

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE ET DE L'AGRO-ECOLOGIE



Mémoire de fin d'études  
En vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème

---

# Biocontrôle microbien des fusarioses vasculaires

---

Présenté par

**DJELLALI Chahinez**

**HAMZI Rania**

Soutenu devant le jury :

BENKORTEBY H.	M.A.A.	U. Blida 1	Présidente
YALA A.	M.A.B.	U. Blida 1	Examinatrice
MEKHALDI D.	Doctorante	U. Blida 1	Promotrice
BENCHABANE M.	Professeur	U. Blida 1	Co-promoteur

Année universitaire 2021/2022

## Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier « **ALLAH** » le tout puissant pour la volonté et la patience qu'il nous a donné tout le long de la période de nos études.

Tous mes remerciements vont à ma promotrice **Dr. MEKHALDI D.**, d'avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance et sa patience tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.

Nous tenons à remercier notre Co-promoteur **Pr. BENCHAAABEN M.**, qui nous a enseigné la rigueur scientifique. Nous lui remercions pour son aide précieuse et les conseils qu'il nous a prodigués tout au long de ce parcours.

Nous tenons également à témoigner notre gratitude aux membres de jury : A notre professeur **M<sup>me</sup> BENKORTBY H.**, qui a accepté de présider ce jury, nous sommes très honorées d'avoir pu bénéficier de vos remarques et de vos compétences tout au long de ces années d'études, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance. Merci à **M<sup>me</sup> YALA A.** D'avoir accepté l'évaluation de ce mémoire et d'en être l'examinatrice.

Enfin, Merci à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de ce mémoire.

# Dédicaces

Mes dédicaces vont d'abord et avant tous à mes chère parents **Kamel** et **Ratiba**, dont l'encouragement et la motivation ont été d'une extrême importance pour moi, et sans lesquelles je n'aurais honnêtement jamais pu réaliser ce mémoire.

Ces mêmes dédicaces je les adresse également à mes sœur **Hidou** et **Rihem** dont le soutien indéfectible à mon égard, à constituer pour moi une source de motivation supplémentaire.

Aussi à mes chères amies **Sadjia**, **Farah** et **Hadil** à qui je souhaite une vie pleine de bonheur, de santé et de réussites.

Enfin je me dois aussi d'adresser une dédicace particulière à ma binôme **Chahinez** qui s'est investis pleinement avec moi dans la réalisation de ce travail, durant lequel nous avons pu partager plein de belle chose qui vont rester gravé dans ma mémoire.

**Rania**

# Dédicaces

## *A mon très cher Père*

Ce travail est dédié à mon chère Papa **Khaled**, décédé très tôt, qui m'a toujours pousser et motivé dans mes études. J'espère, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de sa petite fille qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse Dieu, le tout puissant, lui accorde sa sainte miséricorde l'accueille en Son Vaste Paradis.

## *A ma très chère mère*

A la prunelle de mes yeux, Qu'elle trouve ici ma plus Profonde gratitude et tout mon Amour pour sa patience et son soutien et surtout pour ses prières pour moi tout au long de mes études.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur **Adel**, Ma vie ne serait pas magnifique sans ton présence et ton amour Que Dieu vous garde et vous protège. .

A mes très chères sœurs : **Lilia** et **Naziha**, qui ont toujours été là à m'encourager et à croire en moi.

A mon cher frère **Azouz** ainsi que sa femme **Hayat**, Je vous souhaite tous le bonheur du monde.

A mes petits neveux et nièces que j'aime trop : **Khaled**, **Mouad**, **Anes**, **Ouayes**, **Younes**, **Amira** et **Line**.

A mon âme qui est fière de moi **Chahd**.

A ceux que la distance nous sépare '**Matata**'.

À tous mes proches et mes chères amies, merci pour votre fidélité.

A mon binôme **Rania** pour tous les souvenirs pendant les années d'études et les moments inoubliables que j'ai passé avec toi.

**CHAHINEZ**

## Résumé

### Biocontrôle microbien des fusarioses vasculaires

Dans leur environnement, les plantes sont souvent exposées aux stress biotiques et/ou abiotiques, entre autre les maladies cryptogamiques qui peuvent provoquer de graves pertes. Parmi ces maladies, la fusariose vasculaire, causée par *Fusarium oxysporum*, touche quasiment toutes les cultures, en causant des symptômes de flétrissement, de jaunissement et de dessèchement. Le biocontrôle par l'utilisation des microorganismes bénéfiques a prouvé son efficacité à réduire ou à éliminer l'apparition des symptômes. C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude pour objectif de mettre en évidence les potentialités antagonistes *in vitro* en utilisant des souches antagonistes vis-à-vis de trois formes spéciales de champignon pathogène *F. oxysporum* [*albidinis* (Foa), *pisi* (Fop) et *phasioli* (Foph)]. La souche de *Trichoderma* sp. a enregistré un taux d'inhibition de 100% pour Fop, 90,7% pour Foph et 46,70% pour Foa. La souche de *Bacillus* sp. a enregistré des valeurs de 83,33%, 81,33% et 52,08% vis-à-vis de Fop, Foph et Foa, respectivement. La mise en évidence *in vitro* de la production de quelques métabolites secondaires impliqués dans l'antagonisme, a révélé la capacité de la souche de *Bacillus* sp à solubiliser le phosphate, à produire le HCN, l'amylase, les protéases et la lipase et à former le biofilm sur gélose rouge Congo et sur les parois de microplaque. La souche de *Trichoderma* sp testée solubilise aussi le phosphate, produit l'amylase, les protéases et la lipase, mais elle ne produit pas le HCN. Ces souches microbiennes présentent, de ce fait, des potentialités antagonistes remarquables et peuvent être utilisées en tant qu'agents de biocontrôle des fusarioses vasculaires.

**Mots clés :** Biocontrôle, fusariose vasculaire, bactéries antagonistes, champignons antagonistes.

## Summary

### Microbiological control of fusarium wilts

In their environment, plants are often exposed to biotic and/or abiotic stresses, including cryptogamic diseases which can cause serious losses. Among these diseases, fusarium wilt, caused by *Fusarium oxysporum*, affects almost all crops, causing symptoms of wilting, yellowing and drying. Biological control through the use of beneficial microorganisms has proven its effectiveness in reducing or eliminating the occurrence of symptoms. Our work aims to highlight *in vitro* antagonistic potentialities using *Bacillus* and *Trichoderma* strains against three formae specialis of *F. oxysporum* [*albidinis* (Foa), *pisi* (Fop) and *phasioli* (Foph)]. *Trichoderma* sp. strain recorded an inhibition rate of 100% against Fop, 90.7% in interaction with Foph and 46.70% against Foa. *Bacillus* sp. strain has recorded values of 83.33%, 81.33% and 52.08% against Fop, Foph and Foa, respectively. The *in vitro* demonstration of some secondary metabolites production involved in antagonism revealed the capacity of *Bacillus* sp. strain to solubilize the phosphate, to produce the HCN, amylase, proteases and lipase and to form the biofilm on Congo red agar and on the walls of the microplate. The tested *Trichoderma* sp. strain also solubilizes phosphate, produces amylase, proteases and lipase, but it does not produce HCN. These microbial strains therefore exhibit remarkable antagonistic potential and can be used as biological control agents toward fusarium wilts.

**Key words:** Biological control, fusarium wilt, antagonistic bacteria, antagonistic fungi.

## ملخص

### المكافحة البيولوجية الميكروبية لمرض الذبول الوعائي

غالبًا ما تتعرض النباتات في بيئتها الى الضغوطات الحيوية و/أو اللاحيوية ، بما في ذلك الأمراض النباتية التي ربما تسبب خسائر فادحة. من بين هذه الأمراض مرض الذبول الوعائي الذي يعد الفطر الممرض *Fusarium oxysporum* السبب الرئيسي لهذا المرض المعدي الذي يؤثر على أغلبية المحاصيل الزراعية ،متسببا في ظهور أعراض الذبول،الاصفرار والجفاف للنبات المصاب . علاوة على ذلك، لقد أثبتت المكافحة البيولوجية فعاليتها حيث يمكن استخدام الكائنات الحية الدقيقة المفيدة كحل للحد من ظهور أعراض هذا المرض أو القضاء عليه بصفة تامة.يهدف هذا البحث إلى دراسة قدرة عزلتين بكتيرية *Bacillus sp.* وفطرية *Trichoderma sp.* في مكافحة ثلاثة عزلات فطرية ممرضة من *F. oxysporum*. أظهرت إختبارات التثبيط المضادة للفطريات في المختبر انه تم تسجيل نسب التثبيط من طرف العزلة الفطرية : 100% لـFopل ونسبة 90.7% لـFoph و 46.70% لـFoa. كما أنه تم تسجيل نسب التثبيط من طرف العزلة البكتيرية 83.33% و 81.33% و 52.08% مقابل Fop ، Foph وFoa على التوالي. كما أثبتت هاته السلالتين من خلال إختبارات متنوعة قدرتها على إنتاج العديد من المركبات و الانزيمات ، فبنسبة الى العزلة البكتيرية *Bacillus sp.* أظهرت النتائج أنها تملك القدرة على إذابة الفوسفات ، إنتاج HCN ، الأميليز والبروتياز والليباز وتكوين الأغشية الحيوية على وسط الكونغو الأحمر وعلى جدران الصفيحة الدقيقة. اما بالنسبة للفطر *Trichoderma sp.* فله القدرة أيضا على تفكيك الفوسفات و إنتاج الأميليز و البروتياز و الليباز ، لكنه لا ينتج HCN. لذلك فإن هذه السلالات الميكروبية البكتيرية و الفطرية لها إمكانات ملحوظة في القضاء على أمراض النباتات المعديّة ويمكن استخدامها كعوامل للمكافحة البيولوجية لمرض الذبول الوعائي.

**الكلمات المفتاحية :** المكافحة البيولوجية ، الذبول الوعائي ، البكتيريا المعادية ،الفطريات المعادية.

## Liste des abréviations

<b>CMAL</b>	Champignons mycorhiziens arbusculaires
<b>COV</b>	Composés organiques volatils
<b>f. sp.</b>	Forme spéciale
<b>FAO</b>	<i>Food and Agriculture Organization on the United Nations</i>
<b>Foa</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>albidinis</i>
<b>Fop</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>
<b>Foph</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>phasioli</i>
<b>GN</b>	gélose nutritive (milieu de culture)
<b>HCN</b>	Acide cyanhydrique
<b>IAA</b>	Acide indole acétique
<b>IBMA</b>	<i>International Biocontrol Manufacturers Association</i>
<b>ISR</b>	Résistance systémique induite
<b>LAB</b>	Bactéries lactiques
<b>PBS</b>	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
<b>PDA</b>	<i>Potato Dextrose Agar</i> (milieu de culture)
<b>PGPF</b>	<i>Plant GrowthPromotingFungi</i>
<b>PGPR</b>	<i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i>
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>PVK</b>	Milieu Pikovskaya
<b>TSA</b>	<i>Tryptone soya Agar</i> (milieu de culture)
<b>TSB</b>	<i>Tryptone soya Broth</i> (milieu de culture)

## Liste des tableaux et figures

- Tableau 1 :** Quelques formes spéciales de *F. oxysporum* et leurs plantes hôtes correspondantes .....
- Tableau 2 :** Souches phytopathogènes de *F. oxysporum* utilisées.....
- Tableau 3 :** Souches antagonistes utilisées.....
- Tableau 4:** Diamètre en mm des colonies des souches de *F.oxysporum* en présence de *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp.....
- Figure 1.** Aspect macroscopique de *F. oxysporum*.....
- Figure 2.** Caractéristiques morphologiques de *F. oxysporum*.....
- Figure 3.** Cycle infectieux de *F. oxysporum* .....
- Figure 4.** Symptômes du flétrissement causé par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.....
- Figure 5.** Schéma de la colonisation des racines par *Bacillus subtilis* en formant son biofilm.....
- Figure 6.** Aspect des champignons mycorhiziens intra-racinaires.....
- Figure 7.** Les cultures fongiques des souches de *F. oxysporum* utilisées.(A)Foa ,(B)Fop et(C) Foph.....
- Figure 8.** Les cultures des souches antagonistes.....
- Figure 9.** Interaction bactérie antagoniste – champignon pathogène.....
- Figure 10.** Interaction champignon antagoniste -champignon pathogène.....
- Figure 11.** Pouvoir antagoniste *in vitro* de *Bacillus* sp. vis-à-vis des trois souches phytopathogènes de *F. oxysporum*.....
- Figure 12.** Pouvoir antagoniste *in vitro* de *Trichoderma* sp. vis-à-vis des trois souches phytopathogènes de *F. oxysporum*.....
- Figure 13.** Taux d'inhibition enregistrés par *Bacillus* sp. Et *Trichoderma* sp. vis-à-vis des trois souches de *F. oxysporum*.....

**Figure 14.**Résultats du test de solubilisation de phosphate.....

**Figure 15.**Résultats du test de production de HCN.....

**Figure 16.**Résultats du test de production d'amylase.....

**Figure 17.**Résultats du test de production de protéases.....

**Figure 18.**Résultats du test de production de protéases.....

**Figure 19.**Résultat du test de production de biofilm par la souche de *Bacillus* sp. sur gélose rouge Congo.....

**Figure 20.**Résultat du test de quantification de biofilm produit par la souche de *Bacillus* sp. sur microplaque.....

# **Introduction**

## Introduction

Plusieurs espèces de champignons telluriques sont capables d'infecter les racines des plantes sauvages ou cultivées et de causer des dégâts importants. Il s'agit notamment de *Fusariumoxysporum*, un microorganisme qui cause la pourriture racinaire, la fonte des semis et la fusariose vasculaire due à l'obstruction des vaisseaux conducteurs (Agrios, 2005).

Les espèces de *Fusarium* provoquent de graves maladies qui entraînent des pertes économiquement importantes. Ce pathogène peut infecter une vaste gamme de plantes hôtes et il est largement distribué naturellement dans les sols et fréquemment isolé à partir des racines et de la tige chez des plantes cultivées au champs et en serre (Fravelet *et al.*, 2003). Ce genre regroupe de nombreuses espèces et formes spéciales phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies, notamment les fusarioses vasculaires (Assigbetsé *et al.*, 1990).

Le contrôle des fusarioses vasculaires se fonde principalement sur l'intégration des différentes méthodes de gestion, y compris les pratiques culturales, la désinfection des sols, le biocontrôle et l'amélioration de la résistance des variétés cultivées (Navas-Cortes *et al.*, 1998 ; Alabouvette *et al.*, 2009 ; Momma *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2010 ; Mekhaldiet *et al.*, 2020).

La lutte biologique se considère comme une alternative car elle présente de nombreux avantages : leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action ainsi leur persistance dans l'environnement (De Kouassi, 2001). Les microorganismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les protozoaires. Les champignons et les bactéries sont les microorganismes les plus utilisés en lutte biologique. Ils ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et sont donc l'objet de plusieurs études (Azcon-Aguilar et Bare, 1997).

Dans cette optique, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur le potentiel dubiocontrôle microbien des fusarioses vasculaires par l'évaluation *in vitro* du pouvoir antagoniste des souches de *Trichoderma* et de *Bacillus*. Le travail de ce présent mémoire est réalisé en deux principales parties :

- La première est dédiée à la synthèse des données bibliographiques relatives aux fusarioses vasculaires, à l'agent pathogène ainsi que leurs formes spéciales et les différentes méthodes de lutte utilisées face à cette maladie, entre autre le biocontrôle.
- La seconde partie est consacrée aux essais *in vitro* du pouvoir antagoniste de souches microbiennes face à l'agent phytopathogène et la mise en évidence de la production de quelques métabolites secondaires impliqués dans le biocontrôle.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

## Chapitre I. Synthèse bibliographique

### 1. Les fusarioses vasculaires

La fusariose vasculaire (flétrissement fusarien ou *fusariumwilt* anglais), est l'une des maladies des plantes les plus répandues et dont les incidences sur les cultures sont les plus graves. Il s'agit d'une trachéomyose provoquée par un champignon du sol à reproduction asexuée, classé au sein des champignons imparfaits de l'ordre des Hypocreales : *Fusariumoxysporum*.

La fusariose cause souvent des pertes importantes sur les espèces agricoles, horticoles et sylvicoles, représentant un facteur limitant majeur dans la production de nombreuses cultures agricoles et horticoles, telles que le pois, le palmier dattier, le lin, la tomate et le coton (Mac Hardy et Beckman, 1981).

#### 1.2. Agent pathogène

Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois en 1809 (Brown et Proctor, 2013). Il comprend des champignons microscopiques filamenteux fortement répandus dans l'environnement (Nawar, 2016). Ce genre est économiquement très important et rassemble de nombreux agents phytopathogènes, sur plus de 100 espèces végétales (Nucci *et al.*, 2007).

Les espèces affiliées au *Fusarium*, infectent diverses cultures, notamment, les céréales, les cultures maraichères, les arbres fruitiers et provoquent des maladies nommées fusarioses. Elles sont impliquées généralement dans la pourriture des racines, tiges et fruits ainsi que la dégradation du système vasculaire, ce qui constitue une menace pour la santé des plantes, des animaux et la sécurité alimentaire (Tunarishet *et al.*, 2015).

*F. oxysporum* est considéré comme ascomycète bien que le stade sexuel n'est pas encore déterminé. Il est proposé d'être plutôt proche du groupe téléomorphique *Gibberella* que *Nectria*. Au sein de l'espèce *F. oxysporum*, on distingue plus de 120 formes spéciales en fonction de leur pathogénicité sur des plantes hôtes (Ramírez-Suero, 2009). La nouvelle classification taxonomique du genre *Fusarium* basée sur la phylogénie moléculaire est la suivante (Debourgogne, 2013) :

- Domaine : *Eukarya*
- Règne : *Fungi*
- Division : *Ascomycota*

- Classe: *Sordariomycetes*
- Sous-classe : *Hypocreomycetidae*
- Ordre : *Hypocreales*
- Famille : *Nectriaceae*
- Genre : *Fusarium*
- Espèce : *Fusariumoxysporum*

### 1.3.Facteurs de croissance

Le développement de *F.oxysporum* est influencé par les facteurs de l'environnement (Criquet et Calvert, 1997).

#### 1.3.1. La température

La température joue un rôle déterminant dans l'expression des symptômes des maladies d'origine cryptogamiques. Son action peut se manifester sur la croissance du parasite, sur la physiologie de la plante et sur les interactions hôte-parasite (Molot et Mas, 1974). Pour l'ensemble des fusarioses vasculaires, l'optimum de développement en culture *in vitro* semble se situer entre 26-30°C (Molot et Mas, 1975). Bloomberg (1976) a trouvé que l'effet pathogène de *F.oxysporum* est réalisé entre 10-30°C.

#### 1.3.2. L'humidité

Il a été également démontré par Ya et Fang (1948) qu'un sol hydraté (44 et 65% de sa capacité de rétention) est très favorable à l'apparition des premiers symptômes, alors qu'un sol sec (18 et 27%) accentue la rapidité du flétrissement. Pour les *Fusarium* très influencés par la température du sol, ils ne sont pas très affectés par l'humidité du sol (Walker, 1961). Cette dernière influe surtout sur la germination des chlamydospores (; Corbaz, 1990).

#### 1.3.3. Le pH

Le pH est un facteur important dans la sévérité des maladies d'origine tellurique. La croissance de *F. oxysporum* peut s'observer dans une gamme de pH allant d'une valeur de 1.1 à 8.1 (Botton *et al.*, 1985). Sexena (1988) trouve que le pourcentage de mortalité des plantes augmente avec l'accroissement du pH du sol jusqu'à 7.5 puis la mortalité diminue (Ben Chaima, 1991).

#### 1.3.4. La lumière

Vartaja (1952) a évoqué l'importance de l'ombrage dans la gravité de la maladie. Un éclairage insuffisant peut provoquer un étiolement des plantes qui favorise leurs sensibilités aux attaques de *F. oxysporum*. De même, Messiaen *et al.* (1991), ont démontré l'augmentation

de l'agressivité du *F. oxysporum* f. sp. *melonis* en culture sous serre où la lumière est insuffisante.

#### 1.4. Caractéristiques macroscopiques

Sur un milieu gélosé à base de pomme de terre tel que le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) (Bouhot et Billotte, 1964), la pigmentation du mycélium est la plupart du temps blanchâtre pendant les 15 premiers jours qui suivent l'isolement puis se pigmente souvent de façon diffuse dans la zone centrale d'une couleur différente (Figure 1) (Booth, 1977; Botton *et al.*, 1985; Tivoli, 1988 ; Champion, 1997).



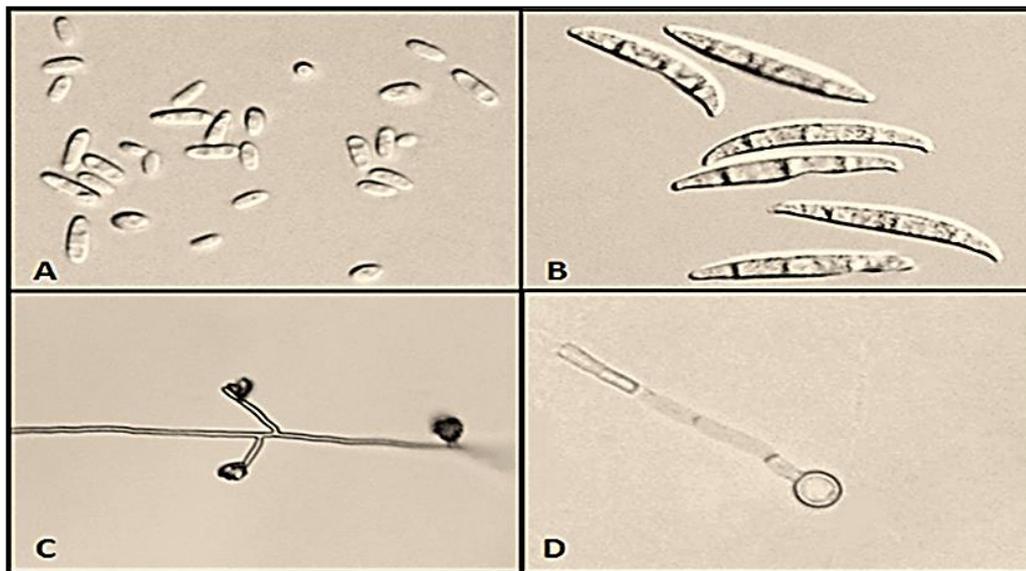
**Figure 1.** Aspect macroscopique de *F. oxysporum* (Meddahet *al.*, 2006).

Cependant, la grande variabilité morphologique est un phénomène commun chez les formes spéciales de *F. oxysporum*, qui peut être expliquée par les variations portées sur les caractères culturaux (aspect du mycélium aérien, pigmentation du thalle et du milieu), sur les caractéristiques biométriques, sur des spores (taille, forme, cloisonnement, etc...), sur les organes fructifères qui leur donnent éventuellement naissance (sporodochies et pionnotes), et enfin, sur la présence ou l'absence de sclérotés (Henni *et al.*, 1994).

#### 1.5. Caractéristiques microscopiques

*F. oxysporum* produit trois types de spores asexuées: microconidies, macroconidies et chlamydospores. Les microconidies (Figure 2.A) sont uni- ou bicellulaires et sont produites

abondamment et fréquemment par le champignon sous tout type de conditions. C'est aussi le type de spores qui est observé plus fréquemment à l'intérieur des vaisseaux des plantes infectées. Les microconidies de *F. oxysporum* ont souvent la forme d'une virgule ou sont ellipsoïdales (Agrios, 2005). Les macroconidies (Figure 2.B) sont composées de trois jusqu'à cinq cellules, elles sont pointues et courbées jusqu'au bout. Ces spores peuvent être observés dans des sporodochiums à la surface des plantes détruites par le pathogène (Agrios, 2005). Les chlamydospores (Figure 2.D) sont des spores rondes d'une ou deux cellules, entourées d'une paroi épaisse plus ou moins pigmentée. Elles sont observées au milieu des hyphes ou en position terminale, souvent en forme de paires, quelques fois en triplets et rarement en forme rassemblée (Agrios, 2005).



**Figure 2.** Caractéristiques morphologiques de *F. oxysporum* (Fourieet al., 2011).

(A)Microconidies, (B) macroconidies, (C) microconidies germées sur des monophialides et (D) chlamydospore.

### 1.6.Formes spéciales

Chez l'espèce *F. oxysporum*, on distingue plus de 120 formes spéciales en fonction de leur pathogenicité sur des plantes hôtes (Ramírez-Suero, 2009). *F. oxysporum* est un champignon cosmopolite qui présente une très grande diversité génétique et écologique (Di Pietro et al., 2003). Cette espèce inclut plus d'une centaine de formes spéciales et races qui sont chacune spécifiques à une plante hôte, souvent des espèces végétales d'intérêt horticole, maraicher ou agronomique (Tableau 1) (Abed, 2017).

**Tableau 1 :** Quelques formes spéciales de *F. oxysporum* et leurs plantes hôtes correspondantes (Edel-Hermann et Lecomte, 2018)

Forme spéciale	Races	Plantes hôtes	Famille de plantes hôtes
<i>albedinis</i>	-	<i>Vignaangularis</i> (niébé)	<i>Fabaceae</i>
<i>phaseoli</i>	1 à 7	<i>Phaseolusvulgaris</i> haricot)	<i>Fabaceae</i>
<i>Pisi</i>	1, 2, 5, 6	<i>Pisumsativum</i> (petit pois)	<i>Fabaceae</i>
<i>Lin</i>	-	<i>Linumusitatissimum</i> (lin)	<i>Linaceae</i>
<i>lycopersici</i>	1 à 3	<i>Solanumlycopersicum</i> (tomate)	<i>Solanaceae</i>
<i>ciceris</i> (syn. <i>ciceri</i> )	0, 1A, 1B/C, 2 à 6	<i>Cicerarietinum</i> , <i>Cicer</i> spp. (pois-chiche)	<i>Fabaceae</i>
<i>melonis</i>	0, 1, 2, 1.2Y, 1.2W (précédemment 1 à 4)	<i>Cucumismelo</i> (melon)	<i>Cucurbitaceae</i>  <i>Cucurbitaceae</i>
<i>eucalypti</i>	-	<i>Eucalyptus</i> <i>gonphocephala</i> , <i>E.rudis</i> (eucalyptus)	<i>Myrtaceae</i>

## 1.7. Cycle de développement de la maladie

### 1.7.1. Pénétration

*F. oxysporum* peut survivre dans le sol pendant de longues périodes sous forme de chlamydozoospores, rendant son élimination dans le sol quasi impossible (Agrios, 2005). Les chlamydozoospores dormantes présentes dans le sol germent sous des conditions favorables et infectent les plantes à travers leurs racines (Chakrabarti, 2013). Après la germination, un thalle se forme à partir duquel des conidies peuvent se développer dans 6 à 7 heures, ainsi que des chlamydozoospores dans 2 à 3 jours (Figure 3) (Beckman et Roberts, 1995).

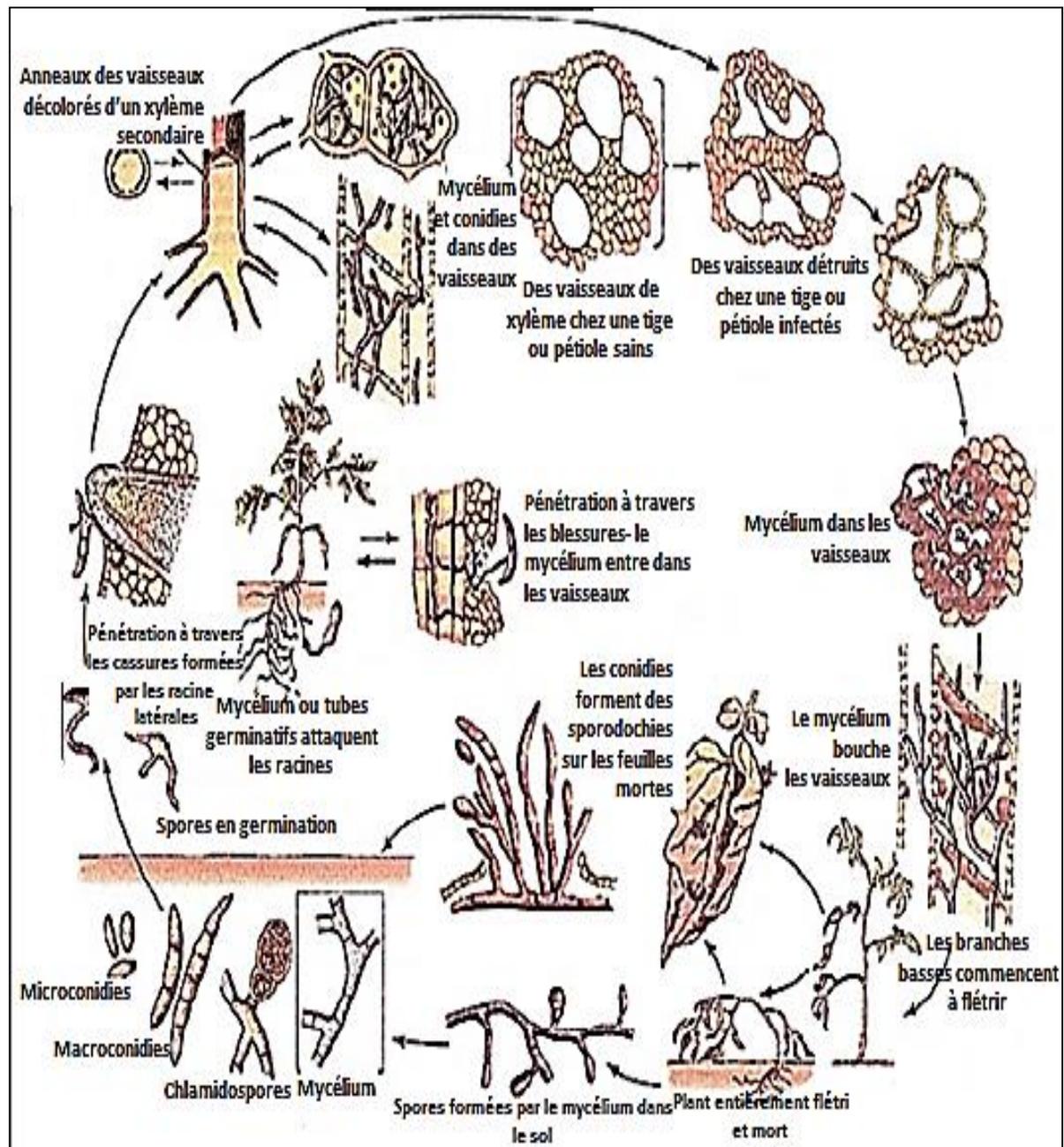


Figure 3. Cycle infectieux de *F. oxysporum* (Agrios, 2005).

Initialement, l'hyphe s'attache sur la surface de la racine et se développe le long des jonctions des cellules épidermiques pour former un réseau dense mélangé avec les poils absorbants de la racine. Après la colonisation extérieure, le champignon pénètre directement par les cellules épidermiques. Bien que la pénétration se produit principalement aux extrémités des racines, des pénétrations à des positions aléatoires, le long des poils absorbants, aussi bien que dans les zones méristématiques des racines primaires et latérales ont été rapportées. Cependant, aucune structure spécialisée de pénétration n'a été observée (Chakrabarti, 2013).

### 1.7.2. Colonisation

Après pénétration, le champignon continue à se développer entre et dans les cellules à travers le tissu de cortex jusqu'à ce qu'il atteigne les vaisseaux du xylème où sa pénétration se produit à travers des creux et d'autres espaces cellulaires pour se confiner dans les vaisseaux du xylème. A ce stade, le champignon initiera sa prolifération en s'infiltrant avec le flux de la sève pour migrer vers la partie supérieure de la plante (Chakrabarti, 2013). Les symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire apparaissent suite au fort stress hydrique provoqué par la prolifération fongique, combinée avec des réactions de défense de l'hôte (Agrios, 2005).

### 1.7.3. Conservation

Aux stades avancés de l'infection, quand la plante se flétrit et meurt, le champignon passe du mode biotrophe au mode nécrotrophe, en envahissant le parenchyme de l'hôte et en sporulant d'une façon abondante (production de grandes quantités de conidies et de chlamydospores) (Chakrabarti, 2013). Le pathogène survit sur les débris des plantes infectées dans le sol sous forme de mycélium et autres formes sporales, mais le plus souvent sous forme de chlamydospores dans les régions tempérées plus fraîches (Agrios, 2015)

## 1.8. Symptômes de la maladie

Les symptômes de flétrissement se caractérisent par un jaunissement qui apparaît au début sur toute la plante avec apparition des nécroses qui se généralisent par la suite (Figure 4.a). Les symptômes affectent l'ensemble du feuillage et la plante meurt (Bouhot, 1972). Ceux-ci apparaissent en raison du blocage des vaisseaux déclenchés par la prolifération d'hyphes fongiques, la libération de toxines, de gommages, de gels et la formation de tyloses, ce qui conduit à l'obstruction partielle ou totale des tissus vasculaires. Une coupe longitudinale au niveau de la tige des plantes atteintes, présente dans la partie ligneuse et adjacente au cortex vert, une coloration brune sombre des tissus conducteurs (Smahi, 2008).

Des coupes transversales laissent apparaître également des tissus contenant des vaisseaux nécrosés et des fragments mycéliens, une coloration brune foncée (Figure 4.b) (Smahi, 2008 ; Blancard, 2009)



**Figure 4.** Symptômes du flétrissement causé par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Karthika et al., 2020).

(a) Vue de champ de plants de tomates infectés notant le jaunissement des feuilles les plus anciennes et (b) décoloration des tissus vasculaires des plants.

## 1.9. Mécanismes d'action et facteurs de pathogénicité

### 1.9.1. Synthèse d'enzymes de dégradation

Les espèces du genre *Fusarium* sont connues pour leur production d'enzymes de dégradation, pour décomposer les substrats complexes pour leur croissance (Anbuet et al., 2017; Gopinath et al., 2017). L'espèce *F. oxysporum* produit plusieurs enzymes hydrolytiques, qui agissent sur les composantspectiques et cellulosiques des parois cellulaires des végétaux, et aident le champignon à pénétrer et à coloniser les cellules racinaires de l'hôte (Lynd et al., 2002; Rajeswari, 2014; Bedade et al., 2017). Il utilise les cellulases pour la décomposition de la cellulose pour être utilisée comme source de glucides. Cependant, ces enzymes jouent un rôle dans la pathogénèse du flétrissement. Les enzymes cellulases, désignées C1 et C2 agissent sur les molécules cellulose insolubles pour produire des chaînes linéaires, qui sont attaqués par l'enzyme Cx, pour produire le cellobiose et le glucose (Husain et Dimond, 1960; Fisher, 1965; MacHardy et Beckman, 1981; Bedade et al., 2017).

### 1.9.2. Production de toxines

La majorité des formes spéciales de *F. oxysporum* produisent en général des toxines qui sont issues de métabolites primaires ou secondaires phytotoxiques (phytotoxines). Ces molécules sont impliquées dans la pathogénèse de *F. oxysporum* (Di Pietro et al., 2003). La toxine la plus connue produite par *F. oxysporum* est l'acide fusarique. A haute concentration, cette toxine induit de nombreuses réponses physiologiques dans les cellules végétales, y compris l'altération de la croissance cellulaire, l'activité mitochondriale et la perméabilité membranaire,

alors qu'à une faible concentration, il pourrait déclencher des réactions de défense des plantes et la mort cellulaire programmée (Bouizgarne *et al.*, 2006). En plus de l'acide fusarique, certains isolats de *F. oxysporum* ont montré qu'ils produisent des toxines supplémentaires telles que la beauvericine, l'ennantaine B, la bikaverine, la moniliformine, la fumonisine et le trichothécène (Mirocha *et al.*, 1989 ; Moretti *et al.*, 2002 )

### **1.9.3. Détoxification des composés antifongiques de la plante**

*F. oxysporum* a développé différentes stratégies pour tolérer les composés antifongiques produits par la plante hôte. Il s'agit notamment de la modification de la teneur en stérols de la membrane, la régulation des gènes spécifiques de la chitine synthase qui ont récemment été considérés comme des facteurs de pathogénicité de nombreux *F. oxysporum* importants et la sécrétion des enzymes qui dégradent et détoxifient les composés antifongiques (Défago *et al.*, 1983 ; Madrid *et al.*, 2003 ; Martín-Urdiroz *et al.*, 2008 ; Pareja-Jaime *et al.*, 2010).

### **1.10. Méthode de lutte contre les fusarioses vasculaires**

La protection des plantes contre les maladies représente une part importante des interventions phytosanitaires sur de nombreuses cultures, tant en fréquence d'application qu'en volume de produits utilisés. La demande de méthodes alternatives dans ce domaine est considérable et a suscité une forte augmentation des efforts de recherche (Nicot, 2002).

Les moyens de contrôle de *F. oxysporum*, hormis la résistance génétique, sont assez peu efficaces du fait que ce champignon peut survivre de nombreuses années dans le sol en absence d'hôte (au moins 06 ans sous forme de chlamydospores) sans prendre en compte les capacités saprophytiques du champignon qui augmentent ces chances de survie, qui rend son contrôle difficile (Haware *et al.*, 1996; Nene, 1980 ; Sharma et Muehlbauer, 2007). Différents moyens de lutte ont été préconisés en vue de réduire les pertes dues à la fusariose vasculaire des plantes.

#### **1.10.1. Les pratiques culturales**

Les mesures préventives sont importantes et efficaces car une fois le champignon est présent dans le sol, l'emploi des autres méthodes de lutte seront très coûteuses. Les pratiques culturales, à savoir la destruction des débris de récolte des plantes infectées par brûlis, la jachère de longue durée, la rotation culturale avec des cultures non hôtes, peuvent agir sur la densité de l'inoculum présent dans le sol. Mais l'éradication du champignon par ces techniques ne paraît pas très efficace, car *F. oxysporum*, même en absence de son hôte, peut survivre à l'état saprophytique dans les débris végétaux et la rhizosphère des plantes non- hôtes (Booth, 1971 ; Edelet *et al.*, 1995).

La fusariose et d'autres maladies sont favorisées par des conditions qui sont défavorables à la croissance des racines et des plantes. Par conséquent, les bonnes pratiques culturales (la réduction du compactage du sol et un bon drainage, ainsi que l'utilisation de semences de haute qualité), contribueront à réduire le problème (Donald, 1985). Dans les parcelles contaminées, il faut éviter les cultures du henné et de la luzerne qui nécessitent une irrigation abondante favorable à la maladie, et qui sont des porteurs sains de l'agent pathogène (Bulitet *al.*, 1967).

### 1.10.2. Lutte chimique

Les produits chimiques sont efficaces pour lutter contre certaines maladies, mais leur coût est trop élevé. En plus, de nombreuses études démontrent les risques que représentent les pesticides sur la santé humaine et l'environnement (Ploetz, 2000; Ploetz *et al.*, 2003). Le traitement des semences avec le bénomyl à 0.3 % a été rapporté comme moyen de lutte efficace (Kannaiyan et Nene, 1974). Mais le bénomyl a été détecté dans les racines et les jeunes pousses de 45 jours après le semis des graines traitées par ce fongicide (Kannaiyan *et al.*, 1975). Différents autres fongicides couramment utilisés en agriculture ont été testés tels que le méthylthophanate, la chloropicrine et le bromure de méthyle (Saaidi et Rodet, 1974 ; Cheikh-Aïssa, 1990 ; Frederiks et Dembreber, 1991 ; Vanachter, 1991).

### 1.10.3. Lutte physique

C'est une méthode qui consiste à stériliser le sol par la chaleur, la solarisation avant transplantation ou bien de traiter les racines par l'eau chaude entre 48 et 49°C pendant 30 secondes (Anchisi *et al.*, 1985). Ces méthodes présentent le désavantage qu'elles ne soient pas des solutions efficaces à long terme (Smahi, 2008).

### 1.10.4. Lutte génétique

L'utilisation des variétés résistantes a été considérée comme la principale mesure pratique et économique pour contrôler la maladie en plein champ. La résistance génétique des plantes est une alternative clé pour lutter contre les maladies et les ravageurs des cultures. Cependant, les agents pathogènes s'adaptent fréquemment à la résistance génétique et la surmontent, en particulier lorsqu'elle est déterminée par des gènes majeurs. Ainsi, la résistance quantitative a gagné un intérêt ces dernières années pour relever le défi majeur de la durabilité de la résistance génétique (Pilet-Nayelet *et al.*, 2017).

### 1.10.5. Lutte intégrée

Selon Singh *et al.* (1993), le traitement des grains des semences par une suspension sporale d'un agent de lutte biologique *Gliocladium virens* et Foltaf à 2g/Kg réduit

considérablement le flétrissement vasculaire. D'autres auteurs, comme Mukhopadhyay *et al.* (1992), ont proposé la carboxine avec le même agent de lutte biologique.

La solarisation des sols pendant 6 semaines combinée avec l'inoculation des mycorrhizes (*Glomus fasciculatum*) suivi d'un traitement avec du carbosulfan peuvent réduire le flétrissement vasculaire (Mukerji *et al.*, 2009). D'autres travaux ont montré que l'application de *Trichoderma harzianum* avec des traitements fongicides (Vitavax et Ziram) sur des graines, réduit l'incidence de la fusariose (Kaur et Mukhopadhyay, 1992).

Amir (1991), propose également une lutte intégrée contre *F. oxysporum* comprenant l'éradication par fumigation et inoculation avec des antagonistes des foyers primaires dangereux, création de variétés résistantes nouvelles par croisement, recherche de mutants résistants à partir des cultures *in vitro*, éradication par dessèchement et dessalement naturel du sol et l'introduction de la lutte prophylactique et culturale. Ces méthodes sont complémentaires et prennent en compte la prévention et l'éradication des foyers.

### 1.10.6. Méthodes biologiques

Une autre méthode alternative pour protéger les plantes contre les agents pathogènes est l'application des méthodes de biocontrôle par l'utilisation de différents microorganismes doués d'activité antagoniste, conduisant à des phénomènes d'antibiose et d'hyperparasitisme (Azcon-Aguilar et Bare, 1997).

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux microorganismes antagonistes tels que les bactéries, les champignons et les actinomycètes, dans l'espoir de mettre au point un procédé de lutte efficace capable de limiter la gravité des fusarioses (Alabouvette *et al.*, 1986). Parmi les bactéries utilisées en lutte biologique, on peut citer *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens* et *Bacillus* spp. Parmi les champignons, il existe les *Fusarium* non pathogènes et *Trichoderma harzianum* (Amir, 1991 ; Amir et Mahdi, 1993).

## 2. Le biocontrôle des maladies

Le biocontrôle peut être défini de manière très générale comme « toute méthode, produit ou organisme fondé sur la gestion des équilibres des populations de bioagresseurs et limitant leur éradication systémique » (IBMA, 2014). Il sert donc à contrôler les populations de nuisibles (ravageurs et agents pathogènes), afin de maintenir les dégâts causés sur une espèce végétale cultivée en dessous du seuil de nuisibilité économique supportable par le producteur. Cette définition comprend quatre catégories d'approche (IBMA, 2014):

- des macro-organismes (insectes, nématodes, acariens) ;
- des microorganismes (champignons, bactéries, virus) ;
- des médiateurs chimiques (phéromones sexuelles, kairomones) ;
- des substances naturelles d'origine végétale, minérale ou animale.

Ces biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes), de substances d'origine naturelle (extraits végétaux, phéromones), ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes (Thakore, 2006). Soixante-dix produits phytopharmaceutiques de biocontrôle à base de micro-organismes possèdent cette autorisation, dont 80% concernent la lutte contre des maladies telluriques (IBMA, 2014).

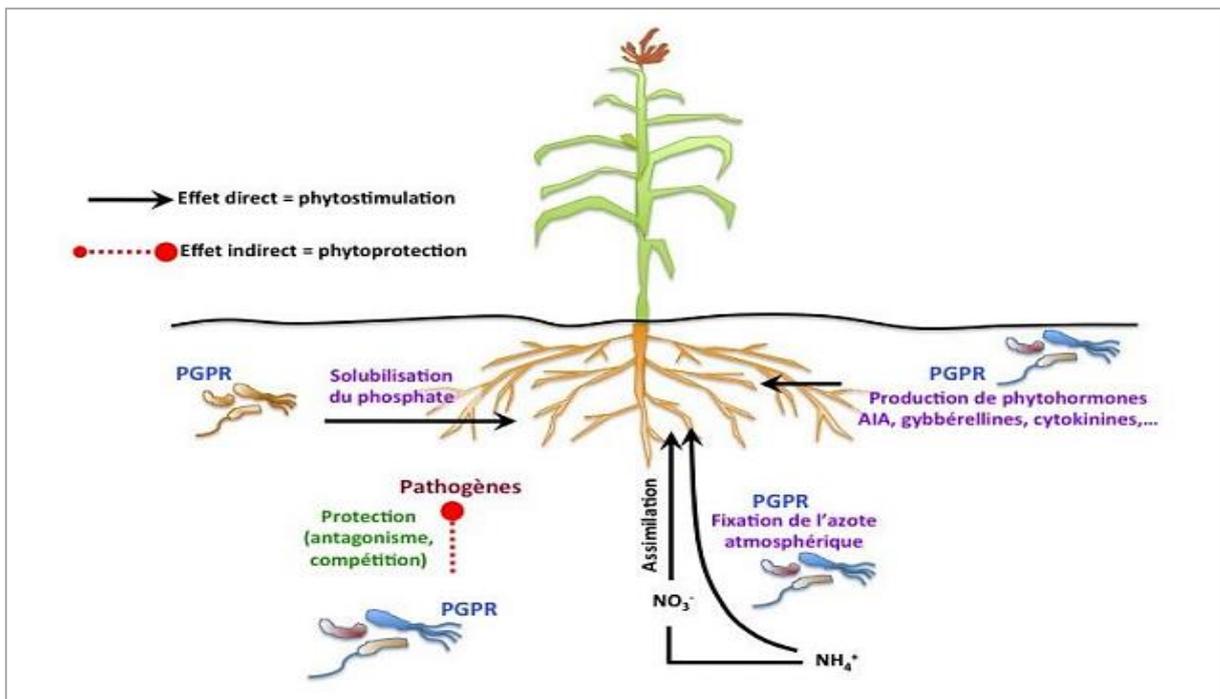
### **2.1. Diversité des microorganismes antagonistes**

#### **2.1.1. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)**

La rhizosphère est la partie du sol riche en nutriments qui entoure les racines des plantes et constitue un habitat pour des millions de microorganismes qui se développent sur les exsudats des racines notamment les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR : *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (García-Salamanca *et al.*, 2013).

Divers microorganismes du sol tels que *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Agrobacter*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Cellulosimicrobium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Frankia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Microbacterium* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhizobium* sp., *Serratia* sp. et *Xanthomonas* sp. sont les constituants de base de la flore de la rhizosphère et présentent une forte compétence rhizosphérique (Bhattacharyya et Jha, 2012 ; Tailor et Joshi, 2014 ; Karthik *et al.*, 2016 ; Teymouriet *et al.*, 2016).

Les PGPR sont des rhizobactéries bénéfiques qui peuvent directement stimuler la croissance de l'hôte en assurant la disponibilité et l'absorption de certains macro- et micronutriments (Jaisingh *et al.*, 2016 ; Khan et Bano, 2016). Elles créent une tolérance au stress, améliorent l'efficacité des engrais et contribuent à la bioremédiation (Tiwarie *et al.*, 2016). Elles peuvent également agir indirectement sur la plante en inhibant les effets néfastes de la flore pathogène (Figure 5) (Pieterse et Wees, 2015 ; Lecomte *et al.*, 2016 ; Jaber et Enkerli, 2017).



**Figure 5.** Principaux mécanismes d'action des PGPR (Mattar, 1993).

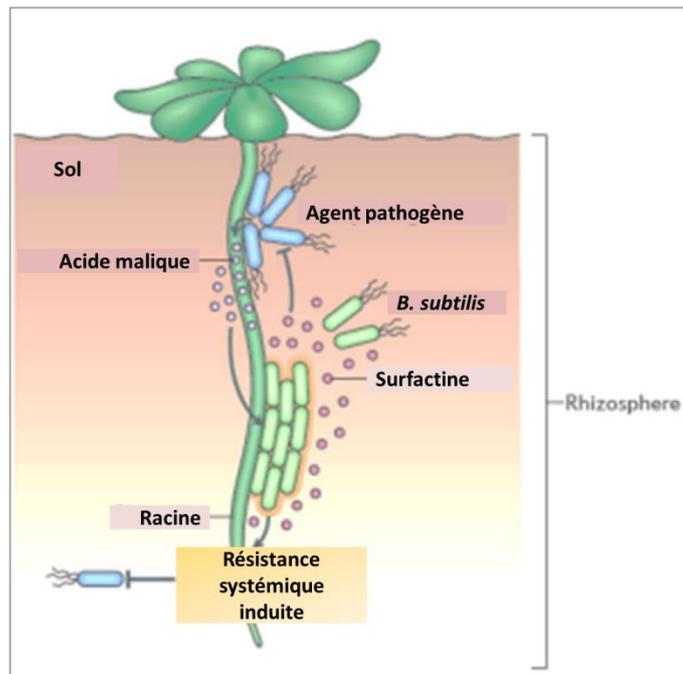
#### 2.1.1.1. Stimulation de la croissance végétale

La stimulation de la croissance par ces rhizobactérie se traduit par la production de métabolites secondaires analogues aux phytohormones et par l'amélioration de l'alimentation hydrominérale. Certaines PGPR sont capables de fixer l'azote atmosphérique et le mettent à la disposition des plantes, leur inoculation sur les cultures revitalise l'activité de promotion de la croissance, et maintient le niveau d'azote dans le sol agricole (Damamet *et al.*, 2016).

La solubilisation et la minéralisation du phosphore par les PGPR sont la conséquence de la sécrétion de différents types d'acides organiques (ex. : l'acide carboxylique), qui abaisse le pH dans la rhizosphère et libère ainsi les formes de phosphate liées comme le  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dans les sols calcaires (Sharma *et al.*, 2003 ; Liu *et al.*, 2012 ; Meena *et al.*, 2014 ; Shrivastava *et al.*, 2016 ; Sindhu *et al.*, 2016 ; Bahadur *et al.*, 2017). Les PGPR améliorent aussi la capacité d'absorption du fer et le rendent sous forme assimilable pour la plante par la production de sidérophores, étant donné que cette dernière est incapable de l'assimiler sous sa forme brute (Whipps, 2001 ; Li *et al.*, 2016). *Pseudomonas* spp. et *Bacillus* spp. sont, de loin, les plus étudiées à cet égard. Les essais ont montré des augmentations en hauteur des plants de tomates (56% et 68%) ainsi que des améliorations de tous les paramètres de croissance, en particulier de la biomasse fraîche et sèche des racines (Bergottini *et al.*, 2015 ; Fan *et al.*, 2017 ; Zerrouk *et al.*, 2019 ; Rahmoune *et al.*, 2017).

### 2.1.1.2.L'induction de la résistance systémique

Les PGPR peuvent aussi induire une résistance systémique (ISR) qui n'est pas précisément contre un agent pathogène spécifique mais elle joue un rôle majeur dans le contrôle d'une gamme d'agents phytopathogènes (Kamal *et al.*, 2014). Par exemple, *Bacillus subtilis* sécrète des surfactines à activité antibactérienne permettant d'empêcher la colonisation de la racine par *Pseudomonas syringae*, une bactérie phytopathogène. La production de surfactines, et autres lipopeptides, permet d'enclencher la résistance systémique induite (Figure 6) (Vlamakis *et al.*, 2013).



**Figure 6.** Schéma de la colonisation des racines par *Bacillus subtilis* en formant son biofilm (Vlamakis *et al.*, 2013).

L'ISR peut être divisée en trois étapes principales : (i) la perception des phytohormones (l'acide jasmonique et l'éthylène) ou élicitation, (ii) la transmission d'un signal systémique dans la plante et (iii) l'expression des mécanismes de défense de l'hôte. Le système de défense est représenté par plusieurs enzymes, comme la polyphénol oxydase, la  $\beta$ -1, 3-glucanase, l'acétylcholinestérase, la phénylalanine ammoniac lyase, peroxydase, etc., et les espèces réactives de l'oxygène, les phytoalexines, les composés phénoliques et des protéines liées à la pathogénèse ainsi que la formation de barrières physiques comme la modification des parois cellulaires (Wiesel *et al.*, 2014 ; Ongena *et al.*, 2006).

Dans le cas de la fusariose vasculaire, plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, de *Bacillus* spp., de *Lysinibacter* spp. et d'*Achromobacter* spp. ont

la capacité d'induire la résistance systémique chez la plante avec un taux de protection allant jusqu'à 84,3% (Benchabane, 2005 ; Ferrazet *al.*, 2014 ; Attia *et al.*, 2020).

### 2.1.1.3. La compétition trophique et spatiale

La compétition pour les nutriments et les espaces d'infection serait en grande partie responsable de la diminution jusqu'à 50% des attaques des phytopathogènes (Gravel, 2007 ; Benhamou *et al.*, 2012). Globalement, la compétition s'effectue vis-à-vis des agents pathogènes sans interaction directe avec ces derniers, les PGPR produisent des enzymes qui dégradent la matière organique complexe, les glucides simples ou les acides aminés. La compétition pour les glucides combinés à la compétition pour l'azote et pour le fer, joue un rôle clé dans la suppression de la fusariose vasculaire (Köhlet *al.*, 2019).

Plus de 98 % des différents *Pseudomonas* fluorescents isolés du sol produisent des sidérophores appelés pyoverdine ou pseudobactine détectables en cas de carence en fer (Cocoza et Ercolani, 1997). Certains d'entre eux ont un grand pouvoir de chélation du fer et peuvent reconnaître et utiliser les sidérophores produits par d'autres microorganismes ce qui favorise le processus de la compétence et de la colonisation rhizosphérique (Ongena *et al.*, 2002). Les souches JO et JO7 de *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que la souche ToIrMA de *Bacillus pumilus* réduisent l'incidence de la fusariose de la plante jusqu'à 73% à travers la production de sidérophores (Heidarzadeh et Baghaee-Ravari, 2015 ; Paramanandham *et al.*, 2017).

### 2.1.1.4. L'antibiose

Les PGPR produisent des métabolites secondaires toxiques pour l'agent pathogène cible. Ces métabolites, produits à faibles concentrations, peuvent inhiber la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents pathogènes (Ulloa-Ogazet *al.*, 2015 ; Goswami *et al.*, 2016 ; Ramadan *et al.*, 2016 ; Chen *et al.*, 2018).

*Pseudomonas* spp produisent surtout des antibiotiques tels que 2,4-diacétylphloroglucinol, les phénazines, la pyolutiorine, la pyrrolnitrine (Strano *et al.*, 2017 ; Mishra et Arora, 2018). De ce fait, *Pseudomonas* P6 s'est révélé apte à diminuer de manière très sensible la fusariose vasculaire de la plante jusqu'à des taux dépassant le seuil de 85% (Benchabane *et al.*, 2000 ; Larbaoui, 2003). Ce pendant, *Bacillus subtilis* a une capacité de produire la zwittermicine, la bacillomycine, la fengycine, la bacilysine et la difcidine (Maksimov *et al.*, 2011 ; Mangalanayaki *et al.*, 2016). De plus, *Paenibacillus himensis*

s'est avéré une souche productrice de composés organiques extracellulaires et d'une enzyme brute qui agissent contre *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) (Naing *et al.*, 2014). Ainsi que l'endobactérie *Burkholderia rinojensis* qui produit une nanoparticule toxique pour Fol (oxyde de Magnésium MgONPs), avec un taux d'inhibition jusqu'à 100% (Abdel-Aziz *et al.*, 2020).

### 2.1.1.5. Les composés organiques volatils (COV)

Ils sont de nature lipophile avec un faible poids moléculaire, une odeur caractéristique et une pression de vapeur élevée, ce qui leur permet de passer facilement à travers les membranes, l'environnement du sol et l'atmosphère et se propager sur de longues distances (Pichersky *et al.*, 2006). De petites concentrations de COV produits par les PGPR sont impliquées dans le contrôle biologique en induisant la résistance systémique chez la plante contre les différents pathogènes, dont ils servent de médiateurs pour la connexion entre la plante et l'agent antagoniste (Morath *et al.*, 2012 ; Cordero *et al.*, 2014 ; Velivelli *et al.*, 2015). Les COV servent également de produits finaux dans la biosynthèse des monoterpènes, sesquiterpènes, cétones, alcools, esters, lactones, dérivés du benzène et des acides gras (Korpiet *et al.*, 2009 ; Stoppacher *et al.*, 2010 ; Bitas *et al.*, 2013).

Diverses espèces de *Bacillus* produisent ces composés, à savoir, des phénylpropanoïdes, des dérivés d'acide gras et un mélange complexe de terpénoïdes et de lactones volatiles qui présentent des propriétés antibiotiques (Elshafie *et al.*, 2013). Une étude récente élaborée par Jangir *et al.* (2018) a mis en évidence l'inhibition de Fol par *B. subtilis* 2274 (85,7%) via la production de ces composés. En outre, Kong *et al.* (2020) ont rapporté que le composé 1-undécène de la souche *Pseudomonas chlororaphis* ST-tj4 a fortement inhibé la croissance mycélienne du phytopathogène plus que les substances diffusibles.

Le HCN est un composé antimicrobien volatil connu pour son rôle dans la suppression des maladies, l'inhibition de la chaîne de transport des électrons et l'approvisionnement en énergie de la cellule. Il inhibe aussi l'action du cytochrome oxydase (Heydari et Mohammad 2010 ; Rijavec et Lapanje, 2017). Cette propriété délétère permet au PGPR d'acquérir un avantage concurrentiel évident parmi la communauté microbienne tellurique (Ramette *et al.*, 2003 ; Hayat *et al.*, 2010). *Bacillus* et *Pseudomonas* sont les principaux producteurs du HCN (Mishra et Arora, 2018 ; Sehwat et Sindhu, 2019). De ce fait, les essais ont montré que *Pseudomonas* sp. a réduit la croissance de Fol grâce à la production de ce métabolite (Someya *et al.*, 2006 ; Lachisa et Dabassa, 2016).

#### 2.1.1.6. Les enzymes hydrolytiques

La dégradation de la paroi cellulaire des champignons pathogènes par la sécrétion d'enzymes lytiques est une activité antifongique qui contribue au biocontrôle des phytopathogènes (Aeronet *al.*, 2011 ;Jadhavet *al.*, 2017).Des données récentes indiquent clairement que la sécrétion de la chitinase, la cellulase, laprotéase et de la  $\beta$  -1,3 glucanase par des isolats de *Streptomyces*, de *Bacillus* et de *Pseudomonas* joue un rôle principal dans la dégradation de Fol.Globalement, l'action des métabolites est bien liée avec la production des enzymes parl'agent de biocontrôle ( Maboodet *al.*, 2014)

Il a été signalé que l'effet des enzymes et antibiotiques produits par les microorganismes donne une efficacité plus élevée de la lutte biologique par rapport à l'antagonisme obtenue par l'un ou l'autre mécanisme seul car les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire sont nécessaires pour l'entrée des antibiotiques et les métabolites antifongiques à l'intérieure du pathogène (Howell, 2003).

#### 2.1.2. Les champignons favorisant la croissance des plantes (PGPF)

Les champignons favorisant la croissance des plantes (PGPF :*Plant GrowthPromotingFungi*) sont des champignons non pathogènes, saprotrophes, qui vivent librement à la surface des racines, à l'intérieur de la racine elle-même ou dans la rhizosphère (Bent, 2006). Ils ont plusieurs effets positifs sur la plante hôte, à savoir, l'amélioration de la germination des semis et l'élongation des pousses.Certains peuvent aussi affecter le développement des racines et stimuler une floraison précoce. D'autres ont la possibilité d'améliorer la capacité photosynthétique de la plante et stimuler la production de métabolites secondaires de l'hôte. Ils ont également la capacité de protéger les plantes contre les microorganismes nuisibles notamment les champignons.Par conséquent, ils sont considérés comme des ingrédients actifs potentiels dans la formulation des biofertilisants et des mycofongicides (Pieterseet *al.*, 2014).

Parmi les PGPF, *Trichoderma*et quelques souches non pathogènes appartenant au genre *Fusarium*, ont une large distribution et sont, de loin, les plus largement signalés comme étant agents de biocontrôle contre *F. oxysporum*(Ramirez-Carinoet *al.*, 2020).Le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons filamenteux, imparfaits et saprophytes .Plusieurs souches sont utilisées en biocontrôle, en raison de leur capacité de reproduction élevée ,leur résistance dans des conditions défavorables, de leur efficacité dans l'utilisation des nutriments, de leur agressivité vigoureuse contre les agents pathogènes des plantes et de leur efficacité dans

la promotion de la croissance et des mécanismes de défense des plantes (Suleiman *et al.*, 2019 ; Sallam *et al.*, 2019 ).

La capacité des différentes espèces non pathogènes de *Fusarium* dans la gestion des maladies a été rapportée dans de nombreuses études. Ces souches diffèrent non seulement par leur efficacité et leur mode d'action, mais aussi par leur caractéristique génotypique et phénotypique (Van der *et al.*, 1986). Du point de vue théorique, l'interaction entre les souches pathogènes et non pathogènes de *Fusarium* tient place au niveau du sol, au niveau de la rhizosphère mais également à l'intérieur des racines (Alabouvette *et al.*, 1982). Il est également à noter que les *Fusarium* non pathogènes jouent un rôle prépondérant dans les actions d'inhibition des fusarioses dans les sols suppressifs (Rouxelet *et al.*, 1979).

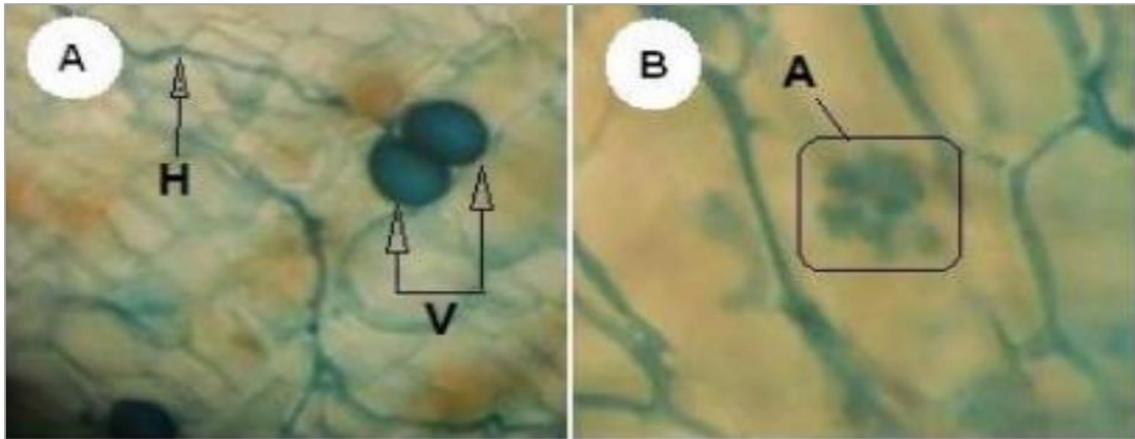
Les *Trichoderma* et les souches non pathogènes de *Fusarium* agissent à travers un ou plusieurs modes d'actions en même temps. Ces mécanismes comprennent la compétition spatiale, l'induction d'une résistance systémique, la promotion de la croissance de la plante, la sécrétion d'enzymes lytiques, ainsi que le mycoparasitisme et l'antibiose qui concernent particulièrement le genre *Trichoderma*. (Suleiman *et al.*, 2019 ; Sallam *et al.*, 2019 ; Ramirez-Carino *et al.*, 2020).

### 2.1.3. Les mycorhizes

Les mycorhizes se définissent comme des associations durables impliquant des échanges à bénéfices réciproques (Smith et Read, 2008). Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) sont des biotrophes obligatoires qui colonisent la majorité des plantes (**Figure 7**) (Filho *et al.*, 2016). Ils sont présents dans la plupart des écosystèmes terrestres (Brundrett, 1991). Ces champignons colonisent les racines de plus de 90% des espèces végétales, au bénéfice mutuel de la plante hôte et du champignon. Ce dernier obtient une source de carbone dérivée de la photosynthèse végétale et n'a donc pas à rivaliser pour le carbone rare de la rhizosphère pour survivre et proliférer et la plante hôte reçoit plusieurs avantages notamment : l'amélioration de sa croissance, l'absorption d'eau et de nutriments et une meilleure accessibilité aux oligo-éléments (cuivre, zinc, fer). De plus, le CMA peut améliorer la tolérance des plantes à de nombreux stress abiotiques tels que la salinité et à la sécheresse, et la résistance aux maladies fongiques (Wang *et al.*, 2017).

Les mycorhizes peuvent, seules ou en combinaison avec un autre agent de lutte biologique, contrôler de nombreux agents pathogènes fongiques des plantes, entre autres *Fusarium* sp. (Gao *et al.*, 2018). Dans ce contexte, le potentiel des CMA comme agents de lutte biologique a été répertorié chez plusieurs espèces comme :

*Funneliformis mosseae*, *Glomus intraradices*, *Rhizophagus irregularis* et *Gliocladium fimbriatum* (Fitrianingsih *et al.*, 2019).



**Figure 7.** Aspect des champignons mycorhiziens intra-racinaires (Abohatem *et al.*, 2011) .

(H) Hyphe, (V) vésicules et (A) arbuscule.

### 2.1.3.1. Mécanismes d'action

En fonction de la maladie et des conditions environnementales, les mécanismes probables expliquant l'activité de biocontrôle des CMA peuvent inclure une compétition directe avec le pathogène pour les produits photosynthétiques et/ou les sites de colonisation, et/ou un changement de la composition microbienne rhizosphérique (Al-Askar *et al.*, 2010). En outre, ils peuvent contrôler la maladie *via* l'amélioration de la santé des plantes, la modification morphologique de la racine et/ou l'induction d'une résistance systémique (Majewska *et al.*, 2017).

Le CMA concurrence l'agent pathogène pour la source de carbone ainsi que pour les tissus racinaires lors d'une colonisation simultanée où les hyphes mycorhiziens saturant davantage les sites d'infection disponibles, limitant ainsi la pénétration des hyphes pathogènes, ce qui pourrait jouer un rôle important dans le développement de ces deux microorganismes (Smith, 1988 ; Azcon-Aguilar et Barea 1996). Ces champignons ont aussi la capacité de modifier l'architecture de la racine végétale entraînant une ramification accrue du système racinaire, un raccourcissement des racines adventives ou une augmentation des racines fines (Gamalero *et al.*, 2004). La ramification intense des racines induite par la mycorhization s'accompagne d'un changement qualitatif et quantitatif dans la composition des exsudats racinaires (Harrier et Watson, 2004). Il en résulte une légère baisse du pH du sol suffisante pour retarder la sporulation ou ralentir le métabolisme des phytopathogènes (Norman et Hooker, 2000).

Les CMA peuvent stimuler les moyens de défense de la plante de manière systémique ou locale par l'augmentation de la concentration en métabolite phénolique induisant une augmentation de la lignification et la formation d'une barrière physique vis-à-vis du pathogène ou par la stimulation de voies métaboliques qui mènent à une résistance plus importante de la plante (Morandi, 1996 ; Liu *et al.*, 2007). A titre d'exemple, une étude menée par Renet *al.* (2010) dans laquelle ils ont montré que *Glomus etunicatum* a considérablement augmenté le nombre des actinomycètes, ce qui a conduit à une réduction importante de nombre de Fol (95%) chez les plantes.

### 2.1.4. Les cyanobactéries

Les cyanobactéries appartiennent au groupe des bactéries Gram négatif ayant des propriétés de photolyse dégageant de l'oxygène et de fixation d'azote (Ressomet *al.*, 1994). Les cyanobactéries peuvent survivre dans presque tous les habitats, ce qui fait d'elles une riche source de divers métabolites d'intérêt pharmaceutique ou toxicologique plusieurs importantes bioactivités (antifongiques, antivirales, antibiotiques et autres) (Rinehart *et al.*, 1994 ; Borowitzka, 1995 ; Baracaldo *et al.*, 2005). De ce fait, leurs extraits sont couramment utilisés dans l'agronomie, car elles stimulent la vigueur et la productivité des plantes, elles sont aussi connues pour leur effet contre les champignons pathogènes (Husain et Neri, 2016).

#### 2.1.4.1.1 Mécanismes d'action

Les cyanobactéries sont connues pour la libération de divers types de substances bioactives comme les vitamines, les polysaccharides et les phytohormones qui fonctionnent comme des molécules élictrices efficaces contre la croissance des colonies fongiques de plusieurs phytopathogènes en activant les gènes responsables de la résistance chez la plante et/ou comme des molécules antifongiques qui inhibent directement la croissance mycélienne (Singh et Shachi, 2014).

La production de phytohormones a été signalée principalement à partir de cyanobactéries isolées des champs de culture. Des études montrent que les cyanobactéries peuvent produire des régulateurs de croissance similaires à l'IAA (acide indole acétique), la cytokinine, la gibbérelline, l'éthylène, l'acide jasmonique ou les acides abscissiques. A cet effet, il a été rapporté que fusariose vasculaire induit une accumulation d'acide abscissique qui assure la survie de la plante dans des conditions de stress, la production d'acide abscissique a été remarqué chez *Nostoc muscorum*, *Trichormus variabilis* et *Synechococcus leopoliensis* (Khan *et al.*, 2012).

Les cyanobactéries produisent aussi des exopolysaccharides qui sont l'une des principales classes d'inducteurs de l'immunité des plantes, induisant la production de NO, l'influx calcique, l'accumulation de transcrits du gène PR et les altérations de la paroi cellulaire qui incluent le dépôt de callose et de composés phénoliques (Coté et Hahn 1994 ; Silipo *et al.*, 2010). Des enzymes de défense telles que la phénylalanine ammoniaclyase, la polyphénoloxydase et l'activité enzymatique liée à la pathogenèse, y compris l'activité de la chitosanase et de la  $\beta$ -1,3 glucanase, était la plus élevée dans les racines des plants de tomates traités avec des formulations cyanobactériennes d'*Anabaena variabilis* RPAN59 et d'*Anabaena laxa* RPAN8 (Prasanna *et al.*, 2013).

Les cyanobactéries sont connues également pour être riches en vitamines, où plusieurs souches, telles que *Spirulina*, *Anabaena* sp., *Anabaena flosaqua*, *Anabaena hassali*, *Microcystis pulverana*, *Nostoc* sp., *Nostoc punctiforme*, *Phormidium bijugatum*, *Oscillatoria jatorvensis* et *Chroococcus minulus* sont signalées pour contenir de la thiamine (vitamine B1), riboflavine (vitamine B2), acide folique, acide ascorbique, acide nicotinique (vitamine B3), cyanocobalamine (vitamine B12) et pentothène (Robbins *et al.*, 1951; Koptera 1970; Aaronson *et al.*, 1977; Shah et Vaidya, 1977). La thiamine par exemple, active les gènes liés à la SAR (résistance acquise systémique) dans la tomate et prévient plusieurs maladies causées par des infections fongiques, bactériennes et virales (Ahnet *et al.*, 2005). Dans le cas de la fusariose vasculaire, plusieurs études ont montré l'importance des cyanobactéries dans la diminution de la maladie *in vitro* et *in situ*, quantitativement et qualitativement (Kim et Kim, 2008 ; Kumari *et al.*, 2019). Dans une autre étude élaborée par Alwathnani et Perveen (2012), les graines de tomate traitées avec *Nostoc lickia*, ensuite infestées par Fol, ont exprimé une germination maximale (93%) par rapport aux graines non traitées.

### 2.1.5. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques (LAB) ont également été étudiées en tant que possibles agents de biocontrôle, démontrant leur efficacité contre les bactéries, les levures et surtout les champignons filamenteux (Dalié *et al.*, 2010). Diverses souches appartenant au groupe des LAB ont fait preuve d'une réduction de la maladie et d'inhibition de la croissance des phytopathogènes, à savoir : *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393, *L. coryniformis* Si3, *Pediococcus pentosaceus* MiLAB 170 et *L. sakei* (Lavermicocca *et al.*, 2000 ; Ström *et al.*, 2002 ; Sjögren *et al.*, 2003 ; Anas *et al.*, 2008; Amin *et al.*, 2009 ; Askari *et al.*, 2012).

#### 2.1.5.1. Mécanismes d'action

Lacapacité antagoniste et bio-protectrice des LABest attribuée à la compétition pour lesnutriments (colonisation) et à l'antibiose par la synthèse de différents composés antimicrobiens, y compris les acides organiques, les bactériocines, leperoxyde d'hydrogène et les acides gras hydroxylés et enmodifiant la réponse immunitaire des plantes (Stoyanovaet al., 2012 ; Konappaet al., 2016 ; Lamontet al., 2017 ). Cependant, il y a peu depreuves qui montrent que ces microorganismes jouent un rôle dans la stimulation de lacroissance des plantes par la production de phytohormones (Carmona-Hernandez et al.,2019 ).

Il a été signalé que certainessouches de *Lactobacillus* produisent des cytokines et de l'IAA (Lynch, 1985 ; Mohite, 2013 ; Shresthaet al.,2014 ; Giassiet al., 2016), alors que d'autres n'en produisent pas (Kang et al.,2015).A cet égard, dans une étude menée par Lopez-seijas et al. (2019),des souches debactéries lactiques du vin appartenant aux espèces *Lactobacillus plantarum* (LPLUV10), *L.paracasei* (LPAUV12), ont été utilisées pour des essais d'antagonisme contre Fol sur lesplants de tomates adultes. Le degré d'inhibition varie entre 55 % (souche LPLUV10) lorsqueles bactéries et le champignon sont inoculés simultanément, et 76 % (souche LPAUV7) lorsque la bactérie est préalablement cultivée pendant 48h. L'activité antifongique de ces LAB a étéattribuée à leur capacité à produire et à libérer des métabolites tels que la reutéline, les acidesorganiques ou les composés phénoliques ainsi que des substancesantifongiques de nature protéique (Daliéet al., 2010 ; Gerezet al., 2013).

De plus, la souche *L. plantarum*LPLUV10 a présenté une augmentation significative du poids sec (environ 24%), cetteaugmentation représente environ 41% par rapport aux plantes infectées par *F. oxysporum*.D'une autre part, il a été montré que les LAB sont capables de réduire l'effet pernicieuxde Fol sur les plants de tomates provenant d'un habitat différent, démontrant ainsi uneefficacité potentielle à plus large spectre contrairement aux bactériesrhizosphériques(Vaikuntapuet al., 2014 ; Lopez-seijas et al .,(2019).

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

## Chapitre II. Matériel et méthodes

Notre étude qui porte sur le biocontrôle microbien de fusariose vasculaire, a été réalisée au niveau du laboratoire de PFEDu département de Biotechnologie et de l'Agro-écologie de l'université Saad Dahleb (Blida 1). Le travail est effectué en deux parties :

- La première est consacrée à l'étude *in vitro* de l'effet antagoniste de deux souches bactérienne et fongique vis-à-vis de souches phytopathogènes de *F. oxysporum*.
- La deuxième est dédiée à la mise en évidence de la production de quelques métabolites secondaires impliqués dans l'antagonisme microbien.

### 1. Matériel biologique

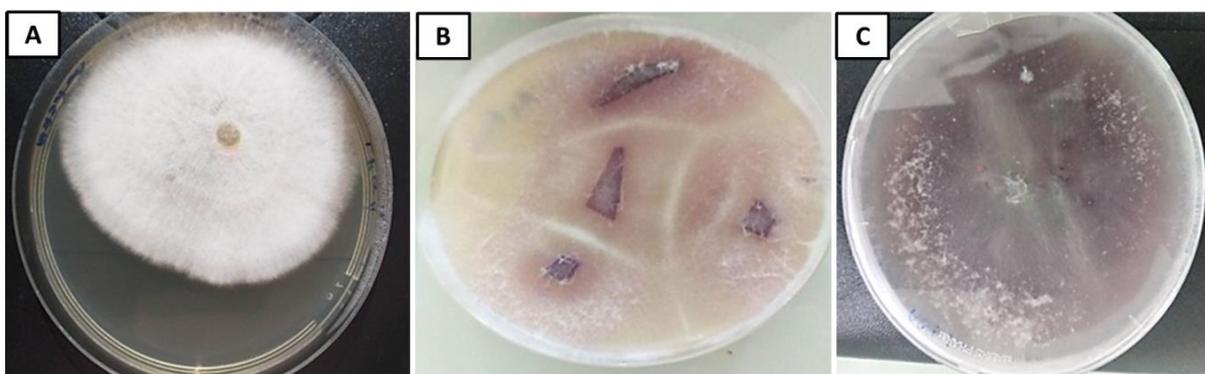
#### 1.1. Souches pathogènes

Nous avons utilisé trois formes spéciales de *F. oxysporum* à savoir : *albidinis* (Foa), *pisi* (Fop) et *phaseoli* (Foph) (Tableau 2, Figure 8).

**Tableau 2 :** Souches phytopathogènes de *F. oxysporum* utilisées.

Forme spéciale de <i>F. oxysporum</i>	Origine et provenance
<i>albidinis</i> (Foa)	Isolée à partir de palmier symptomatique, laboratoire de Mycologie, (SNV, Blida 1).
<i>pisi</i> (Fop)	Souches de référence, IAS-CSIC*, Cordoue,
<i>phaseoli</i> (Foph)	Espagne.

\**Instituto de Agricultura Sostenible - CSIC, Córdoba, España.*



**Figure 8.** Les cultures fongiques des souches de *F. oxysporum* utilisées.

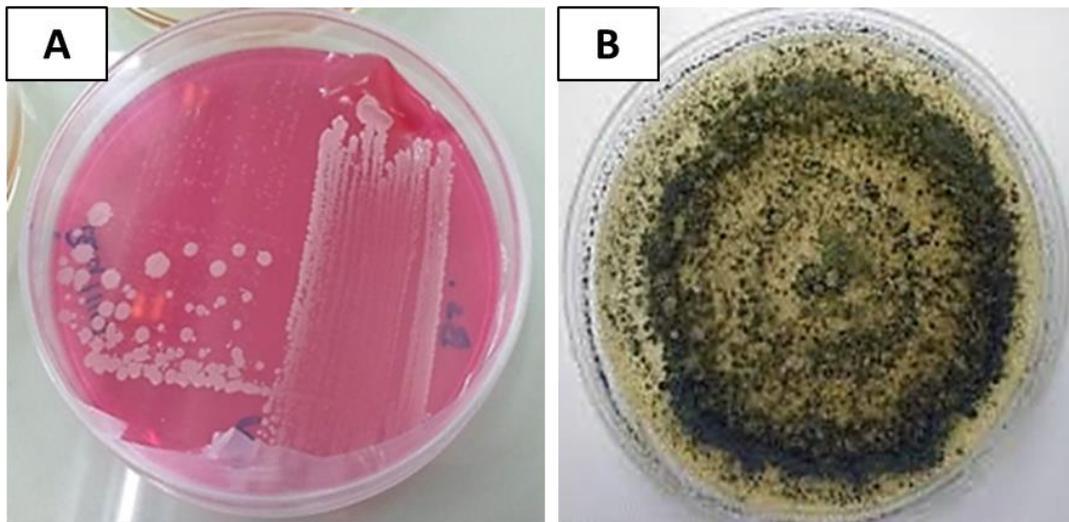
(A) Foa ,(B)Fop et(C) Foph.

#### 1.2. Souches antagonistes

Deux souches antagonistes ont été utilisées : une souche bactérienne de *Bacillus* sp. et une souche fongique de *Trichoderma* sp. (Tableau 3, Figure 9).

**Tableau 3 :** Souches antagonistes utilisées.

Souche antagoniste	Origine et provenance
<i>Bacillus</i> sp.	Isolée à partir du sol, laboratoire de biotechnologie microbienne, Agro-Bio-Tech, Gembloux, Belgique.
<i>Trichoderma</i> sp.	Isolée à partir de petit pois, laboratoire de Mycologie (SNV, Blida 1).

**Figure 9.** Les cultures des souches antagonistes.(A) *Bacillus* sp. et (B) *Trichoderma* sp.

Afin de purifier les souches fongiques pathogènes et antagoniste, des disques mycéliens sont découpés et repiqués dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes ont été par la suite incubées à 28°C pendant 4 à 5 jours.

Pour la purification de la souche bactérienne antagoniste de *Bacillus* sp., nous avons prélevé la crème bactérienne à partir d'une culture conservée à 4°C, et l'ensemencé sur des boîtes de Pétri contenant la GN (gélose nutritive), puis l'incubé à 37°C pendant 24 à 48h.

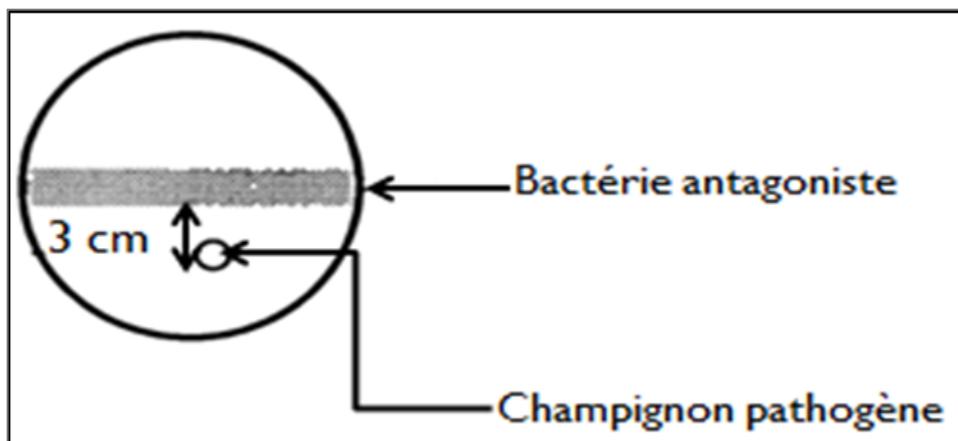
## 2. Essais d'antagonisme *in vitro*

Le test de l'activité antifongique des souches étudiées consiste à rechercher leur effet antagoniste sur le développement des souches pathogène de *F. oxysporum*, en utilisant la méthode de la confrontation simultanée. Howell (2003).

### 2.1. Interaction bactérie antagoniste -champignon pathogène

Pour cette interaction, nous avons testé l'effet inhibiteur de la souche de *Bacillus* sp. Face aux trois formes spéciales de *F.oxysporum* selon la méthode décrite par Howell (2003).

Dans des boîtes de Pétri contenant le milieu GN, la souche bactérienne antagoniste est ensemencée en trait à 3 cm du disque du champignon pathogène (Figure 10). Des témoins ont été préparés contenant uniquement les disques mycéliens des souches pathogènes Foa, Fop et Foph. Chaque interaction a été répétée trois fois. Les boîtes sont par la suite incubées à 28°C pendant 7 jours.

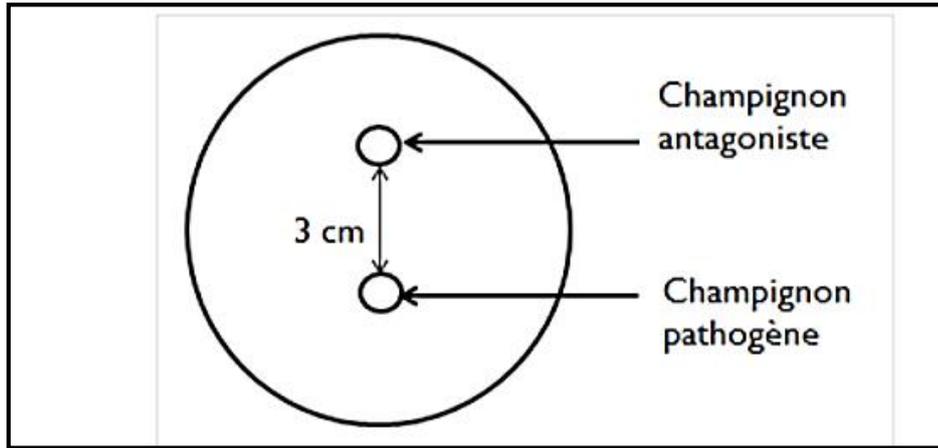


**Figure 10.** Interaction bactérie antagoniste –  
champignon pathogène.

## 2.2. Interaction champignon antagoniste -champignon pathogène

Pour cette interaction, nous avons confronté *Trichoderma* sp. Aux trois formes spéciales de *F.oxysporum* selon la technique décrite par Howell (2003).

Dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA, deux disques mycéliens, l'un de l'antagoniste et l'autre du pathogène, sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte (Figure 11). Les boîtes sont ensuite incubées à 28°C pendant 7 jours. Le nombre de répétitions est de trois pour chaque interaction ainsi que des témoins contenant uniquement les souches pathogènes Foa, Fop et Foph ont été préparés pour la comparaison.



**Figure 11.** Interaction champignon antagoniste -champignon pathogène.

### 2.3. Calcul du taux d'inhibition

La croissance mycélienne du pathogène a été évaluée, en mesurant le diamètre de la colonie du pathogène qui se trouve en interaction avec l'antagoniste. L'évaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène selon la formule suivante (Idris *et al.*, 2007) :

$$I (\%) = \frac{R-r}{R} \times 100, \text{ dont :}$$

- **I (%)** : taux d'inhibition de la croissance mycélienne ;
- **r**: diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste ;
- **R**: diamètre moyen des colonies témoins.

Un taux d'inhibition supérieur ou égal à 20% indique le pouvoir antagoniste des souches testées (Idris *et al.*, 2007).

## 3. Mise en évidence *in vitro* de la production quelques métabolites secondaires impliqués dans l'antagonisme

### 3.1. Test de solubilisation des phosphates

Ce test permet d'évaluer la capacité de souches antagonistes à solubiliser les phosphates sur milieu Pikovskaya (PVK) additionné de bleu de bromophénol. Les souches de *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp. ont été ensemencées sous forme de spots sur le milieu PVK solide puis incubées à 28°C pendant 24 à 48h pour la bactérie et 7 jours pour le champignon. La solubilisation du phosphate se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Bouras, 2018).

### 3.2. Test de production de cyanide d'hydrogène (HCN)

La production de l'acide cyanhydrique (HCN) est testée sur le milieu TSA (*Tryptone Soya Agar*) additionné de glycine (4,4g/l). La souche bactérienne de *Bacillus* sp. a été ensemencée par stries, tandis que pour la souche fongique de *Trichoderma* sp., un disque mycélien a été déposé sur la gélose. Un disque stérile de papier Whatman de 9 cm de diamètre imprégné d'une solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium anhydre) a été déposé au fond du couvercle de la boîte de Pétri. Les boîtes ont été par la suite scellées avec du papier parafilm et incubées à 30°C pendant 96 h. Le résultat positif se traduit par le virage du papier Whatman du jaune vers une couleur orange à marron indiquant la production de HCN volatil (Benchabane, 2005).

### 3.3. Test de production d'amylase

La recherche d'amylase est effectuée par la mise en culture des souches antagonistes sur une gélose à amidon (Annexe X). Après incubation à 30°C pendant 5 jours, les boîtes de Pétri sont inondées avec du lugol. Un résultat positif indiquant la dégradation de l'amidon se traduit par la persistance de la couleur marron de lugol. (Holt et al., 1994).

### 3.4. Test de production de protéases

La recherche de la production de protéases a été réalisée sur une gélose au lait écrémé, obtenue en mélangeant 1g d'agar suspendue dans 90ml d'eau distillée avec 10ml du lait écrémé (Annexe). La production de protéase a été déterminée par un halo clair formé autour des colonies (Sebihi et al., 2020).

### 3.5. Test de production de la lipase

Sur le milieu TSA, additionné de 1% de tween 80 (monoléate de sorbitol), nous avons ensemencé les souches antagonistes en piqure ou par spots. Après une incubation à 37°C pendant 48h pour la bactérie et 7 jours pour le champignon, les colonies de souches lipase (+) sont entourées d'un halo clair indiquant la dégradation des lipides. (van Diji et Hecker 2013 ; Ma et al. 2015 )

### 3.6. Mise en évidence de la production de biofilm chez *Bacillus* sp.

#### 3.6.1. Test de production de biofilm sur gélose rouge Congo

Nous avons utilisé la méthode préconisée par Freeman et al. (1989) par culture de la souche bactérienne sur gélose rouge Congo (Annexe X) et incubation pendant 24 heures à 37°C en condition aérobie. La formation de biofilm est révélée par la présence des colonies noires avec un cristallin de consistance sèche.

### 3.6.2. Méthode de quantification du biofilm sur microplaque

La méthode est basée sur la technique décrite par Stepanovic *et al.* (2007). La souche de *Bacillus* a été cultivée sur (TSA) avec 2% de glucose et incubée pendant 24 heures à 37°C. Une colonie a été transférée dans un tube contenant 10 ml du bouillon trypticase soja (TSB) avec 2% de glucose. Les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 heures. La culture a été ensuite diluée à 1/100 avec du milieu TSB neuf et 200 µl de la suspension bactérienne a été inoculée en triplicata, dans les puits d'une microplaque.

Un bouillon stérile a été utilisé comme témoin, également incubé et introduit dans la plaque pour vérifier la stérilité. La microplaque a été incubée à 37°C pendant 24 heures, puis la suspension bactérienne a été aspirée et les puits ont été lavés trois fois avec 200 µl de solution tampon (PBS : *Phosphate-Buffered Saline*) pour éliminer les bactéries planctoniques et les biofilms formés ont été fixés avec 200 µl d'éthanol à 95% pendant 15 minutes.

La microplaque est séchée à la température ambiante puis colorée avec 200 µl de solution de cristal violet à 2% pendant 5 minutes. L'excès de colorant a été rincé par lavage à l'eau distillée et la plaque séchée à la température ambiante. Une forte production de biofilm est indiquée par la coloration foncée de la paroi des puits de la microplaque.

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

## Chapitre III. Résultats et discussion

### 1. Antagonisme *in vitro*

L'étude de l'activité antagoniste *in vitro* des souches *Bacillus* sp. et *Trichoderma* sp. vis-à-vis des trois formes spéciales de *F. oxysporum* (Foa, Fop et Foph), a permis de déterminer le potentiel d'inhibition du pathogène.

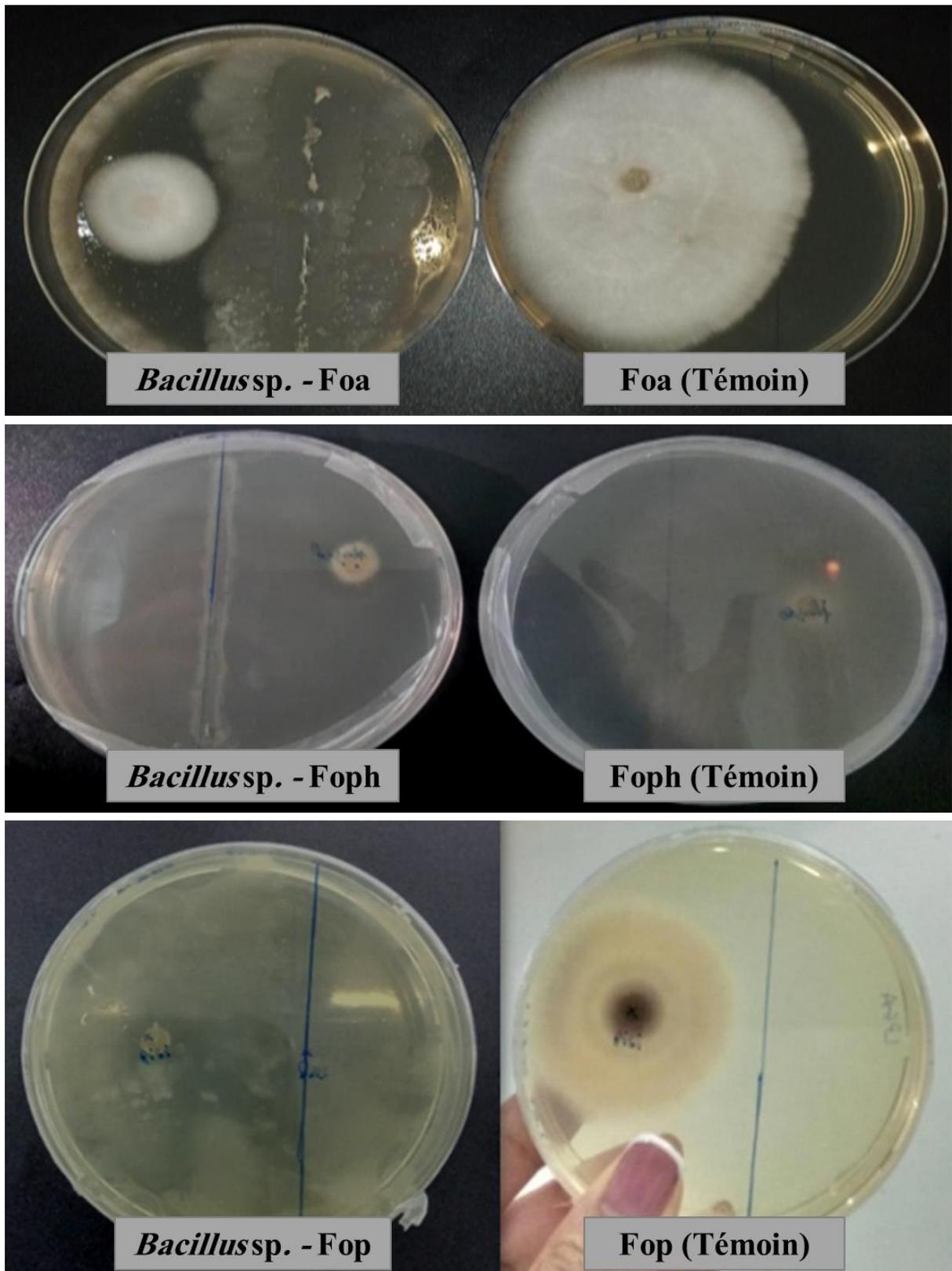
Les résultats de la confrontation des souches antagonistes avec les souches pathogènes, après 7 jours d'incubation, sont présentés dans le Tableau 4.

**Tableau 4:** Diamètre en mm des colonies des souches de *F. oxysporum* en présence de *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp.

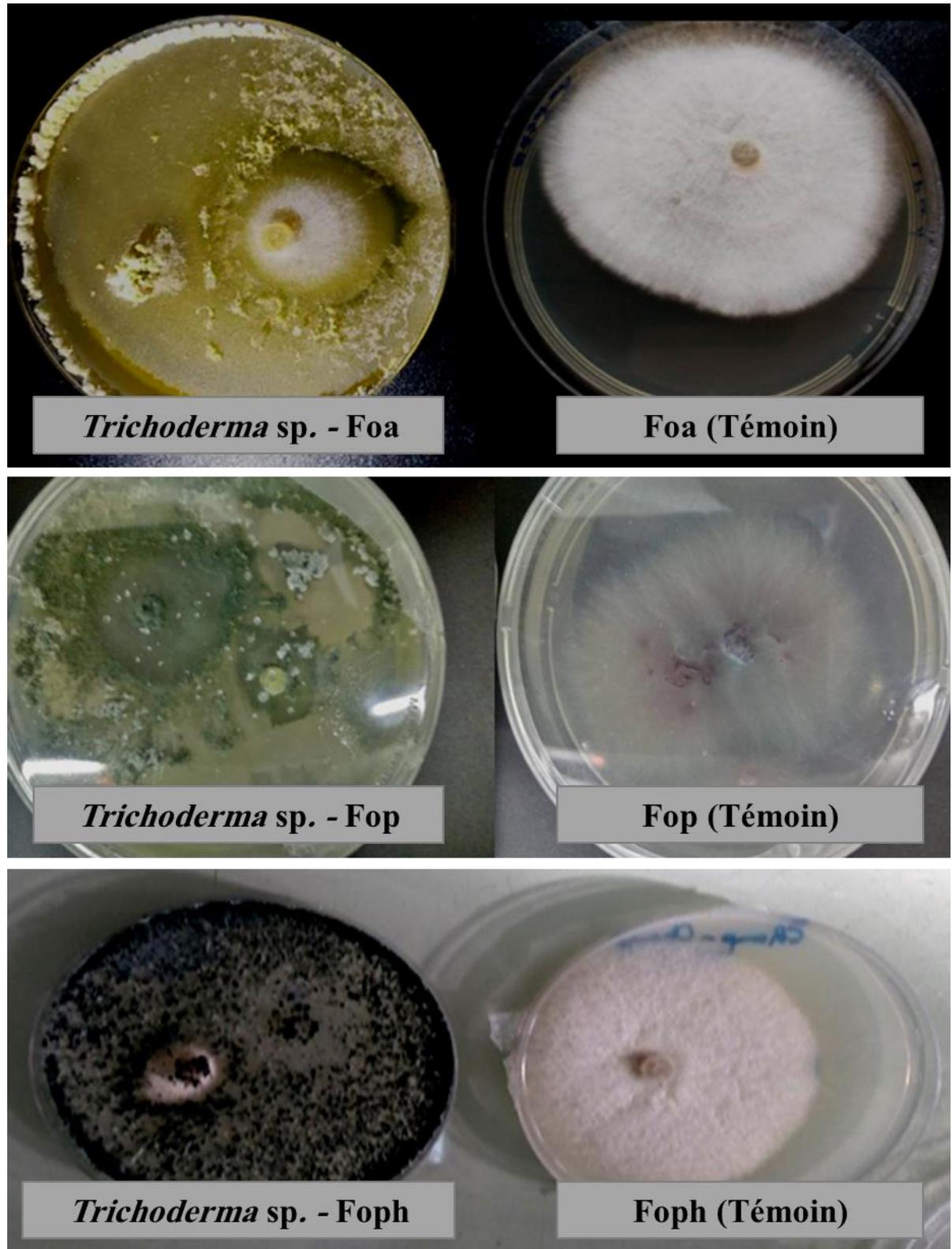
Antagoniste	<i>Bacillus</i> sp.			<i>Trichoderma</i> sp.			
	Pathogène	Foa	Fop	Foph	Foa	Fop	Foph
<b>Interaction</b>		26	7	7	32,33	0	4
<b>Témoin</b>		53	42	37,33	53,67	30	42,67

Les résultats des interactions entre les souches antagonistes et les trois formes spéciales de *F. oxysporum*, montrent que la croissance mycélienne des témoins est plus importante en comparaison à celle enregistrée avec les différentes interactions, dont des zones d'inhibitions très importantes ont été enregistrées chez les témoins, alors qu'en présence des souches antagonistes, le diamètre des zones a été moins important (Figures 12 et 13).

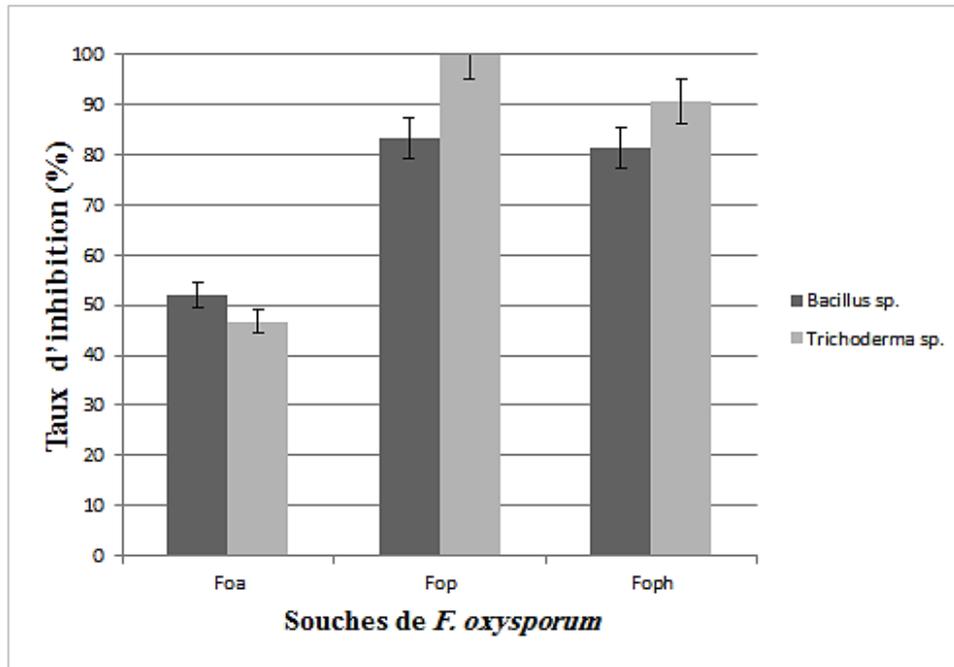
Le calcul du taux d'inhibition a montré que les deux souches antagonistes utilisées ont la croissance des 3 souches phytopathogènes utilisées, en enregistrant des valeurs qui dépassent 40% (Figure 14). Selon ces taux d'inhibition, *Trichoderma* sp. présente le pouvoir antagoniste le plus important en enregistrant des valeurs de 100% et de 90,7% vis-à-vis de Fop et de Foph, respectivement. *Bacillus* sp. a été plus efficace envers Fop (83,33%) et Foph (81,33%) par rapport à Foa (52,08%) (Figure 13).



**Figure 12.** Pouvoir antagoniste *in vitro* de *Bacillus* sp. vis-à-vis des trois souches phytopathogènes de *F. oxysporum*



**Figure 13.** Pouvoir antagoniste *in vitro* de *Trichoderma* sp. vis-à-vis des trois souches phytopathogènes de *F. oxysporum*.

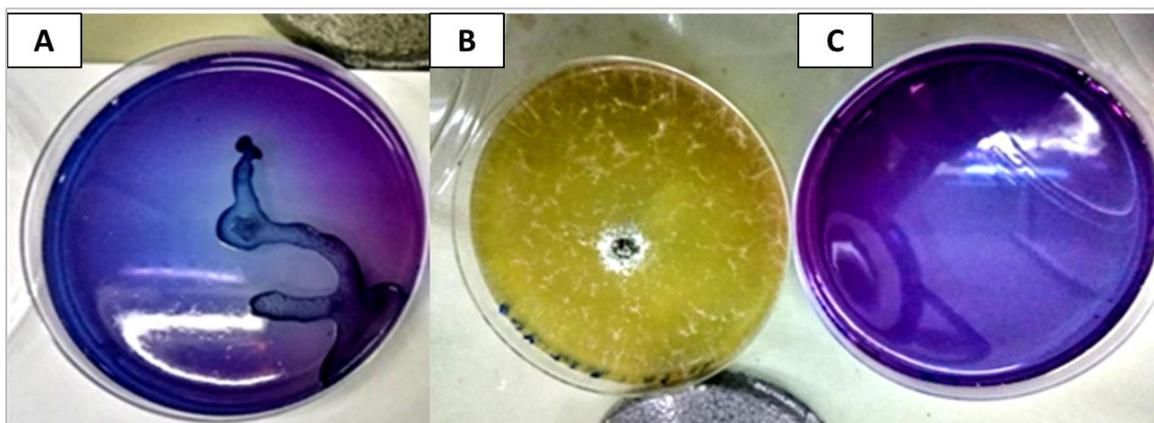


**Figure 14.** Taux d'inhibition enregistrés par *Bacillus sp.* et *Trichoderma sp.* vis-à-vis des trois souches de *F. oxysporum*.

## 2. Production de métabolites secondaires impliqués dans l'antagonisme

### 2.1. Solubilisation de phosphate

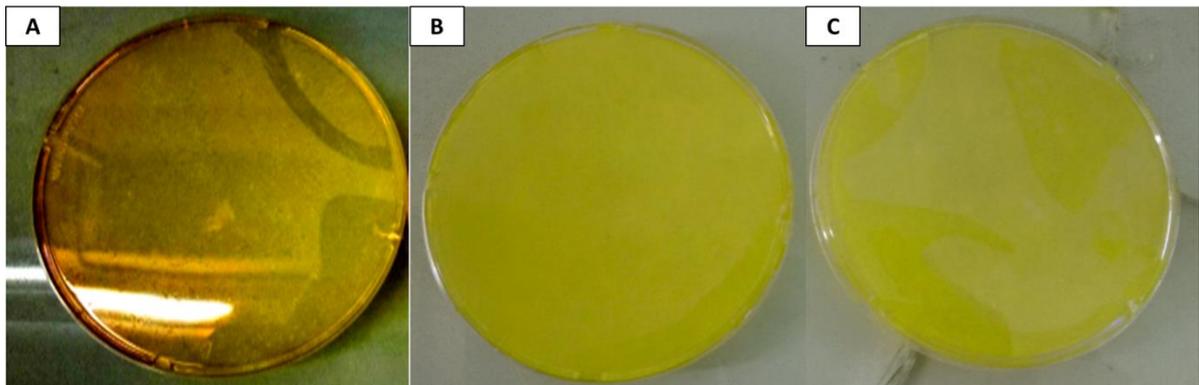
Les souches antagonistes ont été testées pour leur efficacité à solubiliser le phosphate sur milieu PVK solide contenant le  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphore. Après incubation, nous avons enregistré l'apparition d'un halo clair autour des colonies résultant de la décoloration du bleu de bromophénol suite à l'acidification du milieu. Les souches antagonistes de *Bacillus sp.* et de *Trichoderma sp.* utilisées sont donc productrices de phosphatase (Figure 15).



**Figure 15.** Résultats du test de solubilisation de phosphate.  
(A) *Bacillus sp.*, (B) *Trichoderma sp.* et (C) témoin négatif.

### 2.2. Production de cyanide d'hydrogène (HCN)

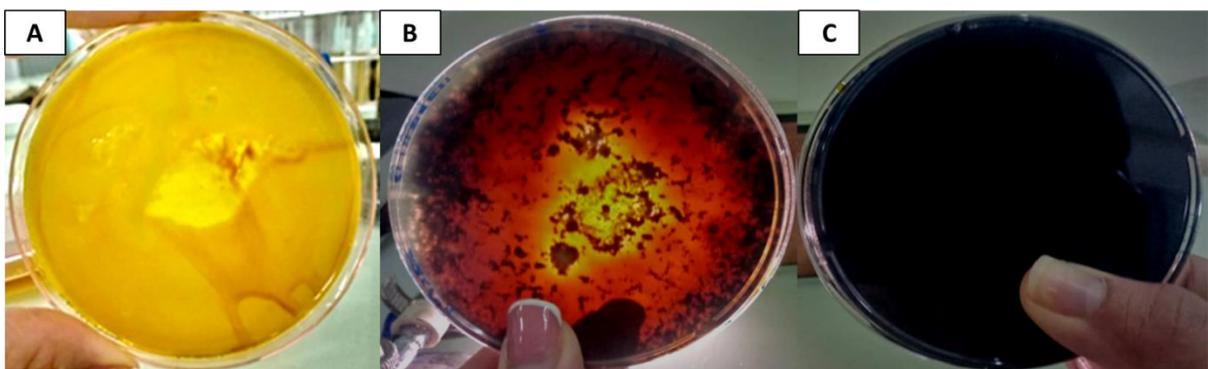
La production de HCN par les souches antagonistes a été examinée en utilisant le milieu TSA additionné de glycine et révélée par l'ajout d'une solution de picrate de sodium. Pour la souche de *Bacillus* sp., un virage de la couleur du réactif vers le marron a été enregistré, montrant la capacité de cette souche à produire cet antimicrobien volatil (Figure 16.A). En outre, la souche de *Trichoderma* sp. n'a pas pu produire le HCN, dont nous n'avons noté aucun changement de couleur du ractif par rapport au témoin négatif (Figure 15.B et C).



**Figure 16.** Résultats du test de production de HCN.  
(A) *Bacillus* sp., (B) *Trichoderma* sp. et (C) témoin négatif.

### 2.3. Production d'amylase

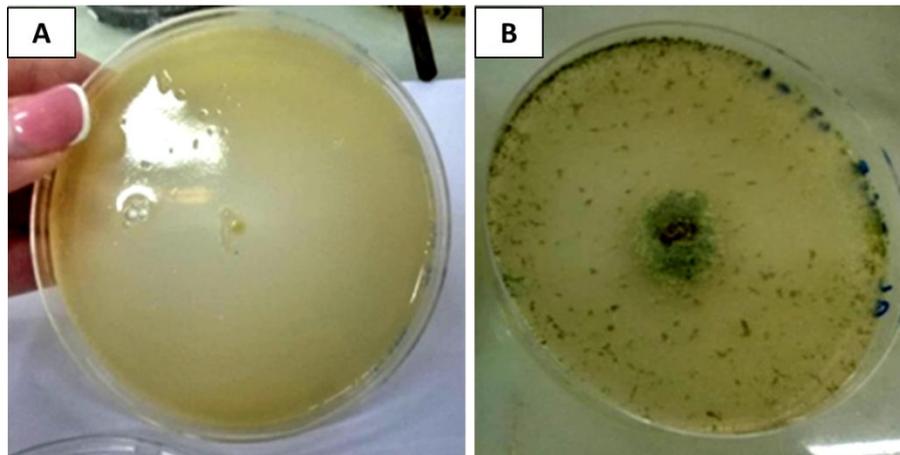
La capacité des souches antagonistes à produire l'amylase a été testée sur milieu gélose amidon. La production a été révélée par l'apparition d'un halo autour des colonies après l'ajout de lugol (Figure 17). Le milieu a pris la couleur marron du réactif, qui prouve que l'amidon présent dans le milieu a été complètement dégradé par les souches de *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp. (Figure 17). Les souches antagonistes que nous avons utilisées produisent donc l'amylase.



**Figure 17.** Résultats du test de production d'amylase.  
(A) *Bacillus* sp., (B) *Trichoderma* sp. et (C) témoin négatif.

### 2.4. Production de protéase

L'activité protéolytique des souches antagonistes a été testée sur milieu gélose au lait, et révélé par l'apparition des zones claires autour des souches productrices. Cet halo a été observé chez *Bacillus* sp., ce qui démontre la capacité de cette souche à produire des protéases (Figure 18.A). Tandis que chez *Trichoderma* sp., nous n'avons pas enregistré l'apparition de cet halo, ce qui indique que cette souche ne produit pas de protéases (Figure 18.B)

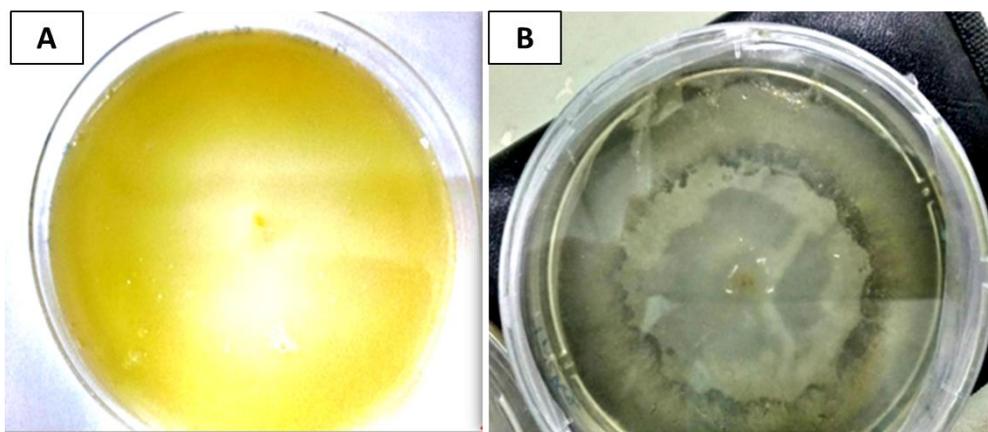


**Figure 18.** Résultats du test de production de protéases.

(A) *Bacillus* sp., et (B) *Trichoderma* sp.

### 2.5. Production de lipase

La production de lipase par les souches antagonistes a été testée sur milieu TSA additionné de tween 80, et révélée par l'apparition des zones claires autour des colonies productrices. Nous avons enregistré la présence d'un halo autour des colonies de *Bacillus* sp., et de *Trichoderma* sp., ce qui nous a 9).



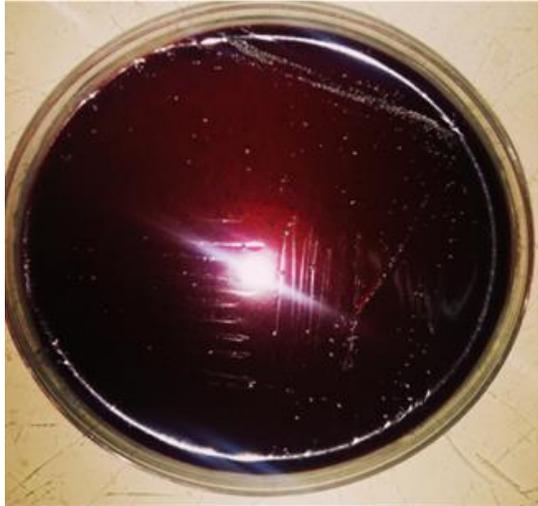
**Figure 19.** Résultats du test de production de lipases.

(A) *Bacillus* sp., et (B) *Trichoderma* sp.

## 2.6. Production de biofilm par *Bacillus* sp.

### 2.6.1. Production de biofilm sur gélose rouge Congo

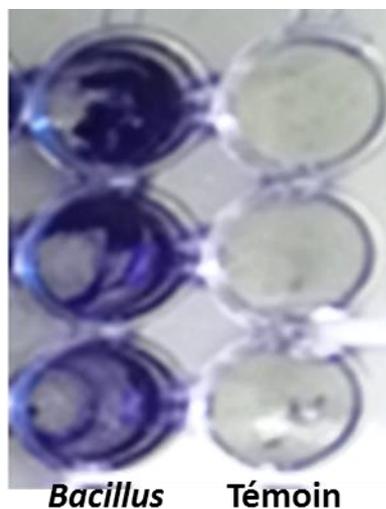
La production de biofilm a été examinée par ensemencement de la souche bactérienne sur milieu gélosé rouge Congo. Les résultats ont montré que *Bacillus* sp. a produit un biofilm, présentant des colonies noires, cristallines et sèches. Cet aspect est dû à la production des exopolysaccharides qui réagissent avec le rouge Congo. (figure.20)



**Figure 20.** Résultat du test de production de biofilm par la souche de *Bacillus* sp. sur gélose rouge Congo.

### 2.6.2. Quantification du biofilm sur microplaque

La quantification du biofilm sur microplaque a montré que la souche de *Bacillus* sp. présente une forte production de biofilm indiquée par une coloration foncée du cristal violet par rapport au témoin (Figure 21).



**Figure 21.** Résultat du test de quantification de biofilm produit par la souche de *Bacillus* sp. sur microplaque.

### 3. Discussion générale

L'antagonisme est l'un des mécanismes impliqués dans le biocontrôle des agents phytopathogènes assuré par certains microorganismes. Plusieurs espèces bactériennes et fongiques sont connues pour leur effet inhibiteur et peuvent être utilisées en tant qu'agents de lutte biologique. Dans ce concept, nous avons testé le pouvoir antagoniste *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de souches de *F. oxysporum*, agent causal de la fusariose vasculaire. Les résultats obtenus dans notre travail ont montré l'effet bénéfique des souches antagonistes testées, dont la croissance mycélienne du pathogène a été considérablement réduite.

La confrontation directe sur milieu de culture entre *F.oxysporum* et les deux souches antagonistes nous a démontré que la croissance radiale maximale des souches pathogènes n'a pas dépassé les 35 mm, en enregistrant les taux d'inhibition les plus élevés avec *Trichoderma* sp. :inhibition totale (100%) de Fop et 90,7% en interaction avec Foph. Par contre, un taux d'inhibition moins important a été enregistré avec Foa(46,70%). D'après Davet, (1983) et Meslouhi (1989), cette action inhibitrice est due à des substances, de nature chimique, libérées par les souches de *Trichoderma* sp.(phénomène d'antibiose). La capacité à produire de telles substances varie selon l'espèce pathogène confrontée. En plus de son action parasitaire, *Trichoderma* sp.se développe plus rapidement par rapport aux pathogènes en colonisant le milieu nutritif et en captivant les éléments nutritifs, c'est le phénomène de compétition (Alabouvette *et al.*, 1983 ; Dubot, 1985 ; Davet, 1996).

L'activité antifongique observée chez la souche de *Trichoderma* sp.peut être due aussi à la production d'enzymes extracellulaire. Ces enzymes sont responsables de la dégradation des parois cellulaires des agents pathogènes(Lorito *et al.*, 1993). Diverses études ont expliqué l'abondance des espèces de *Trichoderma* sp.dans les écosystèmes, par leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes.Elles sont de ce fait, un maillon important dans les chaînes biologiques (Widden et Abitrol, 1980 ; Vining, 1990; Kubicek *et al.*, 2003). De leurs côté, Elsaset *al.*,(1997) considère *Trichoderma* sp.comme un ascomycètes cellulolytiques. Catalano et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'interaction parasitaire établie par *Trichoderma* sp.contre les champignons phytopathogènes par analyse histologique et biochimique. Plusieurs activités enzymatiques ont été liées au mycoparasitisme, telles que les enzymes dégradant les composants de la paroi cellulaire à savoir, la chitinase, la cellulase, la lipase et la protéase.

Notre étude révèle une différence significative entre la croissance mycélienne des témoins pathogènes et celles des interactions. Nous avons noté cependant une très légère différence de l'effet de l'antagonisme de PGPR (*Bacillus* sp.) et de *Trichoderma* sp. vis-à-vis l'agent pathogène, dont l'action de *Trichoderma* sp. peut plus importante par rapport à *Bacillus* sp. Par conséquent, les taux d'inhibition enregistrés avec *Trichoderma* sp. sont plus élevés que ceux enregistrés avec *Bacillus* sp. Cette dernière a montré des taux d'inhibition élevés en interaction avec Fop et Foph (83,33% et 81,33%, respectivement), et un taux moyen (52,08%) en interaction avec Foa.

La croissance de *Bacillus* sp. est beaucoup plus rapide que celle des *F.oxysporum* et dès que les deux souches sont mis en confrontation, on peut remarquer directement un développement rapide de la bactérie avec une inhibition directe en diffusant dans toutes les boîtes. Akhtar et Siddiqui (2008) ont mentionné que *Bacillus* sp. a diminué l'incidence de la maladie causée par *F.oxysporum*. La réduction de la croissance fongique par *Bacillus* et la formation de zones d'inhibition étaient vraisemblablement en raison des métabolites, des substances antifongiques et/ou des enzymes dégradant la paroi cellulaire, libérés par la bactérie antagoniste dans le milieu de culture (Zarrin et al., 2009). Également, Sarhan et al., (2001) et Montealegre (2005) signalent que le filtrat de culture exempt de cellules de *Bacillus* sp. a inhibé la croissance mycélienne, la croissance radiale et la germination des spores et le tube germinative des agents pathogènes fongiques.

De nombreuses souches de *Bacillus* sp ont été trouvés être des agents de lutte biologique contre les agents pathogènes fongiques potentiels. Cette action antifongique implique la production d'antibiotiques, en particulier dans les microsites de sol (Fravel, 2005). Adebayo et Ekpo (2005) indiquent que *Bacillus* sp. a inhibé la croissance fongique et également favorisé la croissance des plantes. Cette bactérie a montré avoir un large spectre d'activité antimicrobienne sur divers champignons pathogènes (Grover et al., 2009). Les *Bacillus* sont connus aussi pour leur faculté à réduire l'indice de flétrissement causé par *F.oxysporum*, augmenter la croissance des plantes et provoquer la colonisation rapide des tissus végétaux dans l'ordre d'induire une résistance systémique (Kloepper, 2004).

Les microorganismes exercent un effet bénéfique sur la croissance des plantes et sont impliquées dans la solubilisation du phosphate ainsi que la production des phytohormones et des métabolites antimicrobiennes (Sharma et Johri, 2003 ; Beneduzi, 2012). Leur utilisation comme des agents de biocontrôle pour l'amélioration des cultures a été l'objet de plusieurs recherches.

La détection visuelle de la capacité de solubilisation de phosphate par les microorganismes est possible par un test *in vitro* sûr le milieu de culture PVK contenant le phosphate de tricalcium  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  comme seule source de phosphore (Ahemad et Kibret, 2013). Gupta *et al.* (1994) ont développé une technique améliorée en utilisant un milieu contenant du bleu de bromophénol. Dans ce milieu, des halos sont formés autour des colonies antagonistes en réponse à la baisse du pH suite à une production d'acides organiques. Ces dernières sont responsables de la solubilisation du phosphate.

La dissolution des composés organiques complexes en une forme utilisable de phosphore est possible par la production des enzymes en particulier les phosphatases et les phytases (Yadav et Tarafdar, 2003; Aseriet *al.*, 2009 ; Figueiredo *et al.*, 2010 ; Maouga *et al.*, 2014). Dans notre travail, nous avons observé des halos clairs autour des colonies des deux antagonistes (*Bacillus sp.* et *Trichoderma sp.*), ce qui signifie qu'une baisse de pH associée à la solubilisation de phosphore a été produite dans le milieu PVK. L'acidification du milieu est probablement due à la production d'acide organique phosphatase. Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportés par Narsian et Patel (2000), Vazquez *et al.* (2000), Hinsinger (2001), Rodriguez *et al.* (2004), Silini (2012) et Mardadet *al.* (2013).

La production des antibiotiques volatiles comme le HCN a été mise en évidence chez nos deux souches antagonistes. Le HCN se forme à partir d'un acide aminé en l'occurrence la glycine par la HCN synthétase (Castric, 1994). Cette enzyme est une flavoprotéine membranaire qui catalyse la formation de cyanure d'hydrogène et de  $\text{CO}_2$  à partir de la glycine (Ramette *et al.*, 2003). Selon les résultats de notre travail, un changement de couleur du papier imprégné du réactif, a été observé uniquement chez la souche de *Bacillus sp.*, ce qui indique la production de HCN. Par contre, la souche de *Trichoderma sp.* n'a pas enregistré ce changement de couleur. Selon Murugan *et al.* (2012), certains microorganismes, y compris *Trichoderma*, produisent le HCN en faibles quantités.

Les bactéries productrices de HCN sont insensibles à ces antibiotiques volatiles d'où leur besoin à produire une cytochrome oxydase alternative résistante au HCN (Bashan et de-Basan, 2005). Le HCN est produit par *Bacillus sp.* est postulé pour jouer un rôle dans la lutte biologique contre les agents phytopathogènes (Defago *et al.*, 1990).

Les protéases, l'amylase et les lipases sont des enzymes hydrolytiques d'importance majeure dans le biocontrôle, puisque les protéines, les lipides et l'amidon sont les principaux constituants de la majorité des parois cellulaires des champignons phytopathogènes, tels que les *Fusarium* (Kishore *et al.*, 2005). Nos résultats ont montré que les deux souches antagonistes

de *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp. testées, produisent ces métabolites extracellulaires. Cette production a été indiquée par la présence des halos clairs autour des colonies. Des souches de *Bacillus* ont montré une activité amylolytique et protéolytique prononcée comparativement à d'autres métabolites (Naik et Sakyhivel, 2006). Ces enzymes sont connues pour leurs interférences dans la dégradation de la paroi du pathogène fongique (Ahmadzadeh et Sharifi, 2009).

Concernant la souche de *Trichoderma* sp., sa capacité à produire l'amylase a été testée sur milieu gélose amidon, la production a été révélée par l'apparition d'un halo autour des colonies après l'ajout de lugol. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par Yousfi (2013). L'activité protéolytique de cette souche a été aussi confirmée dans notre étude, ce qui est en accord avec les recherches précédemment effectuées par Romanenko *et al.* (2000) et Kamal *et al.* (2009).

La souche de *Bacillus* sp. testée dans notre travail est capable de produire un biofilm pouvant être impliqué dans l'inhibition de la croissance des pathogènes, notamment grâce à la production d'antibiotiques, de composés volatils organiques et de toxines (Francis *et al.*, 2009). L'addition du glucose a un effet positif sur la formation du biofilm par les bactéries (Youwen *et al.*, 2010). En général, l'excès de glucose dans le milieu améliore la croissance des cellules dans le biofilm, où un lien entre la disponibilité des nutriments et le développement du biofilm a été démontré (Rode *et al.*, 2007; Takahashi *et al.*, 2009 ; Hua *et al.*, 2010). Dans notre étude, le développement des colonies noires sur milieu gélosé rouge Congo et la coloration avec le cristal violet sur la surface des puits de la microplaque, indiquent une production importante de biofilm. Sa formation se fait en deux étapes : une adhésion à la surface suivie d'une production des exo-polysaccharides, qui sont essentiels à la formation des biofilms chez les *Bacillus* (Savadogo *et al.*, 2004).

# **Conclusion**

## Conclusion

Parmi les maladies cryptogamiques à importance économique, les fusarioses vasculaires constituent un grand problème dans le secteur agricole. Pour contrôler cette maladie, des solutions alternatives aux méthodes conventionnelles de lutte sont donc recherchées. De nouvelles stratégies biotechnologiques ont pour but d'introduire des microorganismes bénéfiques, tels que les PGPR et les champignons antagonistes, dans le sol pour combattre *Fusarium oxysporum*, l'agent responsable de cette maladie.

Les PGPR et les champignons bénéfiques jouent un rôle dans la suppression des maladies, et la stimulation des capacités défensives naturelles des plantes par la synthèse des métabolites antimicrobiens. En plus de leur aptitude à réduire l'incidence des maladies telluriques dans certains champs, ils peuvent inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes.

Dans notre travail, l'essai de l'antagonisme *in vitro* et la confrontation directe entre les trois souches de *F. oxysporum* (Foa, Fop et Foph) et les souches antagonistes de *Bacillus* sp. et *Trichoderma* sp., a révélé une inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes, avec des valeurs de taux d'inhibition plus importants enregistrés avec la souche de *Trichoderma* sp. (Jusqu'à 100%) par rapport à la souche de *Bacillus* sp.

L'éventuelle production de métabolites impliqués dans le pouvoir antagoniste a été mise en évidence par la réalisation de tests effectués dans des conditions *in vitro*. Ces tests ont montré l'aptitude des souches de *Bacillus* sp. et de *Trichoderma* sp. À produire l'amylase, la lipase, les protéases et les phosphatases. De plus, la souche de *Bacillus* sp. a pu produire également le HCN et le biofilm.

Afin de mieux comprendre les mécanismes activés au moment des interactions des souches antagonistes avec l'agent pathogène, des études biochimiques, métaboliques et moléculaires plus avancées doivent être réalisées. Ces mécanismes peuvent participer à l'amélioration de la fertilité du sol et de la santé végétale, ce qui leur permet d'être des agents de biocontrôle et de biofertilisation.

Comme continuation de ce travail, il sera intéressant d'approfondir les investigations, continuer les recherches dans le biocontrôle microbien et examiner les effets de ces souches antagonistes dans des conditions *in planta* et *in situ* et contre d'autres agents phytopathogènes à intérêt agro-économique.

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- Aaronson S., Dhawale S.W and Patni N.J. (1977).**The cell content and secretion of water soluble vitamins by several fresh water algae. Arch Microbiol 112,57–59.
- Abed H. (2017).** Dépistage et utilisation des *rhizobactéries* antagonistes (*Pseudomonas et Bacillus*) dans la lutte biologique contre la fusariose du pois chiche induite par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Thèse de Doctorat 3ème cycle , Filière ; Biologie , Spécialité : Microbiologie . Université Ferhat Abbas, Sétif 1. 191 p.
- Abohatem M., Chakrafi F., Jaiti F., Dihazi A et Baaziz, M. (2011).**Arbuscular mycorrhizal fungi limit incidence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Albedinis* on date palm seedlings by increasing nutrient contents, total phenols and peroxidases activities. The Open Horticulture Journal, 4: 10 – 16p.
- Adebayo O.S., Ekpo E.J.A., (2005).** Efficiency of fungal and bacterial biocontrol organisms for the control of fusarium wilt of tomato. Nigerian Journal of Horticultural Sciences 9: 63-68.
- Aeron A; Sandeep, K; Piyush P and Maheshwari DK. (2011).**Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. In: Bacteria in agrobiolgy: crop ecosystems. Springer, Berlin, 1–36p.
- Agrios G.N.( 2005).** Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, 525 B Street, Suite 1900, San Diego, California 92101-4495. 524-525, 539p.
- Ahmad M& Kibret M. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth pro moting rhizobacteria: current perspective. J King Saud Univer-Scien 26(01): 1-20.
- Ahmadzadeh, M., Tehrani, A.S., (2009).**Evaluation of fluorescent pseudomonads for plant growth promotion, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* on common bean, and biocontrol potential. *Biological Control* 48(2): 101–107.
- Ahn I., Kim S and Lee, Y. (2005).** Vitamin B1 functions as an activator of plant disease Resistance .Plant Physiol 138, 1505–1515p.
- Akhtar S.M., Siddiqui Z.A.( 2008).** Glomus intraradices, *Pseudomonas alcaligenes* and *Bacillus pumilus*, effective agents for the control of root-rot disease complex of chickpea *Cicer arietinum* L. J. Gen. Plant Pathol.74 (1): 53–60
- Alabouvette C., Couteaudier Y .,and Louvet J. (1982).** Comparaison de la réceptivité de différents sols et substrats de culture aux fusarioses vasculaires , Agronomie, 2(11),1-6p.
- Alabouvette C., Olivain C., Migheli, Q and Steinberg, C (2009).**“Microbiological

- Al-Askar A. A And Rashad Y. M. (2010).** Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A Biocontrol Agent Against Common Bean *Fusarium* Root Rot Disease. *Plant Pathol. J.* 9(1), 31– 38.
- Alwathnani HA and Perveen K. (2012).** Biological control of *Fusarium* wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria. *Afr J Biotechnol* 11:1100–1105
- Amin M.; Jorfi, M.; Khosravi A.D.; Samarbafzadeh A.R; Farajzadeh and Sheikh, A.(2009).** Isolation and Identification of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* from plants by PCR and detection of their antibacterial activity. *J. Biol. Sci.* 9, 810–814
- Amir ,H. et Mahdi N. (1993).** Liaisons entre les aptitudes écologiques de différentes souches de *Fusarium* et leur efficacité dans la protection de plants de lin contre la fusariose vasculaire. *Can. J. Microbiol.*, 39 : (02) 234-244p.
- Amir H. (1991).** Corrélation entre l'aptitude de différentes souches de *Fusarium* à limiter la fusariose vasculaire du lin, leur activité respiratoire et leur développement saprophytique dans le sol désinfecté. *Can. J. Microbiol.*, 37 : 889 – 896p.
- Anas M.; Eddine H.J and Mebrouk K. (2008).** Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World J. Dairy Food Sci.* 3, 39 49.
- Anbu P., Gopinath S.C.B., Arshad M.K.Md., Chaulagain B.P. and Lakshmipriya T. (2017).** *Microbial Enzymes and Their Applications in Industries and Medicine* 2016. *BioMed Research International*, 1 – 3p.
- Anchisi M.M Gennari et A Matta. (1985).** Retardation of *Fusarium* wilt symptoms in tomato by pre- and post-inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot water. *Physiological Plant Pathology*, 26:175-183p.
- and IAA. *Acta Physiol Plant.*;41:91p.
- Aseri G.K., Jain N and Tarafder J.C. (2009)** Hydrolysis of organic phosphate forms by phosphatase and phytase producing fungi of arid and semi- arid soils of India. *Am Eurasian J Agric Environ Sci* 5: 564–570.
- Askari G.A.; Kahouadji A.; Khedid K.; Charof R And Mennane Z. (2012).** Screening of lactic acid bacteria isolated from dried fruits and study of their antibacterial activity. *Middle- East J. Sci. Res.*, 11, 209–215.
- Assigbetse KB, Fernandez D, Dubois MP, Geiger JP (1994).** Differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* races on cotton by random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Phytopathology* 84: 622- 626.

- Attia S., El-Sayyad G., Abd El-Kodous M and El-batal A. (2020).**The effective antagonistic potential of plant growth-promoting rhizobacteria against *Alternaria solani*- causing early blight disease in tomato plant. *Scientia Horticulturae*. 266p.
- Azco'n-Aguilar C & Bare J. M. (1997).**Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials.*Sci Hortic*.68, 1-24 p.
- Bahadur I., Maurya B. R., Meena V. S., Saha M., Kumar,A and AeronA. (2017).** Mineral release dynamics of tricalcium phosphate and waste muscovite by mineral-solubilizing rhizobacteria isolated from indo-gangetic plain of India. *Geomicrobiol. J.* 34, 454–466p.
- Baracaldo PS; Hayes PK and Blank CE. (2005)** .Morphological and habitat evolution in the cyanobacteria using a compartmentalization approach. *Geobiology* 3:145–165p.
- Bashan Y. and De-Bashan L. E.(2005).**Bacteria. pp: 103-115. In: *Encyclopedia of Soils in the Environment*. Hillel D.(ed.). Elsevier, Oxford, U.K. Basis for a disease control system, pp. 340-349.
- Beckman C.H and Roberts E.M. (1995).**“On the nature and genetic basis for resistance and tolerance of fungal wilt diseases”, *Advences in Botanical Research*, 21, 35-77p.
- Bedade D.K., Singhal R.S., Turunen, O., Deska Jet Shamekh S. (2017).** Biochemical characterization of extracellular cellulase from *Tuber maculatum* mycelium produced under submerged fermentation. *Appl Biochem Biotechnol*, 181: 772 – 783p.
- Ben Chaima B.(1991).** Contribution à l'étude du *Fusarium oxysporum* (Schlect) emend SNYDER HANS f.sp. lentis agent du flétrissement de la lentille. Pathogénéicité et comportement variétal. Thèse d'ingénieur en agronomie, université de Cheliff ; 67 p.
- Benchabane M. (2005).** Caractérisation des effets d'antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souche de *Pseudomonas* spp. fluorescents, thèse de Doctorat d'état .FSB6UTHB.Alger . 235p.
- Beneduzi A. ,Ambrosini A & Passaglia, Luciane M.P. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet Mol Biol*, 35(4Suppl): 1044-1051.
- Benhamou N., le Floch G., Vallance J., Gerbore J., Grizard, D and Rey P. (2012).** *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiology*, 158(Pt 11), 2679-2694p.
- Bent E., (2006).** Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: *Multigenic and Induced systemic resistance in plants* (Tuzun S. and Bent E., eds), Springer Science+ Business Media, New York (U.S.A), 225-258p.

- Bergottini V., Filippidou S., Junier T., Johnson S., Chain P., Otegui M., Zapata P., Junier P. (2015).** Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell Host Microbe* 17, 392–403p.
- Bhattacharyya P. N & Jha D. K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 28, 1327–1350p.
- Blancard, D. (2009).** Les maladies de la tomate, identifier, connaître, maîtriser. Edition Quae, Paris. 679 p.
- Bloomberg W.J. (1976).** Distribution and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* in a forest nursery soil. *Phytopathology* 66: 1090-1092
- Booth C. (1971).** The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England., 237 p.
- Borowitzka M.A. (1995).** Microalgae as source of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J Appl Phycol* 7:3–15p.
- Botton B. ; Breton A. ; Fevre M. ; Guy PH. ; Laprent J. P et Veau L., (1985).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Ed. Masson, 364 p.
- Bouhot D. et Billotte J. M. (1964).** Studies on the ecology of parasitic fungi in the soil II Choise of a nutritive medium for the selective isolation of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* from the soil, *Ann. Epiphyt.*, 15 : 45-56p.
- Bouhot, D., Rouxel, F., et Louvet, J. (1972).** Observation de la fusariose vasculaire de la tomate en France. *Ann. Phytopathol.* 4:187-191p.
- Bouizgarne B., El-Maarouf-Bouteau H., Frankart C., Reboutier D., Madiona K., Pennarun A.M., Monestiez M., Trouverie J., Amiar Z., Briand J., Brault M., Rona J.P., Ouhdouch Y., El Hadrami I., Bouteau F. (2006).** Early physiological responses of *Arabidopsis thaliana* cells to fusaric acid: toxic and signaling effects. *New Phytol.* ;169:209–218p.
- Bouras, F.Z. (2018).** Isolment et caractérisation des microorganismes stimulateurs de la croissance de lentille (*Lens culinaris*). Thèse de doctorat. Université Djillali Libas de SBA. 129p.
- Brown D.W and Proctor R.H. (2013).** *Fusarium: genomics, molecular and cellular biology* (Norfolk: Caister Acad. Press).
- Brundrett M.C. (1991).** Mycorrhizas in natural ecosystems. In: Macfayden A, Begon M, Fitter AH (eds) *Advances in ecological research*, vol 21. Academic, London, UK, 171– 313p.

- BULIT J ., J LOUVET D. BOUHOT et G TOUTATIN .** t967 .Recherches sur les fusarioses .I . Travaux sur le Bay-qur, fusariose du palmier dattier en .I,tique du Nord. Ann. Epiphytes, 18 :213-239 .
- Carmona-Hernandez S ; Reyes-Pérez J ; Chiquito-Contreras R ; Rincon- Enriquez G ; Cerdán C.R and Hernandez-Montiel L.G.(2019).**Biocontrol of Postharvest Fruit Fungal Diseases by Bacterial Antagonists: A Review. *Agronomy*.9.p
- Castric P. (1994).** Influence of oxygen on the *Pseudomonas aeruginosa* hydrogen cyanide synthase. *Curr Microbiol* 29: 19. 21
- Catalano V. , Vergara M. , Hauzenberger JR , Seiboth B. , Sarrocco S. , Vannacci G. , Kubice CP and Seidl-Seiboth V. (2011)** Use of a non-homologous end- souche déficiente en jonction (delta-ku70) du champignon de lutte biologique *Trichoderma virens* pour étudier la fonction du gène laccase *lccI* dans la dégradation des sclérotés . *Courant. Genet.* 57 , 13–23.
- Chakrabarti A. (2013).** *Fusariumoxysporum: A Moving View of Pathogenicity* , Chapter , 7Genomics of soil- and plant associated fungi, *Soil Biology*, 36, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, Germany, 157-189p.
- Champion R.( 1997).** Identifier les champignons transmis par les semences INRA, Paris, 108p.
- Cheikh-AissiaA.( 1990).** Les possibilités de désinfection d’un foyer primaire de Bayoud du palmier dattier à l’aide du bromure de méthyle. INPV, Ghardaïa, 9 p.chickpea”, *Phytopathology*, 88, 1338-1346.
- CoccozzaC and ErcolaniG.L. (1997).** Siderophore production and associated characteristics in rhizosphere and non-rhizosphere fluorescent pseudomonads, *Annali di microbiol. enzimol.* 47 17–28p.
- Corbaz, R. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Ed. presse phytotechnique et universitaire, Paris, 650p.
- Cote F and Hahn M.G. (1994)** .Oligosaccharins: structure and signal transduction. *Plant Mol Biol* 26, 1379–1411p.
- Criquet et Calvert.( 1997).** Planche de TP du phytopathologie, 03p.
- Dalié D .K.D; Deschamps A.M and Richard-Forget F. (2010)** .Lactic acid bacteria— potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21,370–380.
- Damam M, Kaloori K, Gaddam B and Kausar R.( 2016).** Plant growth promoting substances (Phytohormones) produced by rhizobacterial strains isolated from the rhizosphere of

medicinal plants. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 37(1): 130-136.

**Davet P. and Rouxel F. (1997).** Détection et isolation des champignons du sol. , (edn INRA .Paris.

**Davet P.(1996).** Vie microbienne du sol et production végétales, ( edn ) INRA. Paris.

**De Kouassi. (2001).** Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. Vertigo 2 :2 .

**Debourgogne A.( 2013).** Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse du doctorat. Université de lorraine.

**Defago G ., kerm H and sadlar L. (1983 ).** genetic analysis of tomatine insznsitivity , sterol content and pathogenicity for green tomato fruits in mutants of *fusarium solani* , physiol mol plant pathol.22.39-43p.

**Défago G., Berling C.H., Burger U., Haas D., Kahr G., Keel C., Voisard C., Wirthner Ph., Wutrich B. (1990).** Suppression of black root rot of tobacco by a pseudomonas strain : Potential application and mecanisms. In Biological Control of SoilBorne plant pathogens. Editeur : D. HORNBY. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, 93-108.4

**Di Pietro A., Madrid M.P., Caracuel Z., Delgado-Jarana J et Roncero M.I.G. (2003).** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus Molecular Plant Pathology, 4: 315 – 325p.

**Donald J.(1985).** Compedium of pea diseases.In cooperation with Departement of plant pathology University of Wisconsin – Madison.APS Press, the American Phytopathologies Society. pp. 55.

**Dubos B., (1985).** L'utilisation des Trichoderma comme agent de lutte biologique à l'égard de deux parasites aériens: *Chondrostereum purpureum* (Pers. Ex. fr.) pouzar (plomb des arbres fruitiers) et *Botritis cinerea* pers. (pourriture grise de la vigne. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures, pp 35-49. INRA, Paris (FR).

**Edel V., Steinberg C., Gautheron N., Recorbet G. ,and Alabouvette C.( 1995).** Comparison of 3 molecular methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains.Phytopathology., 85:579-585p .

- Edel-Hermann., Lecomte. (2018)** .*Fusarium oxysporum* Formae Speciales et .Agroécologie, AgroSup Dijon, INRA, Université Bourgogne Franche-Comté, F-21000 Dijon, France.
- Fan B., Blom J., Klenk HP., Borriss, R .(2017).***Bacillus amyloli* quefaciens, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* Form an &quot;Operational Group B. amyloliquefaciens” within the *B. subtilis* Species Complex. *Front Microbiol.*, 8:22p.
- Ferraz H.G.M ; Resende R.S ; Silveira P.R ; Lage-Andrade C.C ; Milagres E.A and de A., ´vila- Rodriguez F. (2014).** Rhizobacteria induces resistance Against *Fusarium* wilt of tomato by increasing the activity of defense enzymes. *Bragantia* 73:274–283p.
- Figueiredo MVB, Seldin L, Araujo FF, Mariano RLR .(2010)** .Plant growth promoting rhizobacteria: fundamentals and applications. In: Maheshwari DK (ed) *Plant growth and health promoting bacteria*. Springer, Heidelberg, pp 21–43
- Filho J. A. C., Pascholati S. F and Sabrinho R. R (2016).** Mycorrhizal Association and Their Role in Plant Disease Protection. *Plant , Soil and Microbes*, 95– 143p.
- Fisher K.D. (1965).** Hydrolytic enzyme and toxin production by sweetpotato Fusaria. *Phytopathology*, 55: 396 - 397.
- Fitrianingsih A ; Martanto E.A and Abbas B. (2019).** The effectiveness of fungi *Gliocladium fimbriatum* and *Trichoderma viride* to control fusarium wilt disease of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Indian Journal of Agricultural Research*. 53. 57-61p.
- Fourie G., Steenkamp E.T., Ploetz R.C., Gordon T.R and Viljoen A. (2011).** Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis *scubense* within the *Fusarium oxysporum* complex, *Infection, Genetics and Evolution*, 11, 533-542p.
- Francis JB., JBency, SRameshet M Amuthan. (2009).** Exopolysaccharide production par *Bacillus subtilis* NCIM2063, *Pseudomonas aeruginosa* NCIM2862 et *Streptococcus* mutants MTCC1943 utilisant lot culture dans différent médias. *Afri. J. de Biotech.* 9 (20) : 5454-5457.
- Fravel D., Olivain C., Alabouvette C. (2003).** *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New phytologist*. 157, Issue 3: 493–502.
- Fravel DR (2005).** Commercialisation et mise en œuvre du biocontrôle. *Annu. Rév. Phytopathol.* 43 337–359
- Frederiks M & Dembreber K. (1991).** Efficacité du bromure de méthyle et d’un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine sur *le Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Bayoud) dans le sol. Table ronde sur le Bayoud (19-20 Septembre 1988), Alger, 27-35p.

- Freeman DJ, Falkiner FR and Keane CT (1989).** New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology.*, 42 (8): 872-874.
- Gamalero E., A. Trotta N. Massa A. Copetta M.G. Martinotti and G. Berta. (2004).** Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition. *Mycorrhiza* 14 : 185-192.
- Gao P., Li Y., Guo Y and Duan T. (2018).** Co-inoculation of Lucerne (*Medicago sativa*) with an AM fungus and a rhizobium reduces occurrence of spring black stem and leaf spot caused by *Phomamedicaginis*. *Crop Pasture Sci.* 69:933943.
- García-Salamanca A. et al. (2013).** Bacterial diversity in the rhizosphere of maize and the surrounding carbonate-rich bulk soil. *Microb Biotechnol* 6(1):36–44
- Gerez C.L and Torres M.J.( 2013).** Font de Valdez, G.; Rollán, G. Control of spoilage fungi by lactic acid bacteria. *Biol. Control*, 64, 231–237p.
- Giassi V., Kiritani C and Kupper, K.C.( 2016).** Bacteria as growth-promoting agents for citrus rootstocks. *Microbiological Research* 190, 46-54p.
- Gopinath S.C. B., Anbu P., Arshad M. K. Md., Lakshmipriya T., Voon C.H., Hashim, U et Chinni S. V. (2017).** Biotechnological processes in microbial amylase production. *BioMed Research International*, 2017: 1 – 9p.
- Gravel V. (2007).** Lutte contre *Pythium ultimum* chez la tomate de serre : une approche microbienne. 138 p. Thèse (Ph. D), Faculté des Sciences de l’agriculture et de l’alimentation, Université Laval, Québec.
- Griffin D. M.(1970).** Ecology of soil fungi. Ed. Syracuse. University press, 193p.
- Grover M., Ali, Sk.Z., Sandhya V., Rasul A., Venkateswarlu B.( 2009).** Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World J. Microbiol.Biotechnol.* 27, 1231–1240.
- Gupta R., S. Rekha., S Aparna and R.C. Kuhad ( 1994)** A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 40: 255–60.
- Harrier L.A et C.A. Watson.( 2004).** The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Manag.*
- Haware M. P., Nene Y. L., Natarajan M. (1996).** The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceri in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathologia Mediterranea*, 1:912p
- Henni J. E., Boisson C et Geiger J. P.(1994).** Variabilité du pouvoir pathogène chez *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopercisi. *Phytopathol. Medit.*, 33: 10-16p.

- Hinsinger P. (2001)** Bioavailability of trace elements as related to root-induced chemical changes in the rhizosphere. In Trace elements in the rhizosphere. Eds G R Gobran, W W Wenzel and E Lombi. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. et Williams, S.T. (1994).** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Baltimore, Williams and Wilkins. Vol-9: 787p.
- Howell C. R. (2003).** Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease. 87, pp: 04-10.
- Husain A. et Dimond A.E. (1960).** Role of cellulolytic enzymes in pathogenesis by *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*. Phytopathology, 50: 329 – 331p.
- Husaini A.M and Neri D. (2016).** Strawberry growth, development and diseases. 212p.
- IBMA. (2014).** Les médiateurs chimiques. In : IBMA France [en ligne]. (Consulté le 14 mai 2014 a). Disponible à l'adresse : <http://www.ibmafrance.com/lesmeacutediateurs-chimiques.html>
- Idris, H.A., Labuschagne, N. et Korsten, N. (2007).** Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and Crown root of sorghum in Ethiopia. *Biological Control*. Vol-40 (1): 97-106Pp.
- Jaber L. R., Enkerli J. (2017).** Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth? *Biocontrol Sci. Technol.* 27 28–41. 10p.
- Jadhav H.P; Shaikh S.S and Sayyed, R.Z. (2017).** Role of hydrolytic enzymes of rhizofora in biocontrol of fungal phytopathogens: an overview. In: Rhizotrophs: plant growth promotion to bioremediation. Springer, Singapore, 183–203p.
- Jaisingh, R., Kumar, A., Dhiman, M. (2016).** Isolation and characterization of PGPR from rhizosphere of Sesame indicum L. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* 3, 238–244p.
- Kamal R., Gusain Y. S & Kumar V. (2014).** Interaction and symbiosis of AM fungi, actinomycetes and plant growth promoting rhizobacteria with plants: strategies for the improvement of plants health and defense system. *Int J Curr Microbial Appl Sci*, 3(7), 564- 585.
- Kang S.M., Radhakrishnan R., You Y.H., Khan A.L., Park J.M., Lee S.M and Lee, I.J. (2015).** Cucumber performance is improved by inoculation with plant growth promoting microorganisms. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section Bdsoil & Plant Science* 65 (1), 36-44.

- Kannaiyan J; Nene YL. (1978).** Strains of *Fusarium oxysporum* f.sp.lentis and their pathogenicity on some lentil lines. LENS Newsletter, 5:8-10p.
- Kannaiyan J; Tripathi RK; Nene YL.( 1975).**Degradation and persistence of benomyl in lentil. Indian Phytopathology, 28(2):305-306p.
- KarthikM.; Oves R., Thangabalu R. ,Sharma S.B., Santhosh P.I., Arulselvi.(2016).**  
Cellulosimicrobium funkei-like enhances the growth of Phaseolus vulgaris by modulating oxidative damage under Chromium (VI) toxicity J. Adv. Res., 7 . 839-850p
- Kaur N. P and Mukhopadhyay A. N.( 1992).** Integrated control of chickpea wilt complex by Trichoderma spp. and chemical methods in India. Tropical Pest Management., 38:372-375p.
- Khan M.I.R., Syeed S., Nazar R and Anjum N.A. (2012).**An insight into the role of salicylic acid and jasmonic acid in salt stress tolerance. In Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants eds Khan, N.A., Nazar, R., Iqbal, N. and Anjum, N.A. pp. 277– 300. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Khan N., Bano A.(2016).**Modulation of phytoremediation and plant growth by the treatment with PGPR, Ag nanoparticle and untreated municipal wastewater. Int. J. Phytoremediation 18 (12), 1258–1269.
- Kim J and Kim J.D. (2008).** Inhibitory effect of algal extracts on mycelial growth of the tomato- wilt pathogen, *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. Mycobiology 36:242–248
- Kishore G.K., Pande, S and Podile, A.R.(2005).**Biological control of late leaf spot of peanut (*Arachis hypogaea* L.) with chitinolytic bacteria.Phytopathol. 95:123–132.
- Kloepper J.W0., Ryu CM., Zhang S. (2004).** Induced systemic resistance and promotion of plant growth by Bacillus spp. Phytopathology 94: 1259-1266.
- Köhl J., Kolnaar R and Ravensberg W.J. (2019).** Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. Front. Plant Sci. 10:845.
- Konappa N.M., Maria M., Uzma F., Krishnamurthy S., Nayaka S.C., Niranjana S.R and Chowdappa, S. (2016).** Lactic acid bacteria mediated induction of defense enzymes to enhance the resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt. Scientia Horticulturae 207,183-192p.
- Koptera Z.P. (1970).**Biosynthesis of thiamine, riboflavin and vitamin B12 by some blue-green algae.Mikrobiol Zh (Kiev) 32, 429–433p.

- Kumar G; Teli, B; Mukherjee A ; Bajpai R and Sarma B. (2019).** Secondary Metabolites from Cyanobacteria: A Potential Source for Plant Growth Promotion and Disease Management. 10.
- Lamont J.R ; Wilkins O ; Bywater-Ekegård M and Smith D.L. (2017).** From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biol. Biochem.* 111, 1– 9p.
- Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A and Gobetti M.( 2000).** *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 66, pp. 4084–4090.
- Lecomte C., Edel-Hermann V., Cannesan M.A., Gautheron N., Langlois A., Alabouvette C., Robert F., Steinberg C.( 2016).** *Fusarium oxysporum* f. sp. cyclaminis: underestimated genetic diversity. *Eur J Plant Pathol* January 2016, 1-11p.
- Li P., Lin Y., Zhang H., Wang S., Qiu,D and Guo L. (2016).** Molecular characterization of a novel mycovirus of the family Tymoviridae isolated from the plant pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. *Virology* 489, 86–94. doi: 10.1016/j.virol.2015.12.004p.
- Liu J; Maldonado-Mendoza I; Lopez-Meyer M; Cheung F; Town C.D and Harrison, M.J. (2007).** Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant J* 50:529–544p.
- Liu SY., Christopher, MD., Griffey, CA., Hall ,MD., Gundrum, PG., Brooks ,WS .(2012).** Molecular characterization of resistance to *Fusarium* head blight in US soft red winter wheat breeding line VA00 W-38. *Crop Sci* 52:2283–2292p.
- Lopez-Seijas J ; García-Fraga ; Silva d and Sieiro C. (2019).** Wine Lactic Acid Bacteria with Antimicrobial Activity as Potential Biocontrol Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici.
- Lorito M., Harman G. E., Hayes C. K., Broadway R. M., Tronsmo A., Woo, S. L. and Di Pietro, A. (1993).** Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* 83: 302-307.
- Louvet J.( 1991).** Que devons-nous faire pour lutter contre le Bayoud? *Physiologie des arbres et Arbustes en zones arides et semi arides: Groupes d’Etudes d’Arbre, Paris-France*, 337–346.
- Lynch J.M. (1985).** Origin, nature and biological activity of aliphatic substances and growth hormones found in soil. In: Vaughan, D., Malcolm, R.E.Eds. *Soil Organic Matter and Biological Activity*. Springer, Netherlands, 151-174p.

- Lynd L.R., Weimer P.J., Van Zyl, W.H et Pretorius I.S. (2002).** Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3): 506 – 577.
- Ma J, Ma Y, Wei W, Wei D. (2015).** Expression fonctionnelle in vivo d'une lipase de *Bacillus pumilus* extracellulaire Ca<sup>2+</sup> + indépendante dans *Bacillus subtilis* WB800N. *Anne Microbiol.*
- Mabood F., Xiaomin Z., and Donald L.S. (2014).** Microbial signaling and plant growth promotion. *Can. J Plant Sci* 94:1051–1063.
- Mac Hardy W. Eet Beckman C.H. (1981).** Vascular wilt Fusaria: Infections and Pathogenesis. In *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*, (P.E. Nelson, T.A. Toussoun, & R.J. Cook, eds): 365 - 390. The Pennsylvania State University Press, University Park and London
- Madrid M.P., Di Pietro A and Roncero M.I.G. (2003).** Class V chitin synthase determines pathogenesis in the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* and mediates resistance to plant defense compounds. *Mol. Microbiol.* **47** :257– 266p.
- Majewska M., Rola K., and Zubek S. (2017).** The growth and phosphorus acquisition of invasive plants *Rudbeckia laciniata* and *Solidago gigantea* are enhanced by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*. 27p.
- Maougal R.T et al., (2014).** Bacterial capacities to mineralize phytate increase in the rhizosphere of nodulated common bean (*Phaseolus vulgaris*) under P deficiency. *European Journal of Soil Biology*
- Martín-Urdíroz M., Roncero M.I.G., González-Reyes J.A and Ruiz-Roldán C. (2008).** ChsVb, a class VII chitin synthase involved in septation, is critical for pathogenicity in *Fusarium oxysporum*. *Eukaryot. Cell* 7: 112– 121.
- Maslouhi A. (1989).** Contribution à l'étude in vitro des antagonistes de *Fusarium oxysporum* F.sp *Albedinis*, agent causal du Bayoud, pp 4-8. Thèse de doctorat. INA, Marrakech (Maroc)
- Meena RS., Lal R. (2018).** Legumes and sustainable use of soils. In: Meena RS et al (eds) *Legumes for soil health and sustainable management*. Springer, Singapore.
- Mekhaldi D., Rispaïl N et Benchabane, M. (2020).** « Etude de comportement d'une collection de pois (*Pisum* spp.) face à la fusariose vasculaire », *Agrobiologia*, 10 (1), 1837-1848.7
- Messiaen C. M., Blancard D., Rouxel F et Lafon R. (1991).** Les maladies des plantes maraîchères, INRA, Paris (3ème édition), pp: 291-305p.

- Mirocha CJ, Abbas HK, Windels CE, Xie ,W. (1989).**Variation in Deoxynivalenol, 15 Acetyldeoxynivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol, and Zearalenone production by *Fusarium graminearum* isolates. Applied and Environmental Microbiology 55(5), 1315-1316
- Mohite B. (2013).**Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13 (3), 638-649.
- Molot P. Met Mas P.(1975).** Influence de la température sur la croissance mycélienne et le pouvoir pathogène des quatre races physiologiques de *Fusarium oxysporum f.sp.melonis*. Ann. Phytopathol. 7: 175-178p.
- MOLOT P.M., MAS P.M.(1974).** Atténuation de la sensibilité du melon (Cucumismels) au *Fusarium oxysporum* SCHL. f.sp.melonis SN et HANS. II : Rôle de l'acide fusarique. Annales phytopathologiques, 6, 245-253p.
- Momma N., Momma, M and Kobara, Y. (2010).**“Biological soil disinfestation using ethanol: effect on *Fusariumoxysporumf.sp. lycopersici* and soil microorganisms”, Journal of General Plant Pathology, 76, 336-344.
- Montealegre J.R., Reyes R., Pérez L.M., Herrera R., Silva P., Besoain X.( 2003).**Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato.Electronic Journal of Biotechnology, 6(2), pp.115-127.
- Morandi D. (1996).**Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions and their potential role in biological control. Plant Soil 185:241–251p.
- Moretti A., Belisario A., Tafuri A., Ritieni A., Corazza L & Logrieco A.( 2002).**Production of beauvericin by different races of *Fusarium oxysporum f. sp. melonis*, the *Fusarium* wilt agent of muskmelon. European Journal of Plant Pathology 108: 661-666p.
- Mukerji, K. G., Rajev ,H., Upadhyay ,O B., Chamola P.. and Dubey ,P.(2009).**Integrated Pest and diseses management.Publishing corporation 4435-36/7, Ansar Road, Darya Ganj, New Delhi-110002, 710 pages.Printed at Balaji offset Navis Shahdara, Delhi, 32p.
- Mukhopadhyaya AN., Shrestha SM., Mukherjee PK. (1992).**Biological seed treatment for control of soil borne plant pathogens. F.A.O. Plant Prot. Bult.; 40(1, 2):21-30p.
- Murugan K., Yashotha, Sekar K. and Al- Sohaibani S.(2012).** Detoxification of cyanides in cassava flour by linamarase of *Bacillus subtilis* KM05 isolated from cassava peel. African Journal of Biotechnology Vol. 11(28), pp. 7232-7237.

- Naik R.-P., Sakthivel N.( 2006)** - Functional characterization of a novel hydrocarbonoclastic *Pseudomonas* sp. strain PUP6 with plant-growth-promoting traits and antifungal potential. *Res Microbiol*, 157, 538–546.
- Narsian V. & Patel H.H.( 2000).** *Aspergillus aculeatus* as rock phosphate solubilizers. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 559–565
- Navas-Cortes J.A., Hau B. and Jimenez-Diaz, R.M (1998).**“Effect of sowing date, host
- Nawar L.S. (2016).**Phytochemical and SDS-dissociated proteins of pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* isolates. *International Journal of ChemTech Research*, 9(6): 165 – 172p.
- Nene Y.L.(1980).** A world list of pigeonpea (*Cajanus cajan*) and chickpea (*Cicer arietinum*) pathogens. *ICRISAT Pulse Pathology Progress Report.*, 3: 1-44p .
- Nicot P. C.(2002).** Lutte biologique avec des microorganismes contre les maladies aérienne: situations actuelle et perspectives de développement. 2éme conférences Internationale sur les moyens alternatifs de lutte contre les organismes nuisibles aus végétaux., 4-7 Mars,Lille, France,28-36p.
- Norman J.R and Hooker J.E. (2000).** Sporulation of *Phytophthora fragariae* shows greater stimulation by exudates of non-mycorrhizal than by mycorrhizal strawberry roots. *Mycologia* 104:1069-1073p.
- Nucci M et Anaissie E. (2007).***Fusarium* Infections in Immunocompromised Patients. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4): 695 – 704p.
- Ongena M., Jacques P., Delfosse P and Thonart P. (2002).** Unusual traits of the pyoverdinin-mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1. *Biometals*. 15(1) :1-13p.
- Ongena M & Thonart P.( 2006).** Resistance induced in plants by non-pathogenic microorganisms: elicitation and defense responses. In: *Floriculture, ornamental and plant biotechnology: advances and topical issues*. 1st ed. Japan: Global Science Books, 447-463p
- Pareja-Jaime Y., Martín-Urdíroz M., González Roncero M. I., González-Reyes,J. A and Ruiz Roldán M. D. C. (2010).** Chitin synthase-deficient mutant of *Fusarium oxysporum* elicits tomato plant defense response and protects against wild-type infection. *Mol. Plant Pathol.* 11 : 479–493p.
- Pieterse C. M., Zamioudis C., Berendsen R. L., Weller D. M., Van Wees S. C and Bakker P. A. (2014).**Induced systemic resistance by beneficial microbes.*Annual review of phytopathology*, 52, 347–375p.

- Pieterse C.M.J & Van Wees S.C.M. (2015).** How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. *Frontiers in Plant Science* 6, 170 .
- Pilet-Nayel M.L., Moury, B., Caffier V., Montarry J., Kerlan M.C., Fournet S., Durel C.E. and Delourme R. (2017).** Quantitative Resistance to Plant Pathogens in Pyramiding Strategies for Durable Crop Protection, *Front. Plant Sci.*, 8, 1838p.
- Ploetz R.C. (2000).** Panama Disease: A Classic and Destructive Disease of Banana. *Plant Health Progress*.
- Ploetz RC, Thomas JE, Slubough W. (2003).** Diseases of banana and plantain. In *Diseases of Tropical Fruit Crops*, Ploetz RC (Ed). CABI Publishing: Wallingford, UK.
- Prasanna R., Chaudhary V., Gupta V., Babu S., Kumar A., Singh R., Shivay Y and Nain L. (2013).** Cyanobacteria mediated plant growth
- RAHMOUNE B., (2017).** Effet des PGPRs sur le développement de la plante et la teneur des métabolites primaires et secondaires chez *Datura* sp. These Doctorat, ENSA, El-Harrach, 300p.
- Rajeswari P. (2014).** Inhibition of Pectinolytic *Fusarium oxysporum*, *Pseudomonas fluorescens* on *Arachis hypogaea* L. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 3(3): 2319 – 1473ppp.
- Ramette A., Frapolli, M., Défago G and Moënne-Loccoz Y. (2003).** Phylogeny of HCN Synthase-Encoding hcnBC Genes in Biocontrol Fluorescent Pseudomonads and Its Relationship with Host Plant Species and HCN Synthesis Ability. *Molecular plant-microbe interactions* : MPMI. 16. 525-35. 10.1094/MPMI.2003.16.6.525.
- Ramírez-Cariño H., Guadarrama P., Sánchez V., Cuervo-Parra J., Ramírez-Reyes, T., Dunlap C and Valadez-Blanco R. (2020).** Biocontrol of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma asperelloides* and *Bacillus paralicheniformis* in tomato plants. *Antonie van Leeuwenhoek*. 113. 12471261.10.1007/s10482-020-01433-2p.
- Ramirez-Suero M. (2009).** Étude de l'interaction de *Medicago truncatula* avec *Fusarium oxysporum* et du rôle de l'acide salicylique dans les interactions de la plante avec différents agents pathogènes et symbiotiques. Thèse de doctorat, Toulouse. 281p.
- Ren L., Lou Y., Sakamoto K., Inubushi K., Amemiya Y., Shen Q and Xu G. (2010).** Effects of Arbuscular Mycorrhizal Colonization on Microbial Community in Rhizosphere Soil and *Fusarium* Wilt Disease in Tomato. *Communications in Soil*

- Ressom R., San Soong F., Fitzgerald J., Turczynowic L., El Saadi O., Roder D., Maynard T., and Falconer I. (1994).** Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae):27–69p.
- Rinehart K.L., Namikoshi M., Choi B.W. (1994).**Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J Appl Phycol* 6:159–176p.
- Robbins W.J., Hervey A and Stebbins M. (1951).**Further observations on *Euglena* and B12. *Bull Torrey Bot Club* 86, 367–373p.
- Rode TM, SolveigL., Askild H.et Trond M. (2007).**Différents modèles de biofilm dans *Staphylococcus aureus* sous stress lié à l'alimentation conditions .*Inter.J. Nourriture. Microbiol.*116 : 372 – 383.
- Rodriguez et al. H. Rodriguez, T. Gonzalez, I. Goire, Y.(2004) .** Gluconic acid production and phosphate solubilization by the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp *Naturewissenschaften*, 91 . 552-555
- Rouxel F., Alabouvette C et Louvert J. (1979).** Recherches sur la résistance des sols aux maladies. II- Incidence de traitements thermiques sur la résistance microbologique d'un sol à la Fusariose vasculaire du melon , *Ann Phytopathol.*, 183-192p.
- Saaidi M & Rodet J. (1974).** Lutte contre le Bayoud : II. Efficacité de deux fongicides sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent du Bayoud in vitro .  
Sahara PGPR confers maize root tolerance to salt and aluminum toxicity via ACC deaminase
- Sallam N., Eraky A., Sallam A. (2019).**Effect of *Trichoderma* spp. On *Fusarium* wilt disease of tomato. *Molecular Biology Reports*.doi:10.1007/s11033019- 04901-9p.
- Sarham A.R.T.(2001).**A study on the fungi ;causing decline of date palm trees in middle of Iraq .2<sup>nd</sup> Int conf .date Palm , 25-27 March,Al Ain ,UAE pp 424-430
- Savadogo A.,CUN.T.Ouatara, P.W.Savadogo,N. Barro,UN.S.Ouatara1,COMMETraoré (2004).** Identification de producteurs de exopolysaccharides lactiques de bactéries de Burkina Faso fermenté Le Laitéchantillons.*Afri.JdeBiotech* .3(3): 189-194.
- Sebihi F.Z., Saoudi M., Derouiche F., Bendjemana K., Benguedouar A., Benhizia, Y et Sanchez, J. (2020).** Effect Of Pgp Inoculation On Durum Wheat Growth Varieties. *Asian Jr. of Microbiol.Biotech.Env. Sc.* Vol-22 (4) : 676-684Pp.
- Sexena D. R and Khare M.N.(1988).**Factors influencing vascular wilt of lentil.*Ind.Phytopathol.*41:69-74p.

- Shah A.K and Vaidya B.S. (1977).**Detection of Vitamin B12 & pantothenic acid in cell exudates of blue green algae. Biol Plant 42, 6–429.
- Sharma A and B. N. Johri. (2003).** Combat of iron-deprivation through a plant growth promoting fluorescent Pseudomonas strain GRP3A in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). Microbiol. Res., 158: 77-81 .Whipps, J. M., 2001, Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. J. Exp. Bot. 52: 487–511p.
- Sharma M., Kumar R. V., Narayan R. J., Kannan S., Holsington D. and Pande S.( 2009).** Genetic diversity in Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris, chickpea wilt pathogen. African Journal of Biotechnology., 6: 1016-1023.
- Sharma, A., Rathour, R., Plaha, P., Katoch, V., Khalsa, G.S., Patial, V., Singh, Y. and Pathania, N.K., (2010).** “Induction of fusarium wilt (*Fusariumoxysporum*f.sp. *pisi*) resistance in garden pea using induced mutagenesis and in vitro selection techniques”, Euphytica, 173, 345-356.
- Shrivastava P and KumarR. (2015).** Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. Saudi J Biol. Sci. 22, 123–131p.
- Silipo A., Erbs G., Shinya T., Dow J.M., Parrilli M ., Lanzetta R., Shibuya N., Newman M . A and Molinaro,A. (2010).** Glyco-conjugates as elicitors or suppressors of plant innate immunity.Glycobiology. 20. 406-19p.
- Singh O., Gowda C. L. L., Sethi S. C., Dasgupta T., Kumar J and Smithson.(1993).**Genetic analysis of agronomic characters in chickpea .II.Estimates of genetic variances from line X tester mating desings. Theor Applied Genetics., 85:1010-1016p.
- Singh, S. (2014).** A review on possible elicitor molecules of *cyanobacteria*: Their role in improving plant growth and providing tolerance against biotic or abiotic stress. Journal of Applied Microbiology.117. 10.1111/jam.12612.
- Sjögren J., Magnusson J., Broberg A., Schnürer A., and Kenne L. (2003).**Appl. Environ. Microbiol. vol. 69, pp. 7554–7557.
- Smahi A. (2008).** Controle biologique de la fusariose vasculaire de la Tomate causées par *Fusarium oxysporum* f.sp.*Fusarium lycopersici* .Thèse de Magister, Filière ; Biologie , Spécialité: Microbiologie Fondamentale et Appliquée . Univercité d’Oran .127 P.
- Smith S.E and Read D. J. (2008).** Mycorrhizal symbiosis.Academic, London.
- Smith S.E and Gianinazzi-Pearson V. (1988).**Physiological interactions between symbionts in vesicular–arbuscular *mycorrhizal* plants.Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39:221–244p.

- Stepanovic S, Vukovic D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukic S, Cirkovic I & Ruzicka F (2007)** Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS* 115: 891–899.
- Stoyanova L.G., Ustyugova E.A., Sultimov T.D., Bilanenko E.N., Fedorova G.B., Khatrukha G.S and Netrusov, A.I. (2012).** *Agricult. Biol.Sci.* vol. 5, 477–485p.
- Ström K., Sjögren J., Broberg A and Schnürer J. ( 2002).** *Appl. Environ.Microbiol.* vol. 68, 4322– 4327p.
- Suleiman A. S., Gambo M. S and Sunusi M. (2019).** An in vitro antagonistic effect of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f.sp.lycopersici. *International Journal of Fruit Science* 0:0. Federal University Dutse.Vol. 3 No. pp 369 -374p.
- Tailor A.J., joshi B.H.( 2014).** Harnessing plant growth promoting rhizobacteria beyond nature :areview. *Journal of plant nutrition.*
- Takahashi H., Satoko M., Igarashi K., Suda T.,Kuramoto S. et Kimura B.(2009).** Formation de biofilmcapacité de *Listeria monocytogènes* isolé decrufruits de mer prêt- à manger . *J Food Prot* 72 :1476 – 80.
- Teymouri M, Akhtari J, Icarckhane M, Marzban A. (2016).** Assessment of phosphate solubilization activity of rhizobacteria in a mangrove forest. *Biocatal Agric Biotechnol* 5:168- 72.
- Thakore., Y. (2006).** The biopesticide market for global agricultural use. *Ind Biotechnol* 2:194– 208p.
- Tivoli B.( 1988).** Guide d’identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. *Agronomie*, 8(3): 211-222p.
- Tiwari A., Mamedov F., Grieco M., Suorsa M., Jajoo A., Styring S et al. (2016).** Photodamage of iron-sulphur clusters in photosystem I induces non-photochemical energy dissipation. *Nat. Plants* 2:16-35.
- Tunarsih F., Rahayu G et Hidayat I. (2015).** Molecular phylogenetic analysis of indonesian *Fusarium* isolates from different lifestyles, based on ITS sequence data. *Plant Pathology et Quarantine*, 5(2): 63 – 72p.
- Vaikuntapu P.R., Dutta S., Samudrala R.B., Rao V.R.V.N., Kalam S and Podile, A.R. (2014).** Preferential promotion of *Lycopersicon esculentum* ,growth by plant growth promoting bacteria associated with tomato. *Indian J. Microbiol.* 54, 403–412p.

- Van der Hofstad, G. A. J. M., Marugg, J. D., Verjans, G. M. G. M., and Weisbeek, P. J. (1986).** Characterization and Structural Analysis of the Siderophore Produced by the PGPR *Pseudomonas putida* Strain WCS358. *Iron, Siderophores, and Plant Diseases*, 71–75p.
- van Dijl JM., Hecker M. (2013)** .de la bactérie du sol à l'usine de cellules super-sécrétantes. *Bacillus subtilis Fait sur les cellules microbiennes*.
- Vanachter A. (1991).** Désinfection des sols à l'aide des fumigants : cas du Bayoud. *Bulletin du Réseau Maghrébin de Recherche*, 1, 14-20p.
- Vartaja P.O.(1952).** Forest humus quality and light conditions as factors influencing damping off. *Phytopathology*, pp:501-506p.
- Vining I.c . (1990).** fonctions of secondary metabolites, *Annu.Rev.Microbiol.*, 44: 395-427
- Kubicek, C.P ; Bissett, J. ; Druzhinina, I., Kullinig-Gradinger, C. et Szakacs, G. 2003. Genetic and métabolic diversity of *Trichoderma* sp.; a case study on south-east asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, , 38 (3): 310-319.
- Vlamakis H., Chai Y., Beauregard P., Losick R & Kolter R. (2013).** Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nature Reviews Microbiology*, 11(3), 157p.
- Wang, W., Shi, J., Xie, Q., Jiang, Y., Yu, N and Wang, E. (2017).** Nutrient Exchange and Regulation in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Molecular Plant*. 10. 10p.
- Widden P et Abitbol J.J. (1980).** Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce-forest soil. *Mycologia*, 72 : 775-784
- Wiesel L., Newton A. C., Elliott I., Booty D., Gilroy E. M., Birch P. R. J & Hein I. (2014).** Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Plant Science Center*, 5, 1–14p.
- Yadav R.S and Tarafdar J.C. (2003).** Phytase and phosphatases producing fungi in arid and semi-arid soils and their efficiency in hydrolyzing different organic P. *Soil Biol Biochem* 35: 745–751
- Yousfi M., Djeridane A., Bombarda I., Duhem B., Gaydou, E. M.(2009).** Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytother Res.* 23(9), 1237-1242.
- Youwen P., Frederick B. Jr.et Lisa G. (2010).** Effets synergiques de Sodium Chlorure, Glucose, et Température sur Biofilm Formation par *Listeria monocytogènes* Sérotype 1/2aet 4b Souches. *APPl. Environ.Microbiol* .76 (5) : 1433 – 1441.

**Yu T and Fang C. (1948).** *Fusarium* diseases of broad bean. III. Root-rot and wilt of broad beans caused by two new forms of *Fusarium*. *Phytopathology* 38: 507–594p.

**Zarrin F. M., Saleemi M. Zia., T Sultan., M Aslam ., R, U Rehman and M, C. Fayyaz .(2009).** Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat, *African Journal of Biotechnology*, vol. 8 (2) pp. 219-225.

# **Annexes**

**Annexes****Annexe 1****Composition des milieux de culture****- Gélose nutritive**

Peptone	5 g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium	5g
Agar	15g
Eau distillée	1 L
pH final à 25°C :	6,8-7

**- PDA (*Potato Dextrose Agar*)**

Pomme de terre	200 g
Glucose	20g
Agar	20g
Eau distillée	1 L

**- Milieu Pikovskaya (PVK) additionné de bleu de bromophénol**

Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	2.5g
CaCO <sub>3</sub>	2.5 g
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.5 g
KCl	0.2 g
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.1 g
Glucose	0.5 g
FeSO <sub>4</sub>	10 g
Bleu de bromophénol	0.25 g
Agar	20 g
Eau distillée	1L

**Annexe 1****(Suite)****- Gélose à l'amidon**

Extrait de levure	3 g
Peptone	5 g
Amidon	2 g
Agar	15 g
Eau distillée	1L

**- TSA (*Tryptone soya Agar*) additionné de tween 80**

Tryptone	15 g
Peptone papainique de soja	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Tween 80	1g
Agar	15 g
Eau distillée	1L
pH final	7,3 ± 0,2

**- TSA (*Tryptone soya Agar*) additionné de glycine**

Tryptone	15 g
Peptone papainique de soja	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Glycine	4.4 g
Agar	15 g
Eau distillée	1L
pH final	7,3 ± 0,2

**- Bouillon TSB (*Trypticase-Soy Broth*)**

Peptone de caséine	5 g
Peptone de soja	3g
Glucose	2.5g
Phosphate dipotassique	2.5g
Extrait de levure	6g
Eau distillée	1L

**Annexe 1****(Suite)****- Gélosé au lait écrémé**

Peptone de caséine	5 g
Extrait de levure	2.5g
Glucose	1g
Lait écrème	10 ml
Agar	12.5g
Eau distillée	1 L

**- Gélose Rouge Congo**

Bouillon cœur cervelle	37 g
Saccharose	50 g
Rouge Congo	0,8 g
Agar	20g
Eau distillée	1 L

## Annexe 2

Moyennes avec écart types des taux d'inhibition (%) enregistrés par *Bacillus* sp. et *Trichoderma* sp. face aux trois souches de *Fusarium oxysporum*

	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Trichoderma</i> sp.
<b>Foa</b>	52,09±1,89	46,70±9,53
<b>Fop</b>	83,33	100,00
<b>Foph</b>	81,33±16,22	90,70±8,05