

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
—
**INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE**
—
COURBEVOIE
—

①1 N° de publication : **3 111 521**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **20 06382**

⑤1 Int Cl⁸ : **A 01 N 63/38** (2019.12), A 01 P 3/00, A 01 P 21/00,
A 01 H 5/10

⑫

BREVET D'INVENTION

B1

⑤4 NOUVEL AGENT DE BIOCONTROLE ET SON UTILISATION POUR LA LUTTE CONTRE DES
MALADIES FONGIQUES DE PLANTES.

②2 Date de dépôt : 18.06.20.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public
de la demande : 24.12.21 Bulletin 21/51.

④5 Date de la mise à disposition du public du
brevet d'invention : 08.12.23 Bulletin 23/49.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche :

Se reporter à la fin du présent fascicule

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

○ Demande(s) d'extension :

⑦1 Demandeur(s) : *AGRO INDUSTRIE RECHERCHES
ET DEVELOPPEMENTS A.R.D. Société Anonyme —
FR et RITMO AGROENVIRONNEMENT Association
— FR.*

⑦2 Inventeur(s) : *LEPORINI Sophie, BELLOY Christian,
NASSR Najat et LANGENFELD NARDIN Aude.*

⑦3 Titulaire(s) : *AGRO INDUSTRIE RECHERCHES ET
DEVELOPPEMENTS A.R.D. Société Anonyme,
RITMO AGROENVIRONNEMENT Association.*

⑦4 Mandataire(s) : *GROSSET-FOURNIER &
DEMACHY.*

FR 3 111 521 - B1



Description

Titre de l'invention : NOUVEL AGENT DE BIOCONTROLE ET SON UTILISATION POUR LA LUTTE CONTRE DES MALADIES FONGIQUES DE PLANTES

DOMAINE DE L'INVENTION

[0001] La présente invention concerne un nouvel agent de biocontrôle et son utilisation pour la lutte contre des maladies fongiques de plantes.

ART ANTERIEUR

[0002] La fonte de semis (également appelée pourriture des racines) est une maladie des plantes causée notamment par l'agent pathogène *Pythium spp.* (champignon). L'un des principaux symptômes visibles est un pourrissement des jeunes pousses en cours de germination. En agissant sur l'émergence de la plante, cette maladie complexe permet ainsi l'installation d'autres champignons phytopathogènes comme *Phytophthora spp.* ou *Rhizoctonia spp.*, eux-mêmes responsables de la fonte de semis. La fonte du semis, laquelle touche entre autres, la culture de la tomate (famille des Solanacées), de la pomme de terre (famille des Solanacées), de la betterave (famille des Amaranthacées) et du soja (famille des Fabacées), constitue de ce fait un problème agronomique majeur à la fois en serre de culture et en plein champ, avec des conséquences économiques élevées.

[0003] Le genre *Pythium spp.* est représenté par plus de 130 espèces parmi lesquelles peuvent être citées : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*. Le genre *Rhizoctonia spp.*, également responsable du rhizoctone brun, est quant à lui représenté par plus d'une vingtaine d'espèces parmi lesquelles peuvent être citées : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*.

[0004] Ces deux genres (*Pythium* et *Rhizoctonia*) ont des habitats très variés (environnements terrestres ou aquatiques, sols cultivés ou jachères, etc.) et ont une forte diversité d'hôtes. C'est pourquoi ils sont mondialement connus pour être des pathogènes généralistes qui peuvent causer des dégâts étendus et dévastateurs des systèmes racinaires et sont connus pour être extrêmement difficile à contrôler et à éradiquer.

[0005] Même si des fongicides ont montré des résultats positifs pour contrôler la fonte de

semis causée par *Pythium spp.* et/ou *Rhizoctonia spp.*, la phytotoxicité de ces produits et les éventuels résidus sont de réels problèmes induisant un impact environnemental et des risques pour la santé humaine. L'apparition de résistance à ces molécules est également un problème.

[0006] Dans un souci de respect de l'environnement, il a alors été développé des moyens de lutte biologique naturelle à l'aide de microorganismes. Cette dernière, également appelée lutte microbiologique directe, consiste à introduire des antagonistes microbiens spécifiques dans le sol ou sur le matériel végétal. Ces antagonistes, également appelés agents de lutte biologique ou BCA (*Biological Control Agent*), peuvent interférer avec la croissance et/ou la survie des agents pathogènes permettant ainsi de les contrôler. Pour ce faire, les agents de lutte biologique ou BCA peuvent contrôler les pathogènes cibles grâce à un ou plusieurs modes d'action :

- [0007] – la compétition, laquelle peut avoir lieu entre le BCA et l'agent pathogène pour l'oxygène, pour l'espace, ou encore pour les nutriments ;
- l'antibiose, laquelle correspond aux interactions impliquant au moins un composé diffusible de faible masse moléculaire ou un antibiotique produit par un microorganisme qui inhibe la croissance d'un autre microorganisme;
- le parasitisme et la production d'enzymes hydrolytiques et/ou de métabolites antibiotiques au détriment d'un autre organisme hôte ; et/ou
- l'induction de résistance chez la plante hôte (« élicitation ») à l'image des bactéries de la rhizosphère, connues sous le nom de PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), lesquelles sont capables d'induire chez la plante une résistance systémique induite (ISR, *Induced Systemic Resistance*) qui permet d'accroître la résistance aux pathogènes grâce à un phénomène de potentialisation (ou *priming*), qui correspond à un état de veille permettant une réponse immunitaire plus rapide et plus intense de la plante.

[0008] Le genre *Trichoderma* comprenant diverses espèces de champignons susceptibles d'être des agents de biocontrôle, leur mode d'action a fait l'objet de nombreux travaux. Depuis, le genre *Trichoderma* est connu pour son activité de biocontrôle vis-à-vis des agents pathogènes telluriques (vivants dans le sol) mais avec une faible compétitivité au niveau de la rhizosphère des plantes (zone sol-racine).

BREF APERÇU

[0009] Dans ce contexte de lutte contre des maladies fongiques, telles que la fonte de semis et/ou le rhizoctone brun, un premier but de l'invention consiste donc à la mise à disposition d'une souche efficace et son utilisation comme un agent de lutte biologique (ou agent de biocontrôle). Un second but de l'invention est de fournir des compositions phytosanitaires pour la prévention et/ou le traitement de maladies fongiques de végétaux. Un troisième but de l'invention est également de fournir des compositions

phytosanitaires d'enrobage où, en association avec une semence de plante, la souche de l'invention est utilisée comme un agent d'accélération de la germination de ladite semence. Un autre but de l'invention est la mise à disposition des procédés permettant de fabriquer lesdites compositions et de mettre en œuvre la prévention et/ou le traitement de maladies fongiques de végétaux, et l'accélération de la germination.

DESCRIPTION DETAILLEE

- [0010] Selon un premier aspect de l'invention, celle-ci a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants. De manière surprenante, cette souche de *Trichoderma atroviride* TAL-17 développée par les inventeurs possède d'excellentes propriétés stimulatrices de croissance, des propriétés antagonistes utiles en agriculture ainsi qu'une grande stabilité en matière de viabilité. De fait, elle constitue un agent de biocontrôle idéal pour lutter efficacement contre des maladies fongiques de plantes telles que la fonte de semis et/ou le rhizoctone brun.
- [0011] Par « souche isolée », on entend la culture d'un microorganisme unique qui a été isolée à partir de différents microorganismes présents sur et/ou dans les tissus d'un fragment de feuille de blé cultivé en champs.
- [0012] Par « un de ses mutants », on entend des souches mutantes obtenues par mutations ou manipulations génétiques d'une souche de référence, laquelle dans le contexte de l'invention est la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333. Ces mutants conservent toutefois les mêmes propriétés physiologiques que la souche de référence voire peuvent présenter des propriétés physiologiques améliorées (e.g. amélioration des capacités de biocontrôle). Aussi, un des objets de l'invention concerne une souche isolée de *Trichoderma atroviride*, ladite souche isolée étant une souche mutante de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333.
- [0013] Par ailleurs et aux fins de l'Invention, il est entendu que les expressions « la souche de l'invention », « la souche isolée de l'invention », « la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention », « la souche isolée TAL-17 et/ou un de ses mutants », « la souche de l'invention et/ou un de ses mutants » et « la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention et/ou un de ses mutants » sont interchangeable et désignent toutes la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants. De plus, par « la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 [...] et/ou un de ses mutants », on entend que l'invention concerne soit la souche isolée TAL-17, soit un de ses mutants, soit la souche TAL-17 en combinaison avec un de ses mutants. L'ensemble de ces

souches (*i.e.* TAL-17 et ses mutants), peuvent par ailleurs être facilement identifiées *via* la méthode dite de *Polymerase Chain Reaction* en temps réel (qPCR). Les inventeurs ont en effet développé des outils spécifiques de celles-ci à savoir, une sonde TaqMan® GS285741-P1 et un couple d'amorces nucléotidiques associé GS285741-F1 et GS285741-R1 (*cf.* Tableau 1), lesquelles permettent d'amplifier une séquence spécifique aux souches de l'invention (*cf.* Tableau 2).

[0014] [Tableaux1]

Nom	Séquence	SEQ ID NO :	Tm (°C)
GS285741-F1	CGA-ATG-CCA-GAC-GAA-TCA-ATC	1	47,3
GS285741-R1	AAC-GAG-ACT-TGA-CAG-TAG-CG	2	60,0
GS285741-P1	FAM-ACG-GCG-TAT-ATT-GTT-GAC-AAA-CAA-GAT-GC-MGB	3	

[0015] **Tableau 1 : Amorces nucléotidiques (F1 et R1) et Sonde TaqMan® (P1)**

[0016] FAM : 6-carboxyfluorescéine, MGB : minor groove binder

[0017] [Tableaux2]

Nom	Séquence	SEQ ID NO :
Del11_285741 <u>Ins</u> (251-264)	GCAATAACTGCTCGTATTACTCCAGAAAAAGGGG CAAGTCTATCAACAGCCGCCGCTGCCAAGAATAC GGGCTGGTCCTAGTTCAAATTGTTTCATCGTCGCTT GGTGCTGCGTAGTCTTGAGCTAAATGTTTACCCAA TTCTCAAACGCTTGGCAGATAAATTTTATTATTTA CCCTAGAATATGGTCATTGGCGAATGCCAGACGA <u>ATCAATCTGGATGATGCCTTCAACAGATGGCCATG</u> <u>CATCTTGTTTGTCAACAATATACGCCGTTGATGGG</u> <u>GCGCTACTGTCAAGTCTCGTTTTGATACTCTAGTT</u> TCTCTCTCGTGATATATCAGCCGCCACCTTATGTA AAACAGCCTGCATCAATTCTCCAAATTGACATTGT TGTATAAAGAGGAAGGCGCTCATAGATGCTATAC ATCATGATTAACAAAGGTTATTTACTACAATTCTT CTTGTTATGCTCGCAATTCTCTACTTCTGATGGAA TGTCCACGTGCGTAGCTTGTGTAGTACT	4

[0018] **Tableau 2 : Séquence cible des oligonucléotides et de la sonde TaqMan® chez la souche TAL-17 et/ou ses mutants**

- [0019] Selon ce même aspect, l'invention a également pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus et/ou un de ses mutants sous forme de spores, lesdites spores étant produites par fermentation en milieu solide ou liquide et pouvant être sous forme purifiée ou dans la matrice de production, ladite matrice de production étant solide ou liquide.
- [0020] Par « sous forme de spores », on entend sous forme de conidiospores ou chlamydospore, (plus particulièrement conidiospores) assurant la fonction de multiplication asexuée chez le champignon.
- [0021] Par « fermentation en milieu solide (FMS) », on entend tout procédé permettant le développement du micro-organisme à la surface et/ou à l'intérieur d'une matrice de production poreuse solide et humidifiée, en absence d'eau libre.
- [0022] Par « fermentation liquide », on entend tout procédé permettant le développement du micro-organisme à l'aide d'une matrice de production avec présence d'eau libre.
- [0023] Par « matrice de production », on entend tout substrat naturel et/ou synthétique, qui permet le développement du micro-organisme et induit la production de biomasse, et/ou d'enzymes, et/ou de métabolites primaires et/ou secondaires. Des exemples de familles d'enzyme ou d'enzyme produites par le champignon sont des protéases, des chitinases et la *bêta*-1,3-glucanase.
- [0024] Par « spores [...] sous forme purifiées », on entend les spores concentrées suite à l'élimination de la majeure partie du reste de la matrice après production n'ayant pas servi à la formation des spores, avec l'aide d'un procédé de tamisage par exemple.
- [0025] Par « spores [...] dans la matrice de production », on entend les spores restées dans la matrice de production à l'issue du procédé de fabrication, sans étape de purification.
- [0026] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique.
- [0027] Par « agent de lutte biologique », on entend qu'une souche de *Trichoderma atroviride* selon l'invention peut interférer avec la croissance et/ou la survie des agents pathogènes permettant ainsi de les contrôler et ce, via l'un ou plusieurs des modes d'action décrits précédemment (e.g. via le développement de sa biomasse et/ou sa production d'enzymes et/ou de métabolites secondaires). Par exemple, un des moyens de mettre en évidence qu'une souche de *Trichoderma atroviride* selon l'invention est un agent de lutte biologique est la réalisation d'un test *Dual culture* sur milieu de culture en boîte de Pétri. Plus précisément par « test *Dual culture* », on entend un test sur boîte de Pétri en laboratoire sur milieu de culture, où la souche du microorganisme, agent de lutte biologique, et la souche du pathogène sont mises en culture sur la même

boîte afin d'observer l'effet d'une souche sur une autre au cours du temps et *vice versa*.

- [0028] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent antifongique de végétaux.
- [0029] Par « agent antifongique de végétaux », on entend qu'une souche de *Trichoderma atroviride* selon l'invention est capable de lutter contre les champignons phytopathogènes. Par exemple, un des moyens de mettre en évidence qu'une souche de *Trichoderma atroviride* selon l'invention est un agent antifongique de végétaux est la réalisation d'un test *Dual culture*.
- [0030] Il convient notamment de noter que parmi les champignons phytopathogènes contre lesquels une souche de *Trichoderma atroviride* selon l'invention a un véritable effet inhibiteur on retrouve divers champignons telluriques responsables de la fonte des semis comme les champignons des genres *Pythium* (e.g. *P. ultimum*), *Rhizoctonia* (e.g. *R. solani*), *Alternaria* (e.g. *A. dauci* notamment chez la carotte), *Fusarium* (e.g. *F. culmorum* notamment chez les céréales et *F. oxysporum* notamment chez la tomate) et *Phoma* (e.g. *P. exigua* notamment chez la pomme de terre). Selon un autre mode de réalisation, l'invention a donc pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0031] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma*.
- [0032] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0033] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux :
- [0034] – du genre *Pythium spp.*, ledit champignon pathogène appartenant notamment à une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,
- [0035] et en particulier ledit champignon pathogène étant *P. ultimum* ;
- [0036] et/ou
- [0037] – du genre *Rhizoctonia spp.*, ledit champignon pathogène appartenant notamment à une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R.*

oryzae-sativae, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,

- [0038] et en particulier ledit champignon pathogène étant *R. solani*.
- [0039] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0040] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux du genre *Pythium spp.*,
- [0041] ledit champignon pathogène appartenant notamment à une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,
- [0042] et en particulier ledit champignon pathogène étant *P. ultimum*.
- [0043] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0044] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux du genre *Rhizoctonia spp.*,
- [0045] ledit champignon pathogène appartenant notamment à une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,
- [0046] et en particulier ledit champignon pathogène étant *R. solani*.
- [0047] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0048] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux :
- [0049] – du genre *Pythium spp.*, ledit champignon pathogène étant *P. ultimum* ; et/ou
– du genre *Rhizoctonia spp.*, ledit champignon pathogène étant *R. solani*.
- [0050] Avantagement, l'invention a pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0051] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux du genre *Pythium spp.*, ledit champignon pathogène étant *P. ultimum*.

- [0052] Avantageusement, l'invention a également pour objet la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention telle que décrite ci-dessus en tant qu'agent de lutte biologique,
- [0053] en particulier en tant qu'agent antifongique de végétaux dirigé contre un champignon pathogène pour végétaux du genre *Rhizoctonia spp.*, ledit champignon pathogène étant *R. solani*.
- [0054] Selon un deuxième aspect de l'invention, celle-ci a pour objet l'utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* dans la prévention et/ou le traitement d'infection chez un végétal provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma*,
- [0055] ladite souche isolée de *Trichoderma atroviride* étant la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants.
- [0056] En particulier, l'invention a pour objet l'utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* dans la prévention et/ou le traitement d'infection chez un végétal provoquée par un champignon pathogène du genre *Pythium spp.* et/ou du genre *Rhizoctonia spp.*,
- [0057] ladite souche isolée de *Trichoderma atroviride* étant la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants.
- [0058] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention (*i.e.* la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants), dans laquelle ledit champignon pathogène appartient à :
- [0059] – une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,
- [0060] et en particulier appartient à l'espèce *P. ultimum* ;
- [0061] et/ou
- [0062] – une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,
- [0063] et en particulier appartient à l'espèce *R. solani*.
- [0064] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,
- [0065] dans laquelle ledit champignon pathogène appartient au genre *Pythium spp.* et à une

espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,

[0066] et en particulier ledit champignon pathogène est *P. ultimum*.

[0067] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,

[0068] dans laquelle ledit champignon pathogène appartient au genre *rhizoctonia spp.* et à une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlia*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,

[0069] et en particulier ledit champignon pathogène est *R. solani*.

[0070] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et/ou *R. solani*.

[0071] Avantagement, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit champignon pathogène est *P. ultimum*. Avantagement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit champignon pathogène est *R. solani*.

[0072] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,

[0073] dans laquelle ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées,

[0074] en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,

[0075] et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

[0076] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,

[0077] dans laquelle ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,

[0078] en particulier ledit végétal étant *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

- [0079] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,
- [0080] dans laquelle ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0081] Avantageusement, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave). Avantageusement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate). Avantageusement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre). Avantageusement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit végétal est *Glycine max* (soja).
- [0082] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et/ou *R. solani*
- [0083] et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0084] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,
- [0085] dans laquelle ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0086] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention,
- [0087] dans laquelle ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0088] Avantageusement, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle :
- [0089] – ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave) ; ou
- ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate) ; ou
- ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre) ; ou
- ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est et/ou *Glycine*

- max* (soja) ; ou
- ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Glycine max* (soja).
- [0090] Selon un troisième aspect, l'invention a pour objet l'utilisation d'une composition phytosanitaire dans la prévention et/ou le traitement chez un végétal d'infection provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma*, ladite composition phytosanitaire comprenant :
- [0091] – la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
- les métabolites émis lors de la production la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
 - la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de sa production en tant que principe actif ; ou
 - la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif ; ou
 - la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de la production de la souche en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif.
- [0092] En particulier, l'invention a pour objet l'utilisation d'une composition phytosanitaire dans la prévention et/ou le traitement chez un végétal d'infection provoquée par un champignon pathogène du genre *Pythium spp.* et/ou du genre *Rhizoctonia spp.*, ladite composition phytosanitaire comprenant :
- [0093] – la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou

- les métabolites émis lors de la production la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de sa production en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de la production de la souche en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif.

[0094] Par « métabolites émis lors de la production de la souche » ou « ses métabolites émis lors de sa production », on entend toute molécule produite par la souche de l'invention et/ou un de ses mutants au cours de son développement. Par exemple et de manière non limitative, de tels métabolites peuvent être des enzymes produites par le champignon telles que des protéases, des chitinases et la *bêta*-1,3-glucanase.

[0095] Par « agent de lutte biologique », on entend un microorganisme pouvant interférer avec la croissance et/ou la survie des agents pathogènes permettant ainsi de les contrôler. La souche de l'invention TAL-17 (déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333) en est un exemple, mais au sens de l'invention il s'agit ici de combiner la souche de l'invention et/ou un de ses mutants à au moins un autre agent de lutte biologique, lequel est donc différent de la souche de l'invention et/ou un de ses mutants.

[0096] Par « au moins un autre agent de lutte biologique », on entend que la composition phytosanitaire de l'invention peut contenir 2 agents de lutte biologique (celui de l'invention et un autre), tout comme elle peut en contenir 3, 4 ou 5 (celui de l'invention et 2, 3 ou 4 autres).

[0097] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la composition phytosanitaire susmentionnée, ladite composition phytosanitaire se présentant à la base (à l'achat) sous la forme d'une composition solide ou liquide concentrée. Une telle composition solide ou liquide concentrée peut être, par exemple, obtenue grâce à une formulation particulière des spores de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention et/ou un de ses mutants produites par fermentation en milieu solide ou liquide, lesdites spores pouvant être sous forme purifiée ou dans la matrice de production, ladite matrice de production étant solide ou

liquide.

- [0098] Par « composition [...] concentrée », on entend une composition dans laquelle la concentration du principe actif (*i.e.* la souche de l'invention et/ou un de ses mutants, lesquels peuvent être sous forme de spores) est supérieure à une quantité efficace de 10^7 spores/g de composition solide ou liquide concentrée soit 10^7 UFC/g (UFC= unité f ormant c olonie) de composition solide ou liquide concentrée. Aussi, un autre objet particulier de l'invention concerne l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la composition phytosanitaire susmentionnée, ladite composition phytosanitaire se présentant sous la forme d'une composition solide ou liquide concentrée dans laquelle la concentration du principe actif est supérieure à une quantité efficace de 10^7 spores/g.
- [0099] Par « supérieure à une quantité efficace de 10^7 spores/g », on entend également supérieure à une quantité efficace de 10^8 spores/g, supérieure à une quantité efficace 10^9 spores/g, supérieure à une quantité efficace 10^{10} spores/g, supérieure à une quantité efficace 10^{11} spores/g ou supérieure à une quantité efficace 10^{12} spores/g.
- [0100] L'utilisateur de la susdite composition doit alors, avant son utilisation, l'incorporer dans un milieu solide (*e.g.* terreau, *etc.*) ou la mettre en suspension dans un milieu aqueux (*e.g.* eau) pour obtenir une composition diluée comprenant une quantité efficace de 10^4 à 10^{12} spores de la souche *Trichoderma atroviride* de l'invention et/ou un de ses mutants par gramme de milieu solide ou de milieu aqueux (spores/g). La composition, solide ou liquide, diluée obtenue peut alors être épandue sur les plantes dont la prévention et/ou le traitement d'une maladie fongique de plante est souhaité.
- [0101] Au sens de l'Invention, l'épandage de la susdite composition comprend notamment les techniques d'épandage classiques connues de l'Homme du métier, lesquelles servent à répandre sur une zone à traiter des matières solide (*e.g.* boues d'épuration, fumier, *etc.*) ou liquide (*e.g.* pesticides, *etc.*) présentant un intérêt agronomique.
- [0102] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la composition phytosanitaire susmentionnée, ladite composition phytosanitaire comprenant une quantité efficace de 10^4 à 10^{12} spores/g (de composition phytosanitaire), plus particulièrement de 10^7 à 10^9 spores/g (de composition phytosanitaire),
- [0103] ladite composition phytosanitaire étant éventuellement obtenue après une étape de préparation (*e.g.* dilution par mise en suspension ou mélange) la rendant prête à l'épandage.
- [0104] Par « quantité efficace de spores/g », on entend le nombre de spores capables de former une colonie sur milieu de culture par g (gramme) de produit. De plus, l'expression « de 10^4 à 10^{12} spores/g » peut également signifier de 10^4 à 10^5 spores/g, de 10^4 à 10^6 spores/g, de 10^4 à 10^7 spores/g, de 10^4 à 10^8 spores/g, de 10^4 à 10^9 spores/g, de 10^4 à 10^{10} spores/g, de 10^4 à 10^{11} spores/g, de 10^5 à 10^6 spores/g, de 10^5 à 10^7 spores/g,

g, de 10^5 à 10^8 spores/g, de 10^5 à 10^9 spores/g, de 10^5 à 10^{10} spores/g, de 10^5 à 10^{11} spores/g, de 10^5 à 10^{12} spores/g, de 10^6 à 10^7 spores/g, de 10^6 à 10^8 spores/g, de 10^6 à 10^9 spores/g, de 10^6 à 10^{10} spores/g, de 10^6 à 10^{11} spores/g, de 10^6 à 10^{12} spores/g, de 10^7 à 10^8 spores/g, de 10^7 à 10^9 spores/g, de 10^7 à 10^{10} spores/g, de 10^7 à 10^{11} spores/g, de 10^7 à 10^{12} spores/g, de 10^8 à 10^9 spores/g, de 10^8 à 10^{10} spores/g, de 10^8 à 10^{11} spores/g, de 10^8 à 10^{12} spores/g, de 10^9 à 10^{10} spores/g, de 10^9 à 10^{11} spores/g, de 10^9 à 10^{12} spores/g, de 10^{10} à 10^{11} spores/g, de 10^{10} à 10^{12} spores/g ou de 10^{11} à 10^{12} spores/g.

[0105] Selon un autre mode de réalisation, l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la composition phytosanitaire susmentionnée, dans laquelle ledit champignon pathogène appartient à :

[0106] – une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,

[0107] et en particulier appartient à l'espèce *P. ultimum* ;

[0108] et/ou

[0109] – une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,

[0110] et en particulier appartient à l'espèce *R. solani*.

[0111] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la composition phytosanitaire susmentionnée, dans laquelle ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées,

[0112] en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,

[0113] et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

[0114] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la composition phytosanitaire susmentionnée, dans laquelle ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et/ou *R. solani*,

[0115] et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

[0116] Avantagusement, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de

la composition phytosanitaire susmentionnée, dans laquelle :

- [0117] – ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est et/ou *Glycine max* (soja) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre) ; ou
 - ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Glycine max* (soja).
- [0118] Alternativement, l'invention a pour objet la composition phytosanitaire telle que décrite ci-dessus pour son utilisation dans la prévention et/ou le traitement d'infection chez un végétal provoquée par un champignon pathogène du genre *Pythium spp.* et/ou *Rhizoctonia spp.* A cet égard, l'ensemble des utilisations particulières citées ci-dessus s'applique à cette alternative.
- [0119] Selon un quatrième aspect, l'invention a donc pour objet l'utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* pour favoriser la germination d'une semence de végétaux, ladite souche isolée de *Trichoderma atroviride* étant la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants
- [0120] et dans laquelle ladite semence de végétaux appartient à un végétal d'une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées,
- [0121] en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,
- [0122] et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0123] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention (*i.e.* la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333

- et/ou un de ses mutants),
- [0124] dans laquelle ladite semence de végétaux appartient à un végétal d'une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,
- [0125] et en particulier ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0126] Avantageusement, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ladite semence de végétaux appartient au végétal *Beta vulgaris* (betterave). Avantageusement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ladite semence de végétaux appartient au végétal *Solanum lycopersicum* (tomate). Avantageusement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ladite semence de végétaux appartient au végétal *Solanum tuberosum* (pomme de terre). Avantageusement, l'invention a également pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus de la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention, dans laquelle ladite semence de végétaux appartient au végétal *Glycine max* (soja).
- [0127] Concernant cet aspect particulier, il convient de noter que l'aide à la germination permet avantageusement et en même temps la prévention et/ou le traitement de maladies fongiques au moment du semis. Le développement d'une maladie après le semis est ainsi évité et le rendement est optimisé *via* l'aspect biostimulant de la souche de l'invention.
- [0128] Avantageusement, cet aspect permet également d'éviter un ralentissement important du développement de la culture si quelques temps après le semis une période de sécheresse se présente (ce qui peut arriver au printemps) et donc d'éviter des pertes de rendements à la récolte. De même, l'effet biocontrôle de la souche de l'invention (*i.e.* souche TAL-17 et/ou un de ses mutants) en permettant à la plante de germer rapidement et sans que son métabolisme ne soit affecté par la défense contre le pathogène, ses ressources sont entièrement dédiées à sa croissance. Physiologiquement, la plante est ainsi avantageusement plus résistante à des attaques de (phyto-) pathogènes ultérieures.
- [0129] En conséquence, on comprend qu'un des objets de l'invention concerne une composition phytosanitaire d'enrobage comprenant la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention et/ou un de ses mutants, et éventuellement au moins un agent de fixation, ladite composition phytosanitaire d'enrobage permettant de produire une semence enrobée. L'invention a donc pour objet aussi bien une composition phytosanitaire d'enrobage comprenant la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention et/ou un de ses mutants, ladite composition phytosanitaire d'enrobage

permettant de produire une semence enrobée ; qu'une composition phytosanitaire d'enrobage comprenant la souche isolée de *Trichoderma atroviride* de l'invention et/ou un de ses mutants, et au moins un agent de fixation, ladite composition phytosanitaire d'enrobage permettant de produire une semence enrobée.

- [0130] On comprend également qu'un autre des objets de l'invention concerne l'utilisation d'une composition phytosanitaire (d'enrobage) pour favoriser la germination d'une semence de végétaux. En particulier, l'invention a pour objet l'utilisation telle que décrite ci-dessus d'une des compositions phytosanitaires de l'invention (*cf. supra*). Alternativement, cet objet de l'invention concerne une composition phytosanitaire (d'enrobage) pour favoriser la germination d'une semence de végétaux.
- [0131] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a également pour objet une semence enrobée comprenant une graine de végétal, ladite graine de végétal étant enrobée par une composition phytosanitaire d'enrobage comprenant la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants, et éventuellement au moins un agent de fixation,
- [0132] dans laquelle ladite graine de végétal appartient à un végétal d'une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées,
- [0133] en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,
- [0134] et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0135] Par « semence enrobée », on entend une graine sélectionnée pour être semée, ladite graine ayant subi un traitement particulier lequel a permis son enrobage dans une composition phytosanitaire d'enrobage.
- [0136] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la semence enrobée telle que décrite ci-dessus, ladite semence enrobée comprenant une quantité efficace de 10^5 à 10^8 (ou de 10^6 à 10^7) spores/semence enrobée, préférentiellement 10^6 (ou 10^7) spores/semence enrobée.
- [0137] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet la semence enrobée telle que décrite ci-dessus, dans laquelle ladite graine de végétal appartient à un végétal d'une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,
- [0138] et en particulier ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0139] Avantageusement, l'invention a pour objet la semence enrobée telle que décrite ci-dessus, dans laquelle ladite graine de végétal appartient au végétal *Beta vulgaris*

(betterave). Avantageusement, l'invention a également pour objet la semence enrobée telle que décrite ci-dessus, dans laquelle ladite graine de végétal appartient au végétal *Solanum lycopersicum* (tomate). Avantageusement, l'invention a également pour objet la semence enrobée telle que décrite ci-dessus, dans laquelle ladite graine de végétal appartient au végétal *Solanum tuberosum* (pomme de terre). Avantageusement, l'invention a également pour objet la semence enrobée telle que décrite ci-dessus, dans laquelle ladite graine de végétal appartient au végétal *Glycine max* (soja).

[0140] Selon autre aspect de l'invention, celle-ci a pour objet un procédé de protection et/ou de traitement d'un végétal contre une maladie provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma* ; en particulier un champignon pathogène du genre *Pythium spp.* et/ou du genre *Rhizoctonia spp.* ; comprenant l'application d'une composition phytosanitaire sur au moins une partie dudit végétal ou du sol à proximité dudit végétal. En particulier, l'invention a pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ladite au moins une partie dudit végétal est une feuille, un fruit, une graine.

[0141] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet un procédé de protection et/ou de traitement d'un végétal contre une maladie provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma* comprenant l'application d'une composition phytosanitaire sur au moins une partie dudit végétal ou du sol à proximité dudit végétal, ladite au moins une partie dudit végétal étant en particulier une feuille, un fruit, une graine,

[0142] ladite composition phytosanitaire comprenant :

- [0143] – la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
- les métabolites émis lors de la production la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de sa production en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de la production de la souche en association avec au moins

- un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif,
- [0144] et ledit végétal appartenant notamment à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valériacées,
- [0145] en particulier ledit végétal appartenant à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,
- [0146] et de préférence ledit végétal étant *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0147] En particulier, l'invention a pour objet un procédé de protection et/ou de traitement d'un végétal contre une maladie provoquée par un champignon pathogène du genre *Pythium spp.* et/ou du genre *Rhizoctonia spp.* comprenant l'application d'une composition phytosanitaire sur au moins une partie dudit végétal ou du sol à proximité dudit végétal, ladite au moins une partie dudit végétal étant en particulier une feuille, un fruit, une graine,
- [0148] ladite composition phytosanitaire comprenant :
- [0149] – la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
- les métabolites émis lors de la production la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de sa production en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et/ou un de ses mutants et ses métabolites émis lors de la production de la souche en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif,
- [0150] et ledit végétal appartenant notamment à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valériacées,
- [0151] en particulier ledit végétal appartenant à une famille choisie parmi : les Ama-

ranthacées, les Fabacées et les Solanacées,

[0152] et de préférence ledit végétal étant *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

[0153] Dans la mesure où cet aspect comprend l'application d'une composition phytosanitaire, laquelle a par ailleurs été décrite précédemment au travers d'une utilisation de celle-ci, il est important de noter que l'ensemble des caractéristiques particulières susmentionné s'applique à cet aspect. De fait, l'invention a notamment pour le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ladite composition phytosanitaire comprend une quantité efficace de 10^4 à 10^{12} spores/g (de composition phytosanitaire), plus particulièrement de 10^7 à 10^9 spores/g (de composition phytosanitaire),

[0154] ladite composition phytosanitaire étant éventuellement obtenue après une étape de préparation (*e.g.* dilution par mise en suspension ou mélange) la rendant prête à l'application (*e.g.* épandage).

[0155] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a donc pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ladite composition phytosanitaire est épandue

[0156] – à raison de 10 à 500 L/ha, en particulier de 50 à 250 L/ha, notamment pour la pulvérisation aérienne ; ou
– à raison d'une quantité efficace de 10^{10} à 10^{14} spores/ha, en particulier de 10^{10} à 10^{12} spores/ha, notamment pour les épandages aériens de type pulvérisation foliaire.

[0157] L'expression « de 10 à 500 L/ha (litre/hectare) » signifie également de 10 à 400 L/ha, de 10 à 300 L/ha, de 10 à 200 L/ha, de 10 à 100 L/ha, de 100 à 500 L/ha, de 200 à 500 L/ha, de 300 à 500 L/ha, de 400 à 500 L/ha, de 50 à 500 L/ha, de 50 à 250 L/ha ou de 250 à 500 L/ha. L'expression « de 10^{10} à 10^{14} spores/ha » signifie également de 10^{10} à 10^{11} spores/ha, de 10^{10} à 10^{12} spores/ha, de 10^{10} à 10^{13} spores/ha, de 10^{11} à 10^{12} spores/ha, de 10^{11} à 10^{13} spores/ha, de 10^{11} à 10^{14} spores/ha, de 10^{12} à 10^{13} spores/ha, de 10^{12} à 10^{14} spores/ha ou de 10^{13} à 10^{14} spores/ha.

[0158] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans laquelle ledit champignon pathogène appartient à :

[0159] – une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,

[0160] et en particulier appartient à l'espèce *P. ultimum* ;

[0161] et/ou

[0162] – une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R.*

leguminicola, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,

- [0163] et en particulier appartient à l'espèce *R. solani*.
- [0164] Par « *P. ultimum* », on entend l'agent pathogène responsable de la fonte de semis également appelée pourriture des racines ou pourriture due à *Pythium*. Par « *R. solani* », on entend l'agent pathogène responsable de la fonte de semis et/ou du rhizoctone brun.
- [0165] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées,
- [0166] en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées,
- [0167] et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0168] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et/ou *R. solani*
- [0169] et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [0170] Avantagement, l'invention a pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel :
- [0171] – ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave) ; ou
- ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate) ; ou
- ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre) ; ou
- ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et ledit végétal est et/ou *Glycine max* (soja) ; ou
- ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave) ; ou
- ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Solanum lycopersicum* (tomate) ; ou
- ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Solanum tuberosum* (pomme de terre) ; ou
- ledit champignon pathogène est *R. solani* et ledit végétal est *Glycine max*

(soja).

- [0172] Avantageusement, l'invention a également pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ladite maladie est la fonte de semis et/ou le rhizoctone brun. En particulier, l'invention a également pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ladite maladie est la fonte de semis, également appelée pourriture due à *Pythium*. En particulier, l'invention a également pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel ladite maladie est le rhizoctone brun.
- [0173] Selon un autre mode de réalisation, l'invention a pour objet le procédé tel que décrit ci-dessus, dans lequel
- [0174] – la protection dudit végétal comprend une étape d'enrobage de la semence avec ladite composition phytosanitaire ; et/ou
- la protection dudit végétal comprend une étape de pulvérisation de ladite composition phytosanitaire au moment du semis ou à la germination dudit végétal ; et/ou
- la protection dudit végétal comprend soit une application préventive au niveau du sol avant le semis de ladite composition phytosanitaire avec l'apport d'amendement organique, soit une application préventive au niveau du sol avant le semis de ladite composition phytosanitaire sur la culture précédente ; et/ou
- le traitement dudit végétal comprend une étape de pulvérisation de ladite composition phytosanitaire aux cours de différents stades phénologiques de la plante (en prévention d'un risque d'infection dudit champignon pathogène de l'ensemble ou une partie de la plante).
- [0175] Par « différents stades phénologiques », on entend de la graine jusqu'à la floraison (BBCH000 à BBCH619 selon l'échelle BBCH des stades phénologiques des légumes dans la famille des Solanacées (Feller *et al.*, 1995 - Phänologische entwicklungsstadien von gemüsepflanzen: II. Fruchtgemüse und hülsenfrüchte ; Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutz)).
- [0176] A tout égard, il convient de noter que les différents aspects de l'invention, tout comme les différents modes de réalisation de celle-ci sont interdépendants. Ces derniers peuvent donc être combinés entre eux à foison pour obtenir des aspects et/ou des modes de réalisation préférés de l'invention non explicitement décrits. Ceci est également valable pour l'ensemble des définitions fournies dans la présente description, lequel s'applique à tous les aspects de l'invention et ses modes de réalisation.
- [0177] En outre, la présente invention est illustrée, sans toutefois s'y limiter, par les Figures et Exemples suivants.

LISTE DES FIGURES

- [0178] [Fig.1]

- [0179] La [Fig.1] représente une illustration du test dit *Dual-culture* (A ; BCA = *Biological Control Agent*) et la mesure du diamètre de croissance de *P. ultimum* en présence (ligne grise du bas) ou non (ligne noire du haut) de la souche TAL-17 (B).
- [0180] [Fig.2]
- [0181] La [Fig.2] représente la mesure du diamètre de croissance de *R. solani* en présence (ligne grise du bas) ou non (ligne noire du haut) de la souche TAL-17.
- [0182] [Fig.3]
- [0183] La [Fig.3] représente des photographies de plantules de tomates suivant la classification des symptômes dus au pathogène *P. ultimum* selon une échelle de 0 à 5. Les plantes notées 0 sont saines, les plantes notées 5 sont mortes, les notations intermédiaires reflètent l'apparition des symptômes : feuilles jaunies, collet attaqué, plantule couchée.
- [0184] [Fig.4]
- [0185] La [Fig.4] représente l'observation des symptômes d'infection des plantules de tomates par *Pythium ultimum* après 21 jours de culture en présence ou non de TAL-17 et en comparaison à des témoins non infectés.
- [0186] [Fig.5]
- [0187] La [Fig.5] représente l'observation de la germination des graines de tomates en présence ou non de TAL-17 et en présence ou non de *Pythium ultimum*.
- [0188] [Fig.6]
- [0189] La [Fig.6] représente la mesure du diamètre de croissance de *A. dauci* en présence (ligne grise du bas) ou non (ligne noire du haut) de la souche TAL-17.
- [0190] [Fig.7]
- [0191] La [Fig.7] représente la mesure du diamètre de croissance de *F. culmorum* en présence (ligne grise du bas) ou non (ligne noire du haut) de la souche TAL-17.
- [0192] [Fig.8]
- [0193] La [Fig.8] représente la mesure du diamètre de croissance de *F. oxysporum f. sp. lycopersici* en présence (ligne grise du bas) ou non (ligne noire du haut) de la souche TAL-17.
- [0194] [Fig.9]
- [0195] La [Fig.9] représente la mesure du diamètre de croissance de *P. exigua* en présence (ligne grise du bas) ou non (ligne noire du haut) de la souche TAL-17.

EXEMPLES

- [0196] **(I) Isolement de la souche de *Trichoderma atroviride* TAL-17**
- [0197] Souche isolée d'une feuille de blé cultivé en champs.
- [0198] Le prélèvement de feuille de la culture du blé a été broyé puis mis au contact en infinement mélangé d'une gélose de PDA (*Potato Dextrose Agar*) à 50°C qui contient

des spores de *Fusarium graminearum*. La boîte a été mise en culture à 25°C sous hotte lumineuse. Ainsi seules les souches étant capables de se reproduire en présence de *Fusarium graminearum* se sont développées sur la boîte. Parmi ces souches TAL-17 était présente. Un prélèvement spécifique d'une zone présentant un intérêt dans la boîte et plusieurs repiquages successifs ont permis d'isoler la souche TAL-17, laquelle a ensuite été déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333.

[0199] **(II) Etude *in vitro* par test *Dual-culture* de l'efficacité de la souche TAL-17 sur le pythopathogène *Pythium ultimum***

Protocole

[0200] Plusieurs tests de *Dual-culture* (Figure 1A) avec la souche TAL-17 vs *P. ultimum* ont été réalisés en proximité sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*). On inocule 30 µL contenant 1.10⁴ spores/mL (sp/mL) de *P. ultimum* au centre d'une boîte de Pétri de 8,5 cm de diamètre, contenant du milieu PDA, et 30 µL contenant 1.10⁶ spores/mL de la souche TAL-17 à 2 cm de l'extrémité gauche et droite de la boîte de Pétri (voir Figure 1A). Les boîtes de Pétri ont été incubées à 23-27°C sous lumière artificielle (24h/24) (tube fluorescent F36WT8/2084 BriteGro®). Des observations macroscopiques ont été réalisées tous les jours après l'inoculation et le diamètre de croissance de *P. ultimum* est mesuré quotidiennement pendant 5 jours. Des témoins avec *P. ultimum* seul ont également été réalisés.

Résultats

[0201] Il est observé que la présence de la souche TAL-17 conduit à une inhibition de la croissance du pathogène *P. ultimum* de l'ordre de 50% par rapport au témoin après 5 jours de croissance (voir Figure 1B).

[0202] **(III) Etude *in vitro* par test *Dual-culture* de l'efficacité de la souche TAL-17 sur le pythopathogène *Rhizoctania solani***

Protocole

[0203] Plusieurs tests de *Dual-culture* ([Fig.2]) avec la souche TAL-17 vs *R. solani* ont été réalisés en proximité sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*). On inocule 30 µL contenant 1.10⁴ spores/mL (sp/mL) de *R. solani* au centre d'une boîte de Pétri de 8,5 cm de diamètre, contenant du milieu PDA, et 30 µL contenant 1.10⁶ spores/mL de la souche TAL-17 à 2 cm de l'extrémité gauche et droite de la boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 23-27°C sous lumière artificielle (24h/24) (tube fluorescent F36WT8/2084 BriteGro®). Des observations macroscopiques ont été réalisées tous les jours après l'inoculation et le diamètre de croissance de *R. solani* est mesuré quotidiennement pendant 5 jours. Des témoins avec *R. solani* seul ont également été réalisés.

Résultats

[0204] Il est observé que la présence de la souche TAL-17 conduit à une inhibition de la croissance du pathogène *R. solani* de l'ordre de 35% par rapport au témoin après 5 jours de croissance (voir [Fig.2]).

[0205] **(IV) Essai mené pour étudier l'effet biocontrôle de la souche TAL-17 sur le patho-système *Pythium ultimum*/tomate sur substrat de culture**

[0206] L'aptitude de la souche TAL-17 à limiter la contamination de plants de tomates par *Pythium ultimum* (*P. ultimum*) et l'apparition des symptômes associés a été vérifiée par un essai de culture en conditions contrôlées.

Mise en culture de *Pythium ultimum*

[0207] La souche a été mise en culture sur millet pendant 4 jours à 25°C. La souche est originaire du laboratoire : Eidgenössisches Departement für Wirtschaft, Bildung und Forschung WBF/Agroscope/Müller-Thurgau-Strasse 29, 8820 Wädenswil.

Mise en culture de la souche TAL-17

[0208] La souche a été mise en culture sur millet pendant 4 jours à 25°C. 250 g de millet ont été placés dans 100 mL d'eau. La concentration a été mesurée par observation sur cellule de Malassez. La concentration a été ajustée à 10⁸ spores/mL.

Mise en culture préalable du végétal

[0209] Les graines de tomates sont placées à germer en support de culture pendant 3 semaines dans une plaque de semis.

Modalités de l'essai

[0210] Six modalités ont été étudiées :

- [0211] – témoin négatif (sans pathogène et sans la souche TAL-17),
- témoin positif (sans pathogène et avec la souche TAL-17),
- patho dose 1 (D1),
- patho dose 2 (D2), et
- patho dose 2 (D2) + la souche TAL-17.

[0212] Chaque modalité est répétée 4 fois.

Lancement de l'essai

[0213] Le support de culture utilisé est de la tourbe Klassmann®. Chaque plante est placée dans un pot de 1,5 L. Celui-ci contient 400 g de substrat (1 L).

[0214] Le pathogène est apporté en mélange avec le substrat, deux doses sont testées : 20 g et 80 g de millet avec pathogène/L de substrat (respectivement modalités Patho D1 et Patho D2). Pour les modalités avec le pathogène, le poids de millet ajouté est soustrait de la quantité de substrat à ajouter. Les modalités sans pathogène ne contiennent que du substrat.

[0215] Pour chaque pot, le mélange substrat/millet est homogénéisé puis placé dans le pot. L'hydratation est effectuée par subirrigation. Un trou de plantation est préparé au

centre du pot. La plantule de tomate est sortie de la plaque de semis et placée dans le trou de plantation.

[0216] Pour la modalité concernée, la souche TAL-17 (= TAL) est apportée par apport de la solution liquide à 10^8 spores/mL au pied de la plantule (10 mL/pot).

[0217] La culture est effectuée en phytotron avec les consignes suivantes : 12h à l'obscurité à 20°C et 12h à la lumière à 23°C, le substrat est arrosé à 80% de la CR_{max} en eau.

Suivi des symptômes

[0218] Les symptômes ont été notés selon une échelle de 0 à 5. Les plantes notées 0 sont saines, les plantes notées 5 sont mortes, les notations intermédiaires reflètent l'apparition des symptômes : feuilles jaunies, collet attaqué, plantule couchée (voir [Fig.3]).

Résultats

[0219] Cette observation des degrés d'infection a été effectuée après 21 jours de culture (voir [Fig.4]).

[0220] La modalité témoin présente dans plantules en bonne santé, après 3 semaines seul un jaunissement des cotylédons est observé. Les plantules traitées avec la souche TAL-17 (= TAL) uniquement sont saines, avec un jaunissement des cotylédons comme dans la modalité témoin. L'apport du pathogène aux deux doses testées provoque l'apparition de symptômes forts, avec des plantules mortes dans les deux doses testées. L'effet dose semble limité. La modalité traitée à la fois avec le pathogène à la dose 2 (D2) et avec la souche TAL-17 présente des plantules en meilleure santé que la modalité avec le pathogène à la dose 2 (D2) sans la souche TAL-17.

[0221] Les grades d'infection ont été utilisés pour une analyse de variance (ANOVA 95%), laquelle est présentée dans le Tableau 3 ci-dessus. Un effet significatif est observé ($P\text{-value} = 0,0004$), les modalités sont les suivantes :

[0222] [Tableaux3]

Modalité	Moyenne	Groupe statistique
souche TAL-17	0,75	a
Témoin négatif	0,875	a
Patho dose 2 + souche TAL-17	1,5	a
Patho dose 1	3,5	b
Patho dose 2	4,5	b

[0223] **Tableau 3 : Analyse statistique Modalité Moyenne Groupe statistique**

Conclusion

[0224] Le traitement des plantules lors du repotage avec une solution de la souche TAL-17 a permis une limitation de l'apparition des symptômes d'infection par *Pythium*

ultimum sur plantules de tomate.

[0225] **(V) Essai mené pour étudier l'effet biocontrôle de la souche TAL-17 sur le patho-système *Pythium ultimum*/tomate lors de la germination des graines**

Protocole

[0226] L'objectif de cet essai est l'évaluation de l'efficacité de la souche TAL-17 sur la limitation de la fonte de semis sur des graines de tomates traitées avec *Pythium ultimum*.

[0227] Les modalités de l'essai sont les suivantes :

- [0228] 1. Eau + eau : Plants sains, « inoculés » avec de l'eau stérile,
 2. Eau + Pu : Plants non traités inoculés avec *P. ultimum*,
 3. Fong + Pu : Plants traités par un fongicide et inoculés avec *P. ultimum*,
 4. 2D1a + Pu : Plants traités par la souche TAL-17 à 10^6 UFC/mL puis inoculés avec *P. ultimum*, et
 5. 2D1b + Pu : Plants traités par la souche TAL-17 à 10^7 UFC/mL puis inoculés avec *P. ultimum*.

[0229] Les souches sont mises en culture sur PDA puis les boîtes sont utilisées pour préparer des solutions de spores.

[0230] Les graines sont trempées pendant 1h :

- [0231] – dans de l'eau pour les modalités 1 et 2,
 – dans les solutions de spores de la souche TAL-17 (BCA 2D1) pour les modalités 4 et 5,
 – dans une solution de fongicide pour la modalité 3 (Previcur ENERGY® : mélange fosétyl d'aluminium/propamocarbe).

[0232] Ensuite, les graines sont trempées dans une solution de spores de *Pythium ultimum* à une concentration de 10^7 spores/mL.

[0233] Après traitement, les graines sont placées ensemble dans du papier filtre qui est enroulé sur lui-même. Ces rouleaux sont placés dans de l'eau pour assurer une bonne hydratation des plantules tout au long de l'essai. Chaque modalité est représentée par 3 rouleaux de 5 graines. Après 15 jours de culture, les rouleaux sont déroulés pour une observation de la germination des graines.

Résultats

[0234] Après 15 jours, les rouleaux sont déroulés pour une notation de la germination des graines (% de graines germées) (voir [Fig.5]).

[0235] Les plants témoins traités avec *Pythium ultimum* et de l'eau présentent une germination plus basse que la modalité témoin sans *P. ultimum*. Le traitement fongicide a un effet positif sur la germination des graines. Le traitement avec la souche TAL-17 a un effet positif sur la germination aux deux concentrations testées.

[0236] **(VI) Essai de spécificité de la sonde TaqMan®-GS285741-P1 et du couple de**

primer associé GS285741-F1 et GS285741-R1 vis-à-vis de la souche de l'Invention (TAL-17 et/ou un de ses mutants)

Protocole

- [0237] Afin de tester la spécificité des outils moléculaires (sonde TaqMan® GS285741-P1 et le couple de primer associé GS285741-F1 et GS285741-R1), il a été mis en œuvre une analyse classique par *Polymerase Chain Reaction* en temps réel (qPCR) sur 3 souches distinctes, à savoir :
- [0238] – la souche *Trichoderma viride* de l'espèce *T. asperellum* (TV) ;
– la souche *Trichoderma atroviride* TAS ; et
– la souche *Trichoderma atroviride* de l'invention (TAL-17).
- [0239] Un étalon interne contrôle est également réalisé avec de l'ADN génomique extrait de la souche de l'invention, lequel a été dilué en série.
- [0240] L'ensemble des essais de qPCR ont été réalisés en utilisant un thermocycleur CFX 96 touch de Biorad®. Le programme d'amplification utilisé est celui recommandé par le fournisseur avec une température d'hybridation de 60°C. Pour la méthode TaqMan®, le mélange réactionnel Luna® universel Probe qPCR Master Mix (NEB®) a été utilisé. Le programme d'amplification est de 95°C 2 min suivi de 40X 95°C 15'' et 60°C 30''.

Résultats

- [0241] Les résultats de cette analyse sont présentés dans le Tableau 4 ci-après.

[0242] [Tableaux4]

Echantillon		Cq Mean (nombre de cycle d'amplification nécessaire pour obtenir un signal fluorescent caractéristique)
Etalon interne (5 ng) (dilution en série d'ADN génomique de la souche TAL- 17)	dilution 1	23,66
	dilution 2	26,84
	dilution 3	29,99
	dilution 4	33,36
	dilution 5	37,4
	dilution 6	38,28
	dilution 7	<i>N.D. (pas assez d'ADN)</i>
	dilution 8	<i>N.D. (pas assez d'ADN)</i>
Souche TV (5 ng)	puits 1	<i>N.D.</i>
	puits 2	<i>N.D.</i>
	puits 3	<i>N.D.</i>
Souche TAS (5 ng)	puits 1	<i>N.D.</i>
	puits 2	<i>N.D.</i>
	puits 3	<i>N.D.</i>
Souche TAL-17 (5 ng)	puits 1	21,46
	puits 2	21,46
	puits 3	21,46

[0243] **Tableau 4 : Détection spécifique par qPCR de la souche de l'Invention****Conclusion**

[0244] La sonde TaqMan® GS285741-P1 et le couple de primer associé GS285741-F1 et GS285741-R1 n'ont permis de détecter que la souche TAL-17. Ces outils permettent donc bien la détection et l'identification dans un échantillon de la présence de la souche de l'Invention TAL-17 et/ou un de ses mutants.

[0245] **(VII) Etude *in vitro* par test *Dual-culture* de l'efficacité de la souche TAL-17 sur d'autre pythopathogènes**

Protocole

[0246] Plusieurs tests de *Dual-culture* avec la souche TAL-17 vs *Alternaria dauci*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* et *Phoma exigua* ont été réalisés en proximité sur milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*). On inocule 30 µL contenant 1.10^4

spores/mL (sp/mL) de *Alternaria dauci*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* ou *Phoma exigua* au centre d'une boîte de Pétri de 8,5 cm de diamètre, contenant du milieu PDA, et 30 µL contenant 1.10^6 spores/mL de la souche TAL-17 à 2 cm de l'extrémité gauche et droite de la boîte de Pétri. Les boîtes de Pétri ont été incubées à 23-27°C sous lumière artificielle (24h/24) (tube fluorescent F36WT8/2084 BriteGro®). Des observations macroscopiques ont été réalisées tous les jours après l'inoculation et le diamètre de croissance de *Alternaria dauci*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* et *Phoma exigua* est mesuré quotidiennement. Des témoins avec *Alternaria dauci*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* et *Phoma exigua* seul ont également été réalisés.

Résultats

- [0247] Il est observé que la présence de la souche TAL-17 conduit à une inhibition de la croissance des pathogènes *Alternaria dauci*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* et *Phoma exigua* respectivement de l'ordre de 41%, 23%, 26% et 26% par rapport au témoin après 10 jours de croissance (voir Figures 6 à 9).

Revendications

[Revendication 1] Utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* dans la prévention et/ou le traitement d'infection chez un végétal provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma*, ladite souche isolée de *Trichoderma atroviride* étant la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333.

[Revendication 2] Utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* selon la revendication 1, dans laquelle ledit champignon pathogène appartient à :

- une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,

et en particulier appartient à l'espèce *P. ultimum* ;

et/ou

- une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*, *R. quercus*, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,

et en particulier appartient à l'espèce *R. solani*.

[Revendication 3] Utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées, en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées, et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

- [Revendication 4] Utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans laquelle ledit champignon pathogène est *P. ultimum* et/ou *R. solani* et ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).
- [Revendication 5] Utilisation d'une composition phytosanitaire dans la prévention et/ou le traitement chez un végétal d'infection provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma*, ladite composition phytosanitaire comprenant :
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 en tant que principe actif ; ou
 - la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif.
- [Revendication 6] Utilisation d'une composition phytosanitaire selon la revendication 5, ladite composition phytosanitaire comprenant une quantité efficace de 10^4 à 10^{12} spores/g, plus particulièrement de 10^7 à 10^9 spores/g, ladite composition phytosanitaire étant éventuellement obtenue après une étape de préparation la rendant prête à l'épandage.
- [Revendication 7] Utilisation d'une souche isolée de *Trichoderma atroviride* pour favoriser la germination d'une semence de végétaux, ladite souche isolée de *Trichoderma atroviride* étant la souche TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 et dans laquelle ladite semence de végétaux appartient à un végétal d'une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées, en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées, et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

- [Revendication 8] Semence enrobée comprenant une graine de végétal, ladite graine de végétal étant enrobée par une composition phytosanitaire d'enrobage, ladite graine de végétal appartient à un végétal d'une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées, et ladite composition phytosanitaire d'enrobage comprend :
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 en tant que principe actif, et éventuellement au moins un agent de fixation ; ou
 - la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif, et éventuellement au moins un agent de fixation,

en particulier ledit végétal appartient à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées, et de préférence ledit végétal est *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

- [Revendication 9] Semence enrobée selon la revendication 8, ladite semence enrobée comprenant une quantité efficace de 10^5 à 10^8 spores/semence enrobée, préférentiellement 10^6 spores/semence enrobée.

- [Revendication 10] Procédé de protection et/ou de traitement d'un végétal contre une maladie provoquée par un champignon pathogène choisi parmi les champignons des genres *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Fusarium* et *Phoma* comprenant l'application d'une composition phytosanitaire sur au moins une partie dudit végétal ou du sol à proximité dudit végétal, ladite au moins une partie dudit végétal étant en particulier une feuille, un fruit, une graine,

ladite composition phytosanitaire comprenant :

- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le 03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 en tant que principe actif ; ou
- la souche isolée de *Trichoderma atroviride* TAL-17 déposée le

03 juillet 2018 à la CNCM sous le numéro CNCM I-5333 en association avec au moins un autre agent de lutte biologique en tant que principe actif,

et ledit végétal appartenant notamment à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Apiacées, les Astéracées, les Brassicacées, les Chénopodiacées, les Cucurbitacées, les Fabacées, les Liliacées, les Rosacées, les Solanacées et les Valérianacées, en particulier ledit végétal appartenant à une famille choisie parmi : les Amaranthacées, les Fabacées et les Solanacées, et de préférence ledit végétal étant *Beta vulgaris* (betterave), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (pomme de terre) et/ou *Glycine max* (soja).

[Revendication 11] Procédé selon la revendication 10, dans lequel ladite composition phytosanitaire est épandue

- à raison de 10 à 500 L/ha, en particulier de 50 à 250 L/ha, notamment pour la pulvérisation aérienne ; ou
- à raison d'une quantité efficace de 10^{10} à 10^{14} spores/ha, en particulier de 10^{10} à 10^{12} spores/ha, notamment pour les épandages aériens de type pulvérisation foliaire.

[Revendication 12] Procédé selon la revendication 10 ou 11, dans laquelle ledit champignon pathogène appartient à :

- une espèce choisie parmi : *P. acanthicum*, *P. afertile*, *P. aphanidermatum*, *P. aquatile*, *P. debaryanum*, *P. elongatum*, *P. gracile*, *P. imperfectum*, *P. inflatum*, *P. intermedium*, *P. irregulare*, *P. marinum*, *P. maritimum*, *P. middletoni*, *P. monospermum*, *P. myriotylum*, *P. ostracodes*, *P. pulchrum*, *P. salinum*, *P. thalassium* et *P. ultimum*,

et en particulier appartient à l'espèce *P. ultimum* ;
et/ou

- une espèce choisie parmi : *R. alpine*, *R. anomala*, *R. callae*, *R. dichotoma*, *R. ferruginea*, *R. floccosa*, *R. fragariae*, *R. fraxini*, *R. fumigata*, *R. lanuginosa*, *R. leguminicola*, *R. menthae*, *R. mucoroides*, *R. muneratii*, *R. oryzae-sativae*, *R. pini-insignis*,

R. quercus, *R. rubi*, *R. rubiginosa*, *R. silvestris*, *R. solani*, *R. stahlii*, *R. tuliparum* et *R. versicolor*,

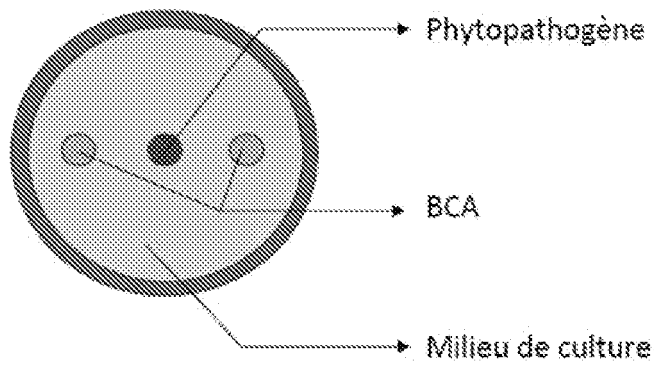
et en particulier appartient à l'espèce *R. solani*.

[Revendication 13] Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 12, dans lequel

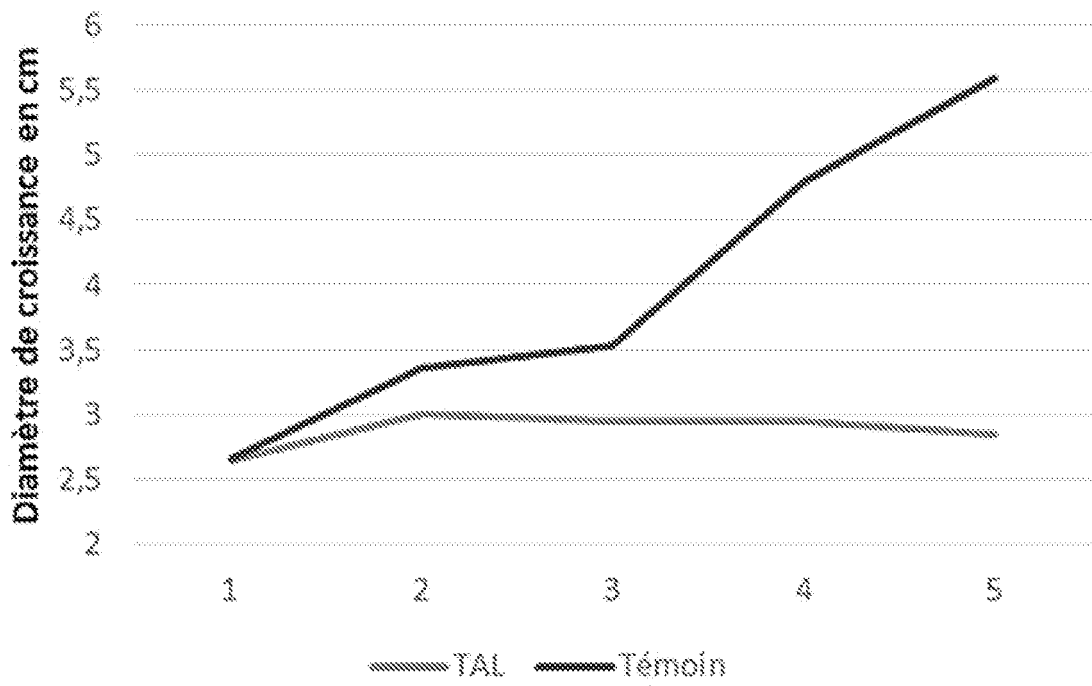
- la protection dudit végétal comprend une étape d'enrobage de la semence avec ladite composition phytosanitaire ; et/ou
- la protection dudit végétal comprend une étape de pulvérisation de ladite composition phytosanitaire au moment du semis ou à la germination dudit végétal ; et/ou
- la protection dudit végétal comprend soit une application préventive au niveau du sol avant le semis de ladite composition phytosanitaire avec l'apport d'amendement organique, soit une application préventive au niveau du sol avant le semis de ladite composition phytosanitaire sur la culture précédente ; et/ou
- le traitement dudit végétal comprend une étape de pulvérisation de ladite composition phytosanitaire aux cours de différents stades phénologiques de la plante.

[Fig. 1]

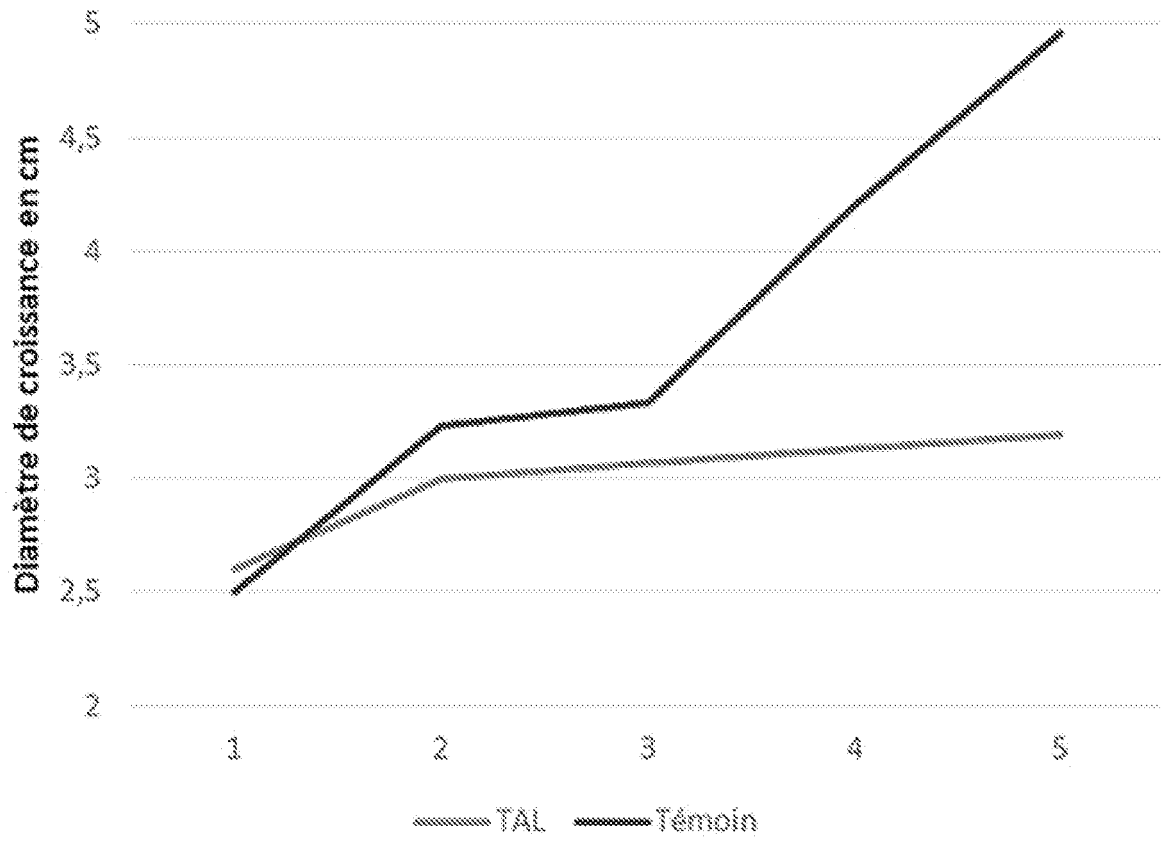
A



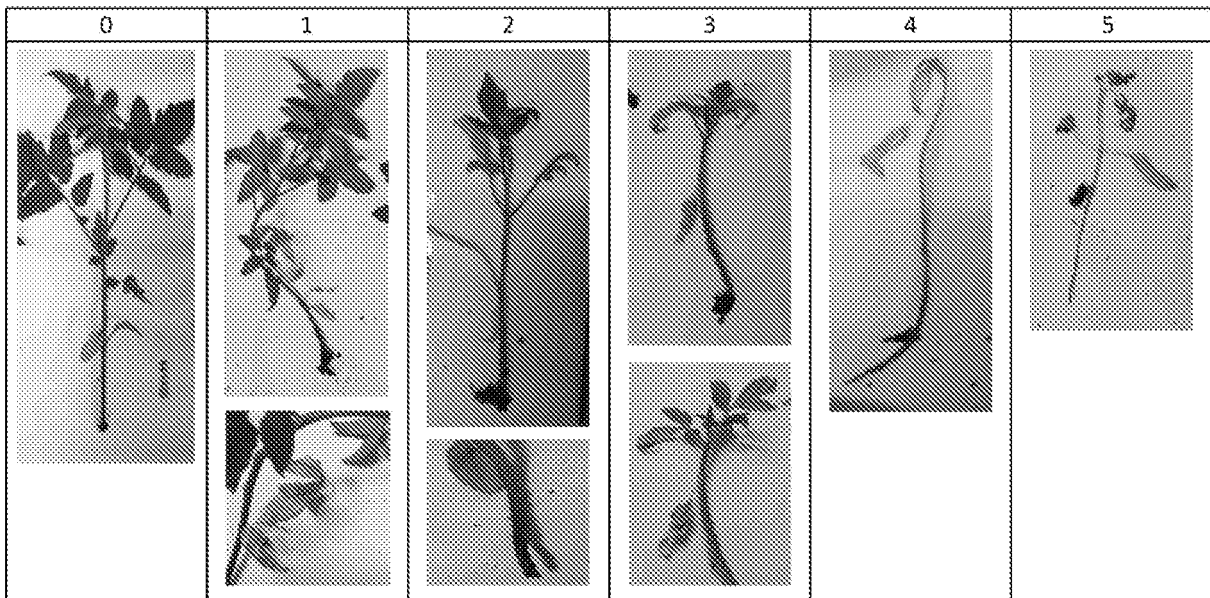
B



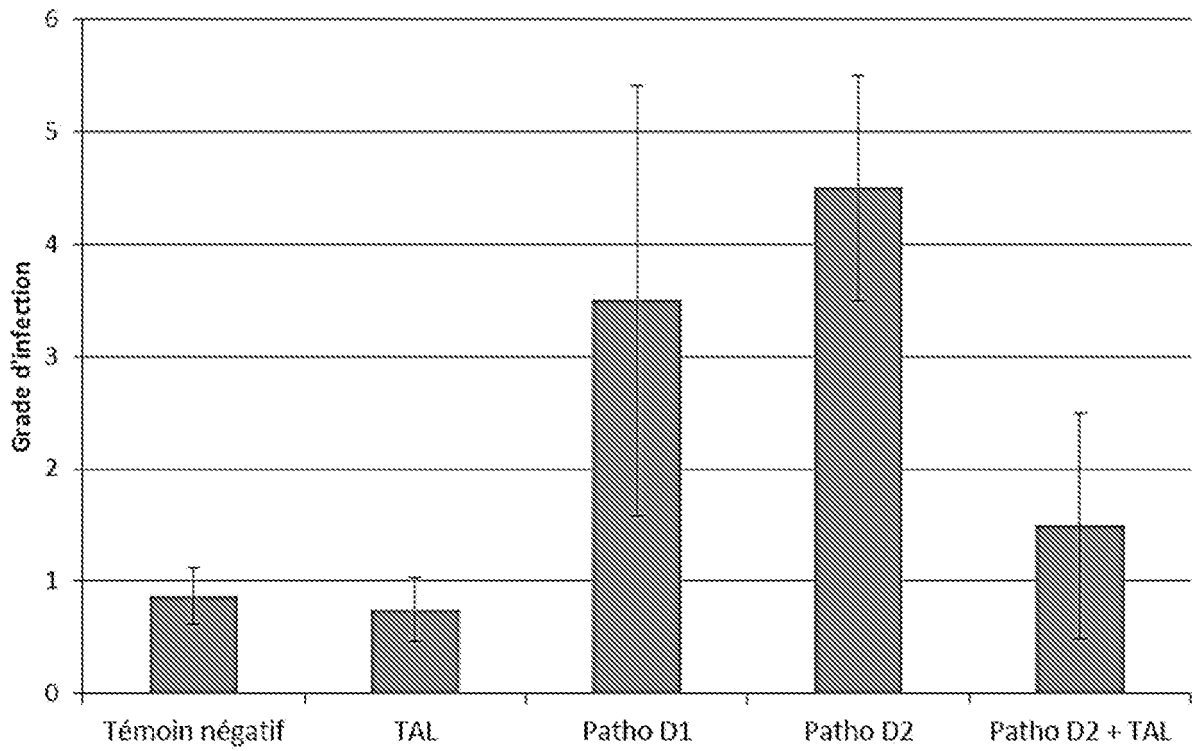
[Fig. 2]



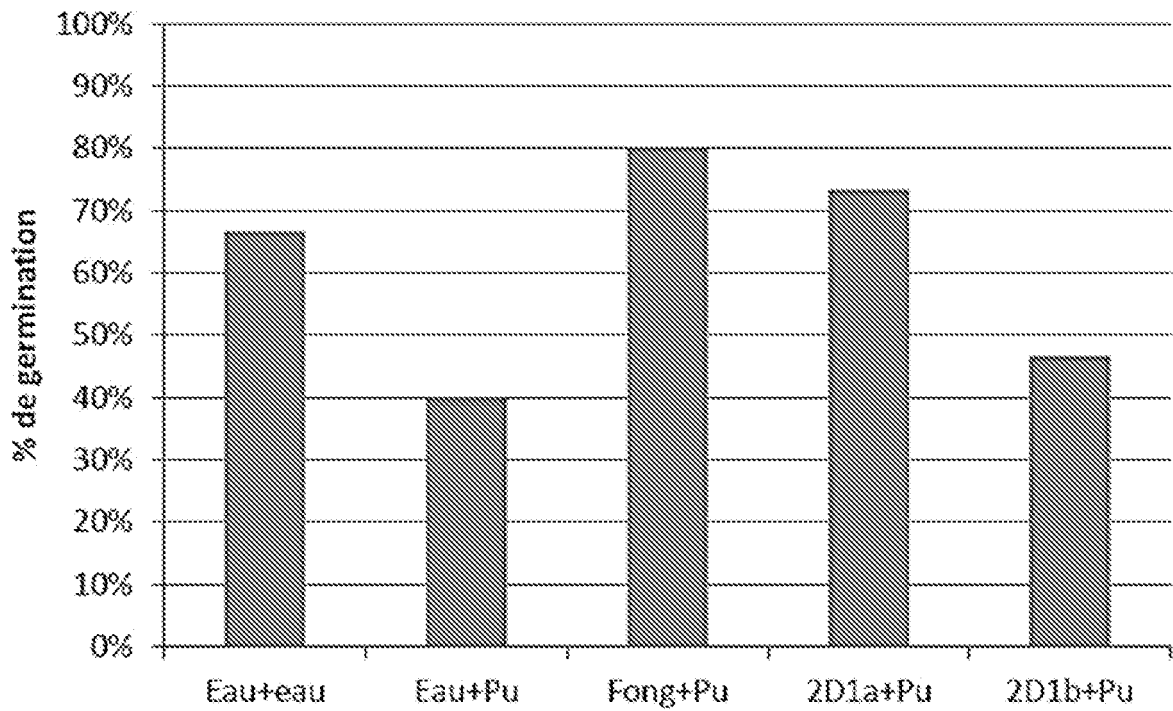
[Fig. 3]



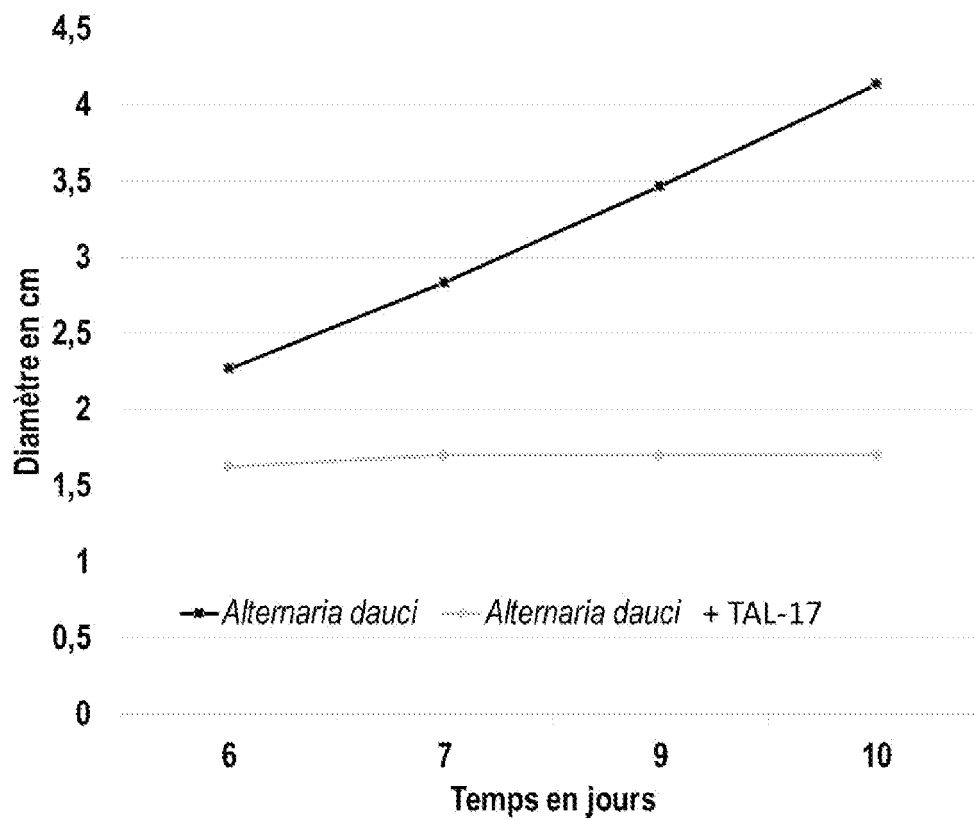
[Fig. 4]



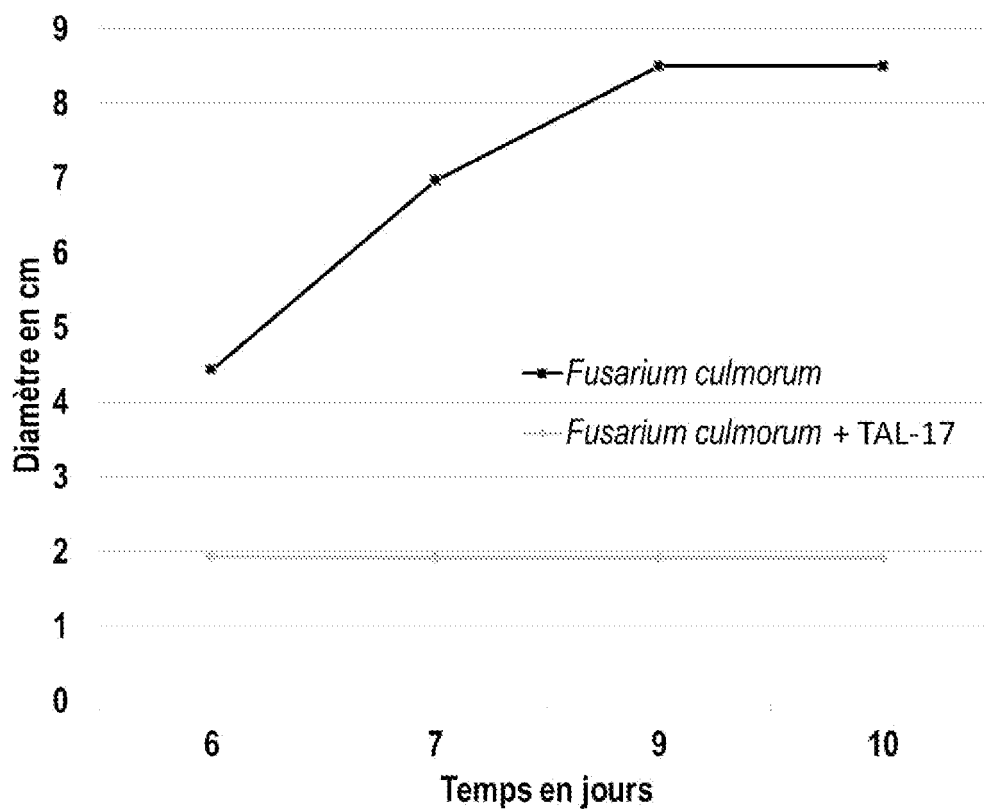
[Fig. 5]



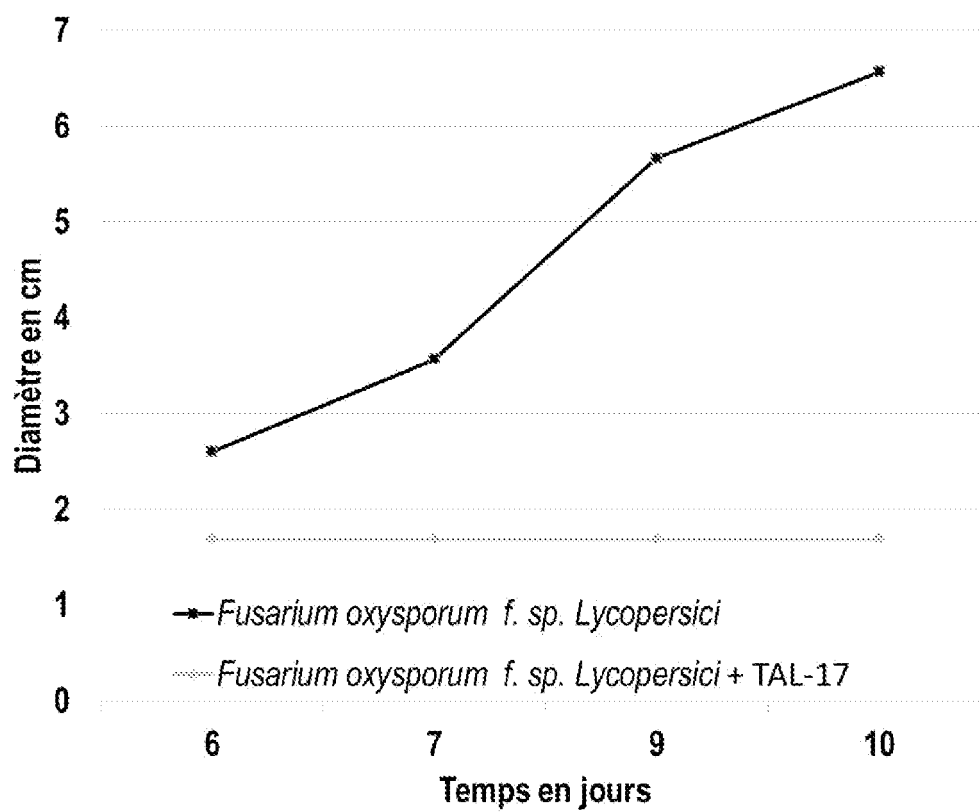
[Fig. 6]



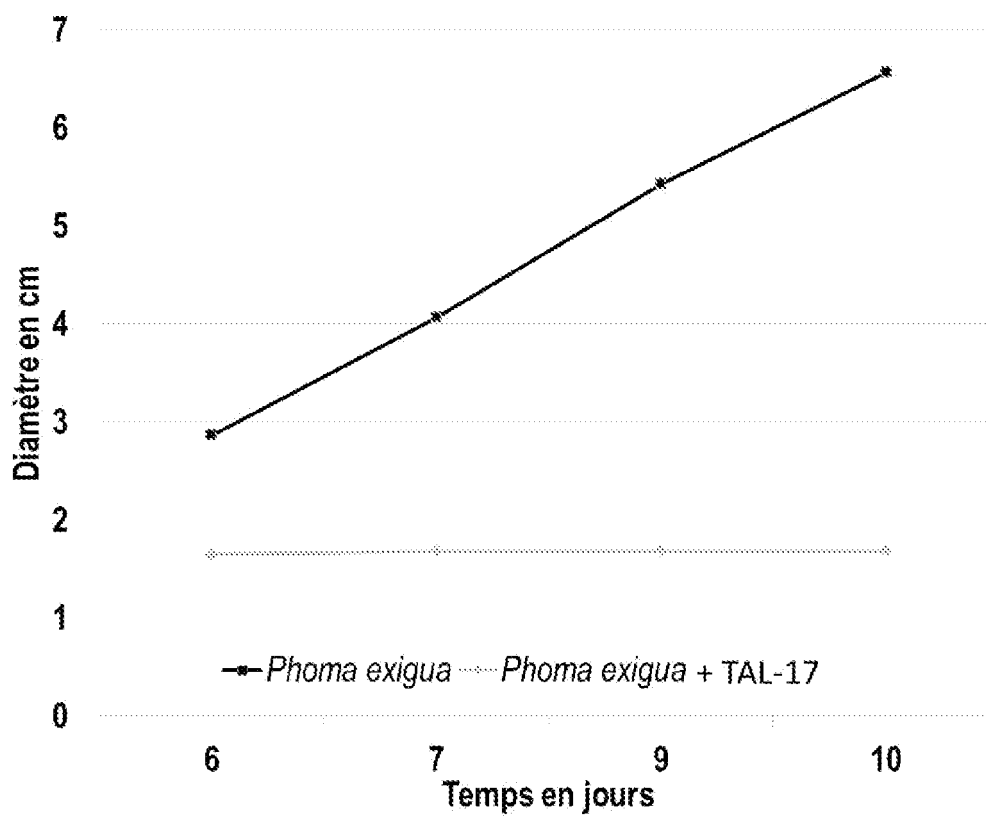
[Fig. 7]



[Fig. 8]



[Fig. 9]



Sequence de nucléotide

SEQUENCE LISTING

<110> ARD
RITTMO

<120> NOUVEL AGENT DE BIOCONTROLE ET SON UTILISATION POUR LA LUTTE
CONTRE DES MALADIES FONGIQUES DE PLANTES

<130> IFB 19 CC ARD PYTH

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Primer GS285741-F1

<400> 1
cgaatgccag acgaatcaat c 21

<210> 2
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Primer GS285741-R1

<400> 2
aacgagactt gacagtagcg 20

<210> 3
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Sonde GS285741-P1

<220>
<221> misc_feature
<223> Modification en 5' = ajout du fluorophore FAM
(6-carboxyfluorescéine)

Modification en 3' = ajout du MGB (Minor Groove Binder)

<400> 3
acggcgtata ttgtgacaa acaagatgc 29

<210> 4
<211> 514
<212> DNA
<213> Trichoderma atroviride

<220>
<221> misc_feature
<223> Del11_285741

<400> 4
gcaataactg ctcgtattac tccagaaaaa ggggcaagtc tatcaacagc cgccgctgcc 60
aagaatacgg gctggccta gttcaaattg ttcatcgtcg ctgggtgctg cgtagtcttg 120
agctaaatgt ttagccaatt ctcaaacgct tggcagataa atttattat ttaccctaga 180
atatggtcat tggcgaatgc cagacgaatc aatctggatg atgcctcaa cagatggcca 240
tgcatcttgt ttgtaacaa tatacgccgt tgatggggcg ctactgtcaa gtctcgttt 300
gatactctag tttctctc gtgatatac agccgccacc ttatgtaaaa cagcctgcat 360
caattctcca aattgacatt gttgtataaa gaggaaggcg ccatagatg ctatacatca 420
tgattaacaa aggttattta ctacaattct tctgttatg ctcgcaattc tctacttctg 480
atggaatgc cacgtgcgta gcttgtag tact 514

RAPPORT DE RECHERCHE

articles L.612-14, L.612-53 à 69 du code de la propriété intellectuelle

OBJET DU RAPPORT DE RECHERCHE

L'I.N.P.I. annexe à chaque brevet un "RAPPORT DE RECHERCHE" citant les éléments de l'état de la technique qui peuvent être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention, au sens des articles L. 611-11 (nouveau) et L. 611-14 (activité inventive) du code de la propriété intellectuelle. Ce rapport porte sur les revendications du brevet qui définissent l'objet de l'invention et délimitent l'étendue de la protection.

Après délivrance, l'I.N.P.I. peut, à la requête de toute personne intéressée, formuler un "AVIS DOCUMENTAIRE" sur la base des documents cités dans ce rapport de recherche et de tout autre document que le requérant souhaite voir prendre en considération.

CONDITIONS D'ETABLISSEMENT DU PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

Le demandeur a présenté des observations en réponse au rapport de recherche préliminaire.

Le demandeur a maintenu les revendications.

Le demandeur a modifié les revendications.

Le demandeur a modifié la description pour en éliminer les éléments qui n'étaient plus en concordance avec les nouvelles revendications.

Les tiers ont présenté des observations après publication du rapport de recherche préliminaire.

Un rapport de recherche préliminaire complémentaire a été établi.

DOCUMENTS CITES DANS LE PRESENT RAPPORT DE RECHERCHE

La répartition des documents entre les rubriques 1, 2 et 3 tient compte, le cas échéant, des revendications déposées en dernier lieu et/ou des observations présentées.

Les documents énumérés à la rubrique 1 ci-après sont susceptibles d'être pris en considération pour apprécier la brevetabilité de l'invention.

Les documents énumérés à la rubrique 2 ci-après illustrent l'arrière-plan technologique général.

Les documents énumérés à la rubrique 3 ci-après ont été cités en cours de procédure, mais leur pertinence dépend de la validité des priorités revendiquées.

Aucun document n'a été cité en cours de procédure.

1. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE SUSCEPTIBLES D'ETRE PRIS EN CONSIDERATION POUR APPRECIER LA BREVETABILITE DE L'INVENTION

BRUNNER KURT ET AL: "Improvement of the fungal biocontrol agent Trichoderma atroviride to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance",
APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY,
AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US,
vol. 71, no. 7,
1 juillet 2005 (2005-07-01), pages
3959-3965, XP002504077,
ISSN: 0099-2240, DOI:
10.1128/AEM.71.7.3959-3965.2005

S. L WOO ET AL: "Trichoderma-based Products and their Widespread Use in Agriculture",
THE OPEN MYCOLOGY JOURNAL,
vol. 8, no. Suppl-1, M4,
1 janvier 2014 (2014-01-01), pages 71-126,
XP055287043,
DOI: 10.2174/1874437001408010071

JP 2016 202107 A (SASAKI YASUHARU)
8 décembre 2016 (2016-12-08)

US 2009/104165 A1 (LORITO MATTEO [IT] ET AL)
23 avril 2009 (2009-04-23)

LORITO M ET AL: "Enhancing biocontrol of fungal pests by exploiting the Trichoderma genome",
1 janvier 2001 (2001-01-01), ENHANCING BIOCONTROL AGENTS AND HANDLING RISKS (NATO: LIFE AND BEHAVIOURAL SCIENCES), IOS PRESS, PAGE(S) 248 - 259, XP008098699,

MCBEATH J H ET AL: "BIOLOGICAL CONTROL OF PINK ROT BY TRICHODERMA ATROVIRIDE",
PHYTOPATHOLOGY, AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY, US,
vol. 91, no. 6, SUPPL,
25 août 2001 (2001-08-25), page S59,
XP001026341,
ISSN: 0031-949X

WO 2020/254533 A1 (AGRO INDUSTRIE RECH ET DEVELOPPEMENTS A R D [FR])
24 décembre 2020 (2020-12-24)

LU ZEXUN ET AL: "ABSTRACT",

APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY,
vol. 70, no. 5, 1 mai 2004 (2004-05-01),
pages 3073-3081, XP055772678,
US
ISSN: 0099-2240, DOI:
10.1128/AEM.70.5.3073-3081.2004
Extrait de l'Internet:
URL: <https://aem.asm.org/content/aem/70/5/3073.full.pdf>>

WO 2009/102222 A1 (UNIV LINCOLN)
20 août 2009 (2009-08-20)

INNOCENTI ET AL: "Efficacy of
microorganisms antagonistic to Rhizoctonia
cerealis and their cell wall degrading
enzymatic activities",
MYCOLOGICAL RESEARCH, ELSEVIER, GB,
vol. 107, no. 4, 1 avril 2003 (2003-04-01)
, pages 421-427, XP022443261,
ISSN: 0953-7562, DOI:
10.1017/S0953756203007640

**2. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE ILLUSTRANT L'ARRIERE-PLAN
TECHNOLOGIQUE GENERAL**

NEANT

**3. ELEMENTS DE L'ETAT DE LA TECHNIQUE DONT LA PERTINENCE DEPEND
DE LA VALIDITE DES PRIORITES**

NEANT