La densité des *Pseudomonas* spp. fluorescents est également la plus élevée dans ce dernier sol. En ce qui concerne la mycoflore, la densité fongique est faible dans les sols de Bougdour, A. D. Sghira et Ouama, intermédiaire dans le sol de Boukhalef et est élevée dans le sol de Dar Zhiro. Par ailleurs le sol de Boukhalef est le plus riche en *F. oxysporum*. La proportion de *F. oxysporum* par rapport à la population fongique totale et celle de *Pseudomonas* spp. fluorescents par rapport à la population bactérienne totale sont les plus élevées dans les sols de Boukhalef, Bougdour, A. D. Sghira et Ouama que dans le sol de Dar Zhiro.

Après traitement des sols à 60 °C pendant 30 mn, le niveau des populations fongiques diminue brutalement, dans tous les sols traités, par rapport

Tableau II. Moyenne de la densité des populations microbiennes des échantillons de sol de Boukhalef, Bougdour, Ain Dalia Sghira, Ouama et Dar Zhiro. (1) et (3) = Densités respectives des *Pseudomonas* spp. et des *F. oxysporum* et (2) et (4) = Importance relative de *Pseudomonas* spp. au sein de la bactérioflore totale et de *F. oxysporum* au sein de la mycoflore totale, respectivement.

Sols	*Bactéries cultivables ($\times 10^6$ UFC.g ⁻¹ de sol)			*Champignons cultivables ($\times 10^4$ UFC.g ⁻¹ de sol)		
	Totaux	<i>P. spp. fluorescents</i> n ⁽¹⁾	% ⁽²⁾	Totaux	<i>F. oxysporum</i> n ⁽³⁾	% ⁽⁴⁾
Boukhalef	1,5 + 0,4 c	0,05 + 0,01 b	3 + 0,2 a	5 + 0,3 b	0,5 + 0,04 a	10 + 0,12 a
Bougdour	4,0 + 0,5 a	0,08 + 0,004 a	2 + 0,1 b	2 + 0,4 c	0,1 + 0,01 c	5 + 0,15 b
A. D. Sghira	2,5 + 0,4 b	0,05 + 0,005 c	2 + 0,1 b	2 + 0,2 c	0,2 + 0,04 b	10 + 0,21 a
Ouama	1,0 + 0,4 c	0,02 + 0,003 b	2 + 0,2 b	2 + 0,1 c	0,1 + 0,01 c	5 + 0,15 b
Dar Zhiro	2,6 + 0,6 b	0,03 + 0,02 c	1,2 + 0,3 c	8 + 2 a	0,1 + 0,02 c	1 + 0,03 c

* Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 d'après le test de Student. Moyennes de 15 répétitions avec leur écart-type.

aux témoins. Cette diminution est de 90 %, 91 %, 88 % et 91 % respectivement dans les sols de Boukhalef Bougdour, Ain Dalia Sghira et Ouama (résultats non présentés). Cependant, la flore bactérienne n'est pas affectée de manière identique, elle subit une réduction moins poussée que la flore fongique, qui est de l'ordre de 33 %, 25 %, 20 % et 20 % respectivement dans les sols de Boukhalef, Bougdour, Ain Dalia Sghira et Ouama (résultats non présentés).

Les analyses microbiennes estimées sur les sols soumis à 100 °C pendant 60 mn montrent que la totalité des champignons et des bactéries disparaissent après le chauffage.

Aptitude des souches autochtones à rétablir la résistance

Les figures 3 et 4 révèlent que l'efficacité des souches *F. oxysporum* non pathogènes et de *Pseudomonas* spp. fluorescents à rétablir la résistance des sols thermotraités est variable. Si certaines souches n'ont pas rétabli de façon significative la résistance des sols d'autres se révèlent efficaces dans le rétablissement de la résistance surtout les souches F₆ de *F. oxysporum* non pathogènes et Ps₄ de *P. putida* qui assurent un bon rétablissement de la résistance.

Aptitude des souches efficaces à rétablir la résistance dans d'autres sols

La figure 5 indiquent que chacune des souches F₆ et Ps₄ est capable de rétablir en partie la résistance même dans les sols dont elles ne sont pas issues. Cet effet bénéfique est plus marqué dans le sol d'origine. Le rétablissement de la résistance est significativement meilleur lorsque les deux souches F₆ et Ps₄ sont co-inoculées. Cette association microbienne permet même de restaurer complètement la résistance du sol de Boukhalef.

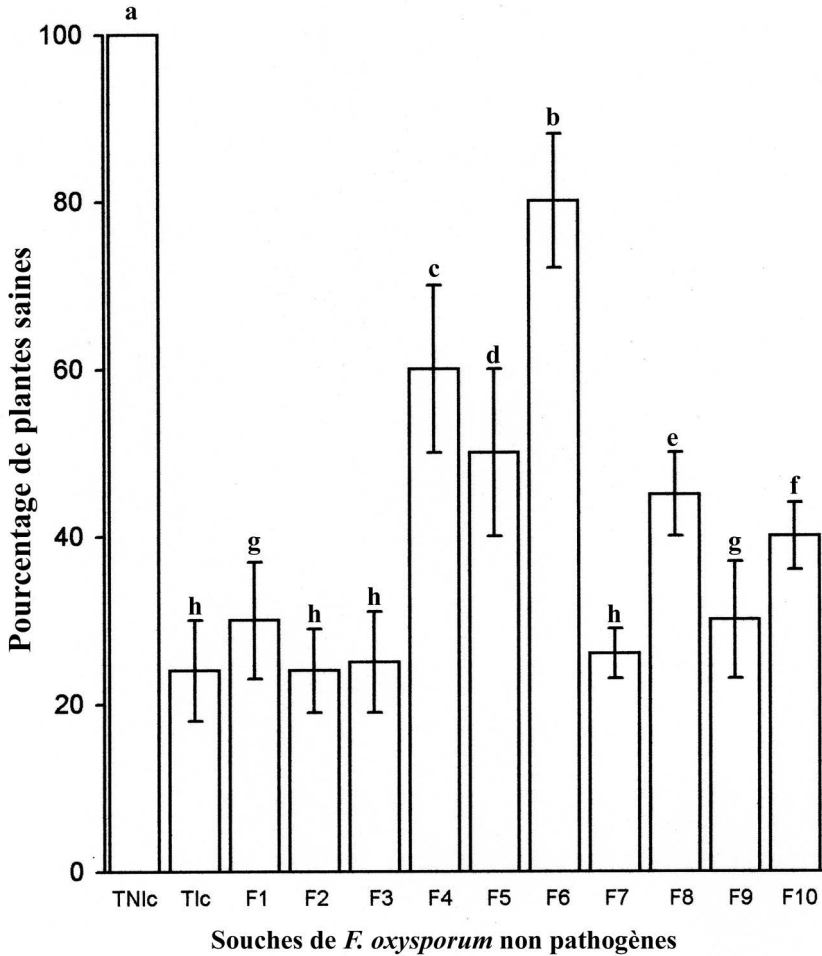


Fig. 3. Aptitude des souches de *F. oxysporum* non pathogènes (F₁ → F₁₀) à rétablir la résistance dans le sol de Boukhalef préalablement traité à la vapeur (120 °C pendant 60 mn). La souche pathogène MR 84 est introduite à $4 \times 10^4 \times$ conidies.g⁻¹ de sol, 15 jours après précolonisation de ce sol par les souches de *F. oxysporum* non pathogènes. Le sol témoin est infesté (Tlc) ou non (TNIc) par *F. oxysporum* f. sp. *lentis* seul.

* Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Student. Moyennes de 16 répétitions avec leur écart-type.

DISCUSSION

Les expériences conduites avec des plantes de lentille permettent d'apprécier pour la première fois le niveau de réceptivité de certains sols marocains à la fusariose vasculaire. Les sols de Boukhalef et de Bougdour se révèlent résistants à cette maladie. Bien que les sols de A. D. Sghira et de Ouama manifestent

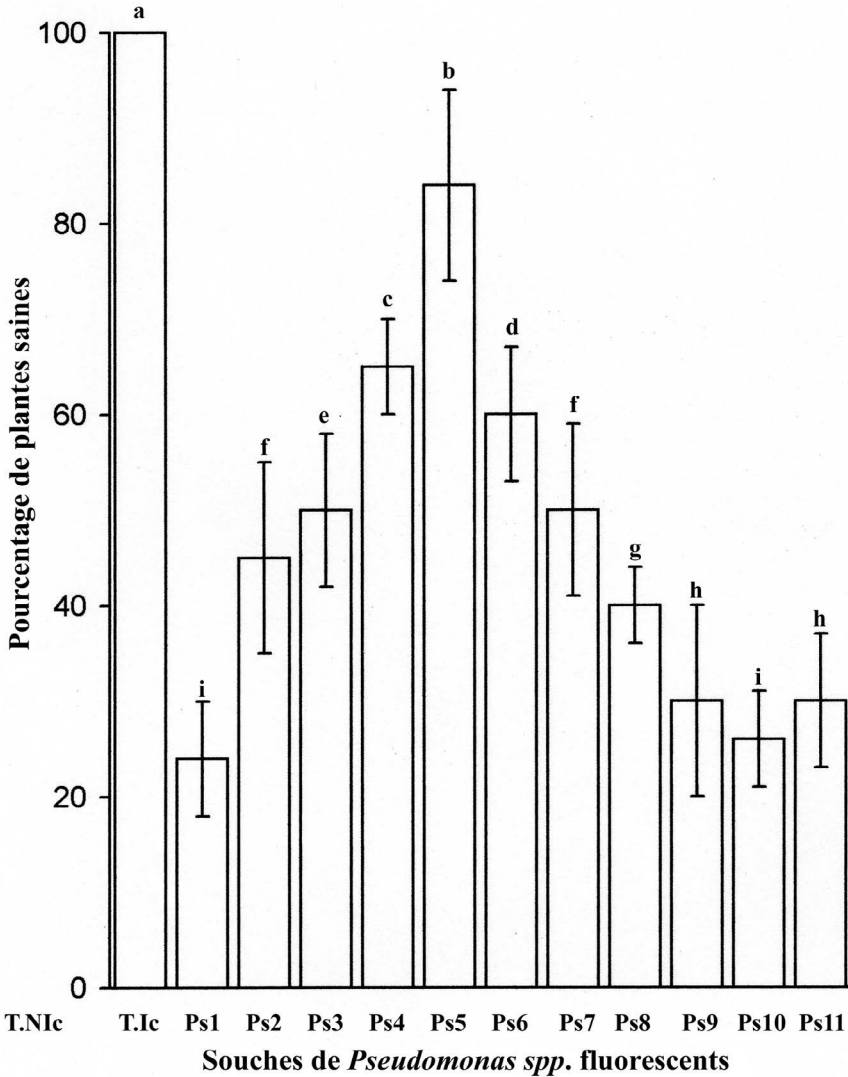


Fig. 4. Aptitude des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents (Ps₁ → Ps₁₀) à rétablir la résistance dans le sol de Boukhalef préalablement traité à la vapeur (120 °C pendant 60 mn). La souche pathogène MR 84 est introduite à 4 10⁴ × conidies.g⁻¹ de sol, 15 jours après précolonisation de ce sol par les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Le sol témoin est infesté (T.Ic) ou non (T.Nic) par *F. oxysporum* f. sp. *lentis* seul.

* Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Student. Moyennes de 16 répétitions avec leur écart-type.

une résistance plus faible, celle-ci reste élevée même en présence d'une forte densité d'inoculum pathogène. Au contraire le sol de Dar Zhiro apparaît sensible.

Le traitement thermique des sols résistants qui détruit la microflore détruit une grande partie de la résistance indiquant que cette propriété repose

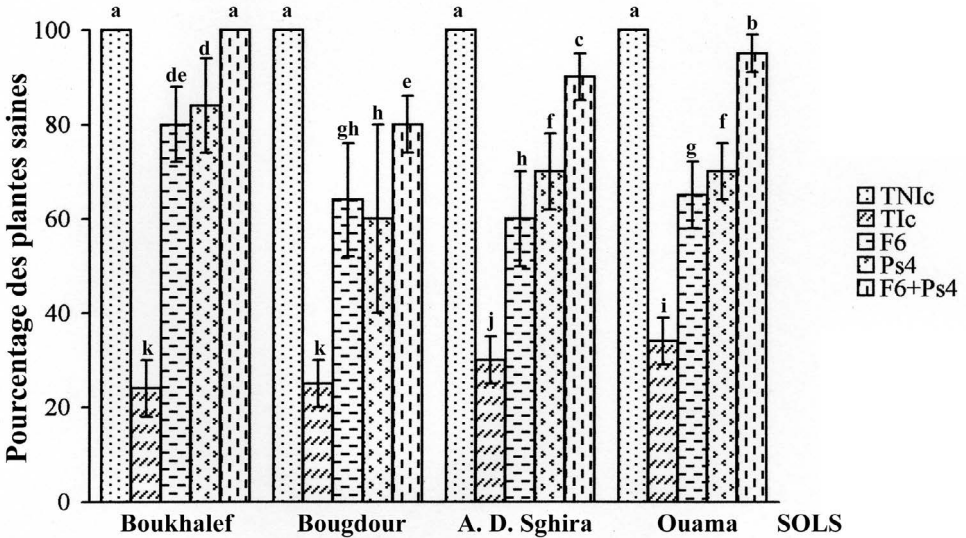


Fig. 5. Aptitude des souches F_6 et/ou Ps_4 à rétablir la résistance dans les quatre sols résistants préalablement traités à la vapeur à 120°C pendant 60 mn. L'agent pathogène est introduit à $4 \times 10^4 \times \text{conidies.g}^{-1}$ de sol, 15 jours après précolonisation de ce sol par les souches F_6 et/ou Ps_4 . Le sol témoin est infesté (T1c) ou non (TN1c) par *F. oxysporum* f. sp. *lentis* seul.

* Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % d'après le test de Student. Moyennes de 16 répétitions avec leur écart-type.

fondamentalement sur des interactions microbiennes. Sauf dans le sol de Dar Zhiro, l'inoculum du pathogène pourrait être désactivé par les micro-organismes de la flore indigène des sols résistants. La nature microbienne de la résistance a été établie dans tous les sols résistants aux fusarioses actuellement décrits dans le monde (Amir & Alabouvette, 1993; Scher & Baker, 1980; Tamietti & Alabouvette, 1986). Les analyses microbiologiques réalisées montrent l'absence de relation entre la résistance et les niveaux de populations microbiennes, par contre il apparaît que la proportion de *F. oxysporum* par rapport à la population fongique totale et celle de *Pseudomonas* spp. fluorescents par rapport à la population bactérienne totale sont plus élevées dans les sols résistants que dans le sol sensible. Ces résultats obtenus ne permettent pas de formuler une hypothèse précise quant au rôle respectif de la bactérioflore ou de la mycoflore dans les mécanismes de résistance. Cependant, la destruction d'une partie de la résistance des sols avec la disparition presque totale de la flore fongique et d'une partie de la flore bactérienne et la destruction d'une autre partie de la résistance avec la disparition totale de la flore bactérienne permet de déduire que cette microflore est impliquée dans la résistance des sols. La faible résistance des sols qui est maintenue malgré la destruction totale de la microflore semble dépendre de la nature physico-chimique des sols, des concentrations plus élevées du pathogène pourrait vraisemblablement la détruire.

Compte tenu de l'implication des populations de *F. oxysporum* non pathogènes et de *Pseudomonas* spp. fluorescents dans les mécanismes de résistance des sols aux fusarioses et à *Gaeumannomyces graminis* (Alabouvette, 1990;

Rouxel *et al.*, 1979 ; Scher & Baker 1980 ; Schippers, 1992 ; Tamietti & Pramotton, 1990, Weller *et al.* 2002), il a été décidé de constituer une collection de souches de ces deux types de micro-organismes provenant du même niche écologique à fin d'étudier leur aptitude à établir la résistance dans les sols traités à la chaleur. Les dix souches de *F. oxysporum* non pathogènes montrent une grande diversité quant à leur aptitude à induire la résistance dans le sol de Boukhalef thermotraité. Les souches les plus efficaces comme la souche F₆ seraient celles qui ont une grande aptitude à la compétition pour le carbone et/ou pour les sites d'infections situées au niveau des racines. Couteaudier et Alabouvette (1990) ont montré une grande diversité au sein des *F. oxysporum* non pathogènes quant à leur efficacité à utiliser le carbone et Couteaudier (1992) a établi une corrélation significative entre cette efficacité et leur capacité à inhiber la germination du pathogène dans la rhizosphère et à réduire la gravité de la fusariose du lin. Les *F. oxysporum* non pathogènes peuvent agir par plusieurs modes d'action. Ils peuvent s'opposer à la croissance saprophyte des *Fusarium* pathogènes grâce à leur grande aptitude à la compétition (Rouxel, 1978 ; Sy *et al.*, 1991) qui peut être au niveau des sites d'infections (Eparvier & Alabouvette, 1994) comme elle peut être trophique à l'instar de la compétition pour le carbone (Alabouvette & Couteaudier, 1992). Certaines souches de *F. oxysporum* non pathogènes peuvent également stimuler les réactions de défense de la plante (Mandeel & Baker, 1991). Cependant, les travaux de Duijff *et al.* (1998 et 1999) indiquent que la protection des plantes contre les fusarioses assurée par *F. oxysporum* non pathogène (F047) est principalement attribuée à l'activité métabolique du pathogène, même si cette souche est capable d'induire la résistance de la plant-hôte. Ces différents modes d'action ont des effets complémentaires, plus la souche de *F. oxysporum* non pathogène en possède plus la protection assurée est susceptible d'être efficace.

Par ailleurs, certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents sont efficaces dans le rétablissement de la résistance du sol de Boukhalef traité à chaleur en particulier, la souche Ps₄ de *P. putida*. Ces souches seraient douées d'une grande aptitude à la compétition pour le fer. En effet, celle-ci constitue l'un des modes d'action principal par lequel les *Pseudomonas* spp. fluorescents limitent la croissance des champignons pathogènes et réduisent la gravité de la fusariose (Scher & Baker, 1982). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents les plus efficaces sont celles qui produisent des sidérophores de type pseudobactines ou pyoverdines (Bakker *et al.*, 1990). Certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents protègent également les plantes contre les fusarioses par l'induction systémique de leur résistance (Bakker *et al.*, 2003, Leeman *et al.*, 1995 ; Van Peer *et al.*, 1991).

Les souches F₆ et Ps₄ sont efficaces dans l'induction de la résistance dans le sol de Boukhalef, sol dont elles sont issues. Bien que leur efficacité diminue légèrement dans les trois autres sols résistants, traités à la chaleur, elle reste élevée. Ces deux souches coopèrent positivement dans le rétablissement de la résistance des quatre sols résistants thermotraités. Ceci montre qu'elles sont compatibles et jouent un rôle complémentaire dans le mécanisme de résistance de ces sols. Ces souches pourraient être utilisées dans la lutte biologique contre la fusariose vasculaire de la lentille. Cet effet bénéfique entre des souches de *F. oxysporum* non pathogène et de *Pseudomonas* a été déjà décrit (Duijff *et al.*, 1999 & Lemanceau *et al.*, 1992). Il est expliqué par le fait que la compétition pour le Fer résultant de la production de sidérophores par *Pseudomonas* rend la souche de *F. oxysporum* pathogène plus sensible à la compétition pour le carbone (Alabouvette *et al.*, 1998). L'association microbienne de micro-organismes efficaces ne se traduit pas nécessairement par un gain de la protection comme dans notre cas ou bien comme dans le cas de *P. fluorescens* C7 ou *P. putida* WCS358 associées

avec la souche *F. oxysporum* non pathogène F047 (Alabouvette *et al.*, 1993 ; Duijff *et al.*, 1999). En effet, certaines souches de *P. fluorescens* semble limiter l'activité protectrice de *Trichoderma hamatum* (Hubbard *et al.*, 1983) ou de *Trichoderma harzianum* (Dandurand & Knudsen, 1993) contre la pourriture racinaire du pois.

Nos résultats confirment le rôle des *F. oxysporum* non pathogènes et des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la résistance naturelle des sols et indiquent que l'association d'une souche de *F. oxysporum* non pathogène et d'une souche de *P. putida* permet de restaurer la résistance du sol après traitement thermique, de manière plus efficace que chaque souche séparément. D'autre part, des antagonistes potentiels ont été isolé à partir des sols résistants testés dans cette étude (Essalmani & Lahlou, 2002). *Rhizobium leguminosarum* isolé du sol de Boukhalef a montré une très grande efficacité dans le contrôle biologique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* en agissant par antibiose (Essalmani & Lahlou, 2003).

RÉFÉRENCES

- ALABOUVETTE C., COUTEAUDIER Y. & LOUVET J., 1982 — Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires, *Agronomie* 21-6.
- ALABOUVETTE C., 1990 — Biological control of fusarium wilt pathogens in suppressive soils, in: HORNBY D. (Ed), *Biological control of soil-borne plant pathogens* 27-43
- ALABOUVETTE C. & COUTEAUDIER Y., 1992 — Biological control of fusarium wilts with nonpathogenic fusaria, in: TJAMOS E.C., COOK J. and PAPAIVIZAS G.C. (Eds), *Biological Control of Plant Disease* 415-426.
- ALABOUVETTE C., LEMANCEAU P. & STEINBERG C., 1993 — Recent advances in biological control of fusarium wilts, *Pestic. Sci.* 37: 365-373.
- ALABOUVETTE C., SCHIPPERS B., LEMANCEAU P. & BAKKER A. H. M., 1998 — Biological control of fusarium wilts towards development of commercial products., in: BOLAND G. J., KUYKENDALL L. D. (Eds), *Plant-Microbe interactions and biological control* 15-36.
- AMIR H. & ALABOUVETTE C., 1993 — Involvement of soil abiotic factors in the mechanisms of soil suppressiveness to fusarium wilts, *Soil Biol. Biochem.* 25: 157-164.
- BAKKER P. A. H. M., VAN PEER R. & SCHIPPERS B., 1990 — Specificity of siderophores and siderophores receptors and biocontrol by *Pseudomonas* spp., in: HORNBY D. (Ed), *Biological Control of Soil-borne plant pathogens*, CAB International, Wallingford 131-142.
- BAKKER P. A. H. M., RAN L. X., PIETERSE C. M. J. & VAN LOON L. C., 2003 — Understanding the involvement of rhizobacteria-mediated induction of systemic resistance in biocontrol of plant diseases, *Can. J. Plant. Pathol.* 25: 5-9.
- COUTEAUDIER Y. & ALABOUVETTE C., 1990 — Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation with carbon utilization, *FEMS Microbiol. Ecol.* 74: 261-268.
- COUTEAUDIER Y., 1992 — Competition for carbon in soil and rhizosphere, a mechanism involved in biological control of fusarium diseases. In: TJAMOS E.C., COOK R.J., PAPAIVIZAS G.C. (Eds), *Biological Control of Plant Diseases*, Plenum Press, New York 99-104.
- DANDURAND L.M. & KNUDSEN G.R., 1993 — Influence of *Pseudomonas fluorescens* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the sphere and rhizosphere of pea. *Phytopathology* 83: 265-270.
- DUIJFF B. J., POUHAIR D., OLIVAIN C., ALABOUVETTE C. & LEMANCEAU P., 1998 — Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* F₀47, *Eur. J. Plant Pathol.* 104: 903-910.

- DUIJFF B. J., RECORBET G., BAKKER P. A. H. M., LOPER J. E. & LEMANCEAU P., 1999 — Microbial antagonism at the root level is involved in the suppression of fusarium wilt by the combination of non pathogenic *Fusarium oxysporum* F₀47 and *Pseudomonas putida*, *Phytopathology* 89: 1073-1079.
- ELAD Y. & BAKER R., 1985a — Influence of trace amounts and sidérophores-producing Pseudomonads on chlamydospores germination of *Fusarium oxysporum*, *Phytopathology* 75: 1047-1052.
- ELAD Y. & BAKER R., 1985b — The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospores germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 75: 1053-1059.
- ESSALMANI H. & LAHLOU H., 2002 — Etude *in vitro* de l'activité antagoniste de quelques micro-organismes à l'encontre de *Fusarium oxysporum* F. sp. *lentis*. *Cryptogamie — Mycologie* 23 (2): 221-234.
- ESSALMANI H. & LAHLOU H., 2003 — Mécanismes de bioprotection des plantes de lentille par *Rhizobium leguminosarum* contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Comptes rendus des académies des Sciences-Biologies* 326 (12): 1163-1173.
- EPARVIER A. & ALABOUVETTE C., 1994 — Use of ELISA and GUS-transformed strains to study competition between pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* for root colonization, *Biocontrol Sci. Technol.* 4: 35-47.
- HUBBARD J.P., HARMAN G.E. & HADAR Y., 1983 — Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. on the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds, *Phytopathology* 73: 655-659.
- KOMADA H., 1975 — Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil, *Rev. Plant Prot. Res.* 8: 114-125.
- LEEMAN M. & VAN PELT J.A., DEN OUDEN F.M., HEINSBROEK M., BAKKER P.A. H. M., SCHIPPERS B., 1995 — Induction of systemic resistance against fusarium wilt of radish cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, *Eur. J. Plant Pathol.* 101: 655-664.
- LEMANCEAU P., BAKKER P. A. H. M., DE KOGEL W.J., ALABOUVETTE C. & SCHIPPERS B., 1992 — Effect of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of Fusarium wilt of carnations by nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 2978-2982.
- LOUVET J., ROUXEL F. & ALABOUVETTE C., 1976 — Recherches sur la résistance des sols aux maladies: I — Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance d'un sol au développement de la fusariose vasculaire du melon, *Ann. Phytopathology* 8 (4): 425-436.
- MANDEEL Q. & BAKER R., 1991 — Mechanisms involved in biological control of fusarium wilt of cucumber with strains of nonpathogenic *Fusarium oxysporum*, *Phytopathology* 8: 462-469.
- MESSIAEN C.M. & CASSINI R., 1968 — Recherches sur les fusarioses IV — La systématique des *Fusarium*, *Epiphyties* 19 (3): 387-454.
- PALLERONI N. J., 1984 — Pseudomonaceae, in: WILLIAMS, WILKINS (Eds), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Baltimore, Londres, pp. 141-199.
- ROUXEL F., 1978 — Etude de la résistance microbiologique des sols aux fusarioses vasculaires. Application aux sols de la base vallée de la Durance. Thèse Doctorat Fac. Sci. Dijon.
- ROUXEL F., ALABOUVETTE C. & LOUVET J., 1979 — Recherches sur la résistance des sols aux maladies: IV — Mise en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon, *Ann. Phytopathol.* 11 (2): 199-207.
- SCHER M. & BAKER R., 1980 — Mechanisms of biological control in a Fusarium — suppressive soil, *Phytopathology* 70: 412-417.
- SCHER M. & BAKER R., 1982 — Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to fusarium wilt pathogens, *Phytopathology* 72: 1567-1573.
- SCHIPPERS B., 1992 — Prospects for management of natural suppressiveness to control soil-borne pathogens, in: TJAMOS E. C., PAPAIVIZAS G. C., COOK R. J. (Eds), *Biological Control of Plant Diseases*, Plenum Press, New York, 462 p.

- SMITH S. N. & SNYDER W.C., 1971 — Relationship of inoculum density and soil types to severity of fusarium wilt of sweet potato, *Phytopathology* 61: 1049-1051.
- SY A. A., ALBERTINI L. & MOLETTI M., 1991 — Mécanismes potentiels régissant le contrôle biologique des agents phytopatogènes, *Cryptogamie, Mycol.* 12 (2): 133-147.
- TAMIETTI G. & ALABOUVETTE C., 1986 — Résistance des sols aux maladies: XIII — Rôle des *Fusarium oxysporum* non pathogènes dans les mécanismes de résistance d'un sol de Noirmoutier aux fusarioses vasculaires, *Agronomie* 6: 541-548
- TAMIETTI G. & PRAMOTTON R., 1990 — La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires: rapport entre résistance et microflore autochtone avec référence particulière aux *Fusarium* non pathogènes, *Agronomie* 10: 69-76.
- VAN PEER R., NIEMAN G.N. & SCHIPPERS B., 1991 — Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt in carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r, *Phytopathology* 81: 728-734.
- WELLER D.M., RAAIJMAKERS J.M., MC SPADDEN GARDENER B. B. & THOMASHOW L. S., 2002 — Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens, *Ann. Rev. Phytopathol.* 40: 309-348.