

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique.
Université Blida 1



Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département Biotechnologie Et Agro-Ecologie

Mémoire De Fin D'étude

En Vue De L'obtention Du Diplôme De Master En Sciences De La Nature Et De La Vie.

Option : Biotechnologie Microbienne

THEME

**Etude de l'effet de quelques souches bactériennes d'origine tellurique
sur la bio protection et la promotion de la croissance des plantes.**

Soutenu le : 18 /07/202

Réaliser et présenter par :

M^{lle} : MEKKI AMIRA

M^{me} : BOUCHAALA AMINA

Devant le jury :

M^{me} : DJELLOUT .H

MCB

Présidente.

M^{me} : ZAATOUT.R

MAA

Examinatrice.

M^{me} : BENSAID F.

MAA

Promotrice.

Année universitaire : 2022-2023.

Remerciement

Suite à l'achèvement de ce modeste travail, Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et nos respects sans limite pour notre promotrice **Mme BENSAID F** pour sa prise en charge, ses conseils précieux, ses paroles, merci pour tout ce que vous avez apporté à nos connaissances.

Nos remerciements à **Mme DJELOUT H** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de Présider le jury qui va juger ce travail.

Nous adressons nos remerciements à **Mme ZAATOUT.R** pour avoir Acceptée d'examiner ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous nos professeurs pour la Qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué au cours de notre formation **Mr BENCHAAABANE.M, Mme AMMAD.F, Mme BENKORTEBY.H, Mme SABRI** et tous les autre enseignants.

Nous ne pourrai qu'exprimer un infini remerciement à tous les membres du laboratoire PFE pour **Mme IHCEN, Mme HAYATE** et a **Mme DAJMILA.**

Qui ont participé à la réalisation de notre travail.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance Enfin on remercie tous ceux qui ont contribué de près ou loin À l'aboutissement de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

A mes chers parents **MEKKI MABROUK** et **BOUSSAHOVA FADHILA**, Quoi que je dise ou que je fasse, je n'arrivai jamais à vous remercier comme il se doit. C'est grâce à vos encouragements, vos bienveillances et votre présence à mes côtés, que j'ai réussi ce respectueux parcours. Je souhaite que vous soyez fière de moi, et que j'ai pu répondre aux espoirs que vous avez fondé en moi.

Mes chers frères **WALID** et **ABD ESLAM**, Merci pour vos soutiens moral qui m'ont aidé dans les moments difficiles. Je vous souhaite le bonheur et la réussite dans vos vies et aussi mes petits frères **MOHAMED** et **AALAE EDDINE**.

Je tien aussi de remercie mes deux sœur **MANEL** et **SALMA** pour leur patience et encouragement durent cette période difficile vous êtes mes piliers .et aussi pour ma petites princesse **RIME**.

Pour ma belle-famille **KASSINI** surtout A mon cher fiancé **ADAM** pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitudes que dieu te protège pour moi.

À travers ses lignes je ne peux pas vous décrire tous mes sentiments d'amour, le seul mot que je peux dire est merci pour votre amour, vraiment merci beaucoup ma **HOUDA**.

Et aussi j'adresse mes remerciements pour mes chère amies **CHAIMA**, **SERINE**, **MANEL**, **ABIR** et **SARAH** pour vos conseils et votre aide durant le parcours.

Et pour la fin je remercie mon âme sœur et mon binôme **AMINA** pour tous les moments agréable qu'on a passé ensemble et que dieu te garde toujours ton sourire et te garde ton fils **SADJID**.

AMIRA.

Dédicace

Avec une Grande fierté et une immense joie
Que je dédie ce modeste travail:

A mes adorables, les personnes les plus chères de ma vie
Mes Parents: ALI et ZAHIA pour leur amour et

Leur tendresse leur soutien, que dieu leur procure bonne

Santé et longue vie

À ma chère amie et binôme **AMIRA** pour son appui son encouragement et pour
tous les moments

Agréables que nous avons passés ensemble.

A mon cher **SALIM** Qui m'a supporté dans les moments difficiles

A mes sources de bonheur **MAROUA** pour leur présence et

Leur encouragement et **mes chère-frère**. Et notre petit prince
SADJID

A toute ma famille **BOUCHAALA** et **BOUFADIS** et **MEKKI**.

Amina

Résumé

Résumé :

L'immense importance des microorganismes telluriques dans le domaine de la lutte biologique nécessite une large étude sur leurs effets *in situ* et *in vitro* sur les différents pathogènes, notamment les champignons, l'objectif de notre travail est l'isolement des bactéries à partir de trois sols rhizosphériques des plantes différentes (tomate, fraise et citronnelle) et tester leurs capacités antagonistes *in vitro* et *in situ* contre le champignon pathogène d'origine tellurique *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* responsable de la fusariose vasculaire de la tomate et aussi leur pouvoir de la biostimulation de la croissance. Cette étude a été réalisée en trois parties principales : la première porte sur l'isolement des rhizobactéries par une série de dilution, la deuxième sur les activités antagonistes *in vitro* et *in situ* de ces bactéries contre *FOL* et l'étude de leur capacité dans la promotion de la croissance de la tomate variété CEREZA AMARELLA, pour la troisième partie porte sur l'identification préliminaire des souches antagonistes.

L'isolement des bactéries à partir des échantillons de 3 rhizosphères différents (tomate, citronnelle, fraise) par la méthode de dilution et suspension nous a permis d'obtenir plusieurs isolats différents de leurs aspects macromorphologiques (taille, forme, couleur).

Dans les essais d'antagonisme *in vitro*, les essais de confrontation directe, ont montré que 7 souches antagonistes testées isolées à partir de la rhizosphère de la tomate et la fraise ont inhibé la croissance mycélienne des pathogènes, avec des taux d'inhibitions allant de 34 à 83%.

Les essais d'antagonisme *in situ* ont montré que l'application des antagonistes, a permis de réduire le développement de la fusariose qualitativement et quantitativement. Les taux d'infections ont régressé d'une façon importante par rapport aux témoins (de 34 à 100%) et la sévérité était faible. Dans quelques interactions il a été noté une inhibition totale de la maladie.

Les 7 souches qui ont montré une efficacité antagoniste *in vitro* et *in situ* ont été caractérisées par un examen macroscopique et microscopique. L'identification des isolats par la galerie API20E et API20NE nous a permis d'obtenir des codes qui correspondent à différentes espèces bactériennes : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium radiobacter* et *tatumella ptyseos*.

Mots clés : antagonistes, rhizobactéries, champignons pathogènes, *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici*, fusarioses vasculaires, inhibition, *in vitro*, *in situ* tomate.

Abstract

Abstract:

The immense importance of telluric microorganisms in the field of biological control calls for a wide-ranging study of their *in situ* and *in vitro* effects on pathogens, especially fungi. The objective of our present work is to isolate bacteria from three rhizosphérique soils of deferent plants (tomato, strawberry and lemon) and to test their antagonistic capacities *in vitro* and *in situ* against the soil-borne pathogenic fungus *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* responsible for Fusarium head blight of tomato, as well as their biostimulation capacity for growth. This study was carried out in three main parts: the first concerned the isolation of Rhizobacteria by a series of dilutions, the second about *in vitro* and *in situ* antagonistic activities of these bacteria against FOL and the study of their ability to promote growth in the tomato variety CEREZA AMARELLA, and the third the preliminary identification of antagonistic strains.

In the *in vitro* antagonism trials, direct confrontation tests showed that 7 antagonistic strains isolated from the rhizosphere of tomato and strawberry inhibited pathogen mycelia growth, with inhibition rates ranging from 34 to 83%.

Interactions carried out in *in situ* antagonism trials showed that the application of antagonists reduced the development of both wilt Fusarium diseases, both qualitatively and quantitatively. Infection rates were reduced compared with controls (from 34 to 100%), and severity was low. In some interactions, the disease was completely inhibited.

The 7 isolates that showed *in vitro* and *in situ* antagonistic efficacy were characterized by macroscopic and microscopic examination. Identification of the isolates by the API20E and API20NE gallery enabled us to obtain codes corresponding to different bacterial species: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium radiobacter* and *tatumella ptyseos*.

Key Word: antagonists, Rhizobacteria, pathogenic fungi, *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* Fusarium wilt of tomato, tomato, *in vitro*, *in situ*, inhibition.

المخلص

المخلص

الغرض من هذه الدراسة هو عزل وإثبات القدرات العدائية في المختبر وعلى النبات لبكتيريا جذرية نافعة معزولة من ثلاثة جذور نباتات مختلفة (الطماطم، الليمون والفرولة) ضد الفطريات المسببة للأمراض في التربة

Fusarium Oxysporum f.sp.lycopersici الوعائية لنبات الطماطم

تم إجراء هذه الدراسة عبر ثلاثة أجزاء رئيسية: الأول يتعلق بعزل البكتيريا الجذرية ، والثاني يتعلق بتقييم قوتها العدائية في المختبر في الموقع وفي تعزيز النمو، والجزء الثالث يتعلق بالتحديد الأولي للسلاسل العدائية

في اختبارات المختبر، أظهرت المواجهة المباشرة أن 7 سلالات معزولة عن جذور الطماطم والفرولة تثبط بشكل كبير النمو الفطري ، مع معدلات تثبطات تتراوح من 34 إلى 83٪.

أظهرت التفاعلات التي تم إجراؤها على نبات الطماطم أن تطبيق السلالات المعزولة المضادات جعل من الممكن الحد بشكل كبير من تطور الفطريات الضارة نوعًا وكميًا. انخفضت معدلات العدوى بشكل كبير مقارنة بالضوابط (من 34 إلى 100٪) وكانت الشدة منخفضة. في بعض التجارب لوحظ تثبيط كامل للمرض

في المرحلة الأخيرة قد تم تحديد السلالات التي أظهرت فعالية معادية في المختبر وعلى النبات بالفحص العياني والمجهري وبواسطة API20E و API20NE بالحصول على أكواد تتوافق مع أنواع بكتيرية مختلفة

Pseudomonas fluorescens و *Pseudomonas spp* و *Bacillus subtilis* و *Agrobacterium radiobacter*

Tatumella ptyseos

لكلمات المفتاحية: المضادات، البكتيريا الجذرية، الفطريات، نمو الفطري تثبيط ، الطماطم

، *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici*

Liste des abréviations :

API : analytical profile index.

E : 20 caractères pour les non entérobactéries.

FOL: *Fusarium Oxysporum f. sp. Lycopersici*.

GN : milieu gélose nutritif.

IAA : l'Acide indole-acétique.

K : potassium.

Ml : millilitre.

N₂ : l'azote atmosphérique.

NE : Non Entérobactérie.

NH₃ : ammoniac.

P: Phosphate.

PDA: potato dextrose agar.

PGI : le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

PGPR : Rhizobactéries promotrice de la croissance des plantes.

R : Rayon.

RSI : l'induction de la Résistance systémique induite.

Spp : du latin speciespluralis, désigne toutes les espèces du genre.

T : Traitement.

UFC : Unités Formant Colonies.

VCGS : Vegetative Compatibility Groups

Liste des tableaux :

Tableau 01 :	site d'échantillonnage des 3 sols rhizosphérique.	13
Tableau 02 :	Nombre de colonies et description macroscopiques des colonies isolées à partir de la rhizosphère de la fraise (F).	18
Tableau 03 :	Nombre de colonies et description macroscopiques des colonies isolées à partir de la rhizosphère de la tomate (T).	19
Tableau 04 :	Nombre de colonies et description macroscopiques des colonies isolées à partir de la rhizosphère de ciron (C).	19
Tableau 05 :	Taux inhibition de la sévérité et la maladie de fusariose.	24
Tableau 06 :	Effet des traitements sur la hypostimulation des plants de tomate.	25
Tableau 07 :	Résultats de la coloration de Gram des souches antagonistes isolées.	26
Tableau 08 :	résultats des tests oxydase et catalase des 7 souches isolées.	26
Tableau 09 :	Résultat de la galerie API 20E de la souche (T2).	27
Tableau 10 :	Résultat de la galerie API 20E de la souche (T3).	27
Tableau 11 :	Résultat de la galerie API 20E de la souche (T4).	28
Tableau 12 :	Résultat de la galerie API 20E de la souche (F (-2)1).	28

Tableau 13 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (F (-5)2).	28
Tableau 14 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (T1).	29
Tableau 15 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (F (-2)2).	29

Liste des figures :

Figure 01 :	Cycle de vie du <i>Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici</i> .	09
Figure 02 :	Isolats fongiques sur milieu PDA de (<i>FOL</i>) et <i>Trichoderma</i> (original 2023).	14
Figure 03 :	schéma représente la méthode en spot.	14
Figure 04 :	interprétation du résultat par variation de couleur dans de galerie API 20.	18
Figure 05 :	interprétation des résultats par variation de couleur dans galerie API 20 NE.	18
Figure 06 :	Aspect macroscopique des bactéries isolées des 3 sites rhizosphérique.	21
Figure 07 :	cultures pures des isolats bacteriennes .	21
Figure 08 :	Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fol</i> (en confrontation directe22 avec les bactéries antagonistes.	
Figure 09 :	Résultats d'antagonisme <i>in vitro</i> de la croissance mycélienne de <i>Fol</i> en22 confrontation directe avec les bactéries antagonistes.	
Figure 10 :	<i>FOL</i> sans bactéries sur milieu PDA/GN (original 2023).	22
Figure11 :	<i>Fol / Trichoderma</i> sur milieu PDA/GN (original 2023).	22
Figure 12 :	Dispositifs expérimentaux après 45 jours des essais.	23
Figure 13 :	Evolution de l'infection (%) de la fusariose vasculaire de la tomate.	23

Figure 14 :	Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate.	24
Figure 15 :	Gaine en élongation des racines et partie aérien des différents traitements	25
Figure 16 :	coloration de gram sous microscope optique des bactéries antagoniste.	26
Figure 17 :	Résultats de la galerie API 20 NE de la souche T2.	27
Figure 18 :	Résultats de la galerie API 20 NE de la souche T3	27
Figure 19 :	Résultats de la galerie API 20 NE de la souche T4	28
Figure 20 :	Résultats de la galerie API 20 NE de la souche F (-5)2.	28
Figure 21 :	Résultats de la galerie API 20 NE de la souche T1.	29
Figure 22 :	Résultats de la galerie API 20 NE de la souche F (-2)2.	29

Sommaire :

Remerciement	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
المخلص	
Liste des Tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	01
Chapitre 1 : Partie bibliographique	
1. Généralités sur la rhizosphère.....	03
1.1. La Rhizosphère.	03
1.1.1 Définition.	03
1.1.2. Types de rhizosphère.....	03
1.1.3. Composition microbienne de la rhizosphère.	03
1.2. Interaction entre plantes et microorganismes rhizosphérique.....	03
1.3. Interaction entre les microorganismes de la rhizosphère.....	04
2. Les maladies fongiques d'origine tellurique cas de la fusariose vasculaire.....	06
2.1. La fusariose vasculaire de la tomate.....	06
2.2. Plante hôte.....	06
2.3. Symptômes de la maladie.	07
2.4. Agent causal.	07
2.4.1. Cycle de vie.	07
2.4.2. Mode d'action.....	08
2.5. La lutte contre la fusariose vasculaire.	08

3. Rôle des rhizobactéries dans la bio protection des plantes.	09
3.1. Les agents de la lutte biologique.	09
3.2. Rôle des PGPR dans la lutte biologique.	10
3.2.1. Effet direct des PGPR.	10
3.2.2. Effet indirect des PGPR.	11
3.3. Stratégies de formulation des PGPR.	12
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
1. Matériel biologique.	13
2. Isolement des rhizobactéries.	13
2.1. Echantillonnage.	13
2.2. Isolement, sélection et purification des rhizobactéries.	13
3. Antagoniste <i>in vitro</i> .	13
3.1. Préparation des isolats fongiques.	14
3.2. Confrontation direct.	14
4. Antagonisme <i>in situ</i> .	15
4.1. Dispositif expérimental.	15
1. Paramètres analysés	16
5. identification des souches antagonistes.	17
5.1. Identification microscopique.	17
5.2. Identification biochimique.	16
5.2.1 Test de catalase.	16
5.2.2 teste d'oxydase	16
5.2.3 Galerie Biochimique.	17
1. Galerie API20 E.	17
2. Galerie API20 NE.	17

Chapitre 3: Résultat et discussion

Résultat :

1. Dénombrement et purification des souches bactériennes rhizosphérique.....	19
1. Antagoniste <i>in vitro</i>	21
2. Effet antagoniste <i>in situ</i> :	22
3.1. Le pourcentage de maladie.	23
3.2. La sévérité de la maladie.	24
1. Inhibition de La Maladie et la sévérité.	24
2. La biostimulation de la croissance des plantes.	24
3. L'Identification des bactéries antagonistes.	25
4.1. Observation microscopique.....	25
4.2. Identification biochimique.	26
4.2.1. Teste catalase –oxydase.	26
4.2.2. Galerie 20E.	27
4.2.3. Galerie API20NE	29
Discussion	30
Conclusion et perspectives.....	33
Annexes.	

Introduction générale

Introduction générale

Introduction générale

Le sol est un compartiment majeur des écosystèmes terrestres, il constitue un des réservoirs de biodiversité les plus importants de la planète. La plus grande partie de cette diversité d'organismes est représenté par des microorganismes telluriques qui sont extrêmement abondants et d'une grande diversité taxonomique et fonctionnelle et constituée essentiellement par des bactéries, des champignons, des micros algues, des archées et des protistes. Le fonctionnement biologique des sols est fortement lié à son activité microbienne et ses différents types d'interactions entre les microorganismes, le sol et la plante.

Les agents phytopathogènes sont parmi la communauté microbienne la plus abondante dans le sol. Ils ont un impact négatif sur la plante et sur l'équilibre microbien du sol. Parmi ces microorganismes, les champignons sont les plus diversifiés et les plus graves sur les plantes cultivées, ils peuvent infecter les racines, et provoque des déférents types de maladie tellurique racinaires et aérienne. Parmi ces maladies, la fusariose vasculaire provoquée par l'espèce *Fusarium oxysporum* est très redoutables sur de nombreuses espèces végétales notamment la fusariose de la tomate causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lini* parasite du lin et *Fusarium oxysporum* f. sp *albedinis* responsable de la fusariose du palmier dattier (Counrath, 2002). Ce type de maladie vasculaire des plante peut provoquer plusieurs dégâts et peut entrainer des perte de rendement allant jusqu'au 50 à 80% (Nirmaladevi et al., 2016).

La complexité de la spécificité parasitaire, ajoutée aux capacités de conservation dans le sol, ont toujours constitué des limites devant la réussite des méthodes de lutte conventionnelle. De nombreuses études ont démontré les possibilités d'exploitation des microorganismes antagonistes pour le biocontrôle de ces fusarioses (Bashan, 2005). Parmi ces microorganismes, les PGPR ont contribué des modèles dans des études expérimentales tels que *Bacillus* (Zhang et al.,2020), *Pseudomonas* (Benoussaid et al. 2018) ; *Streptomyces* . Les mécanismes d'action reconnus chez ces bactéries sont souvent en relation avec ses capacités antagonistes direct (Swarnalakshmi et al., 2020) et/ou d'induction des résistances systémiques chez les plantes (Syed Nabi, 2021) et même des actions de phytostimulation des plantes (Djerdjouri ,2012) et l'augmentation de la résistance des plantes aux maladies du sol (Claude ,1984).

Dans ce contexte de la lutte biologique contre la fusariose vasculaire, notre étude a été réalisée à travers quatre parties expérimentales :

1. la première partie porte sur l'isolement des souches antagonistes bactériennes à partir de la rhizosphère de trois plantes déférentes la tomate, de la fraise et du citron.
2. la deuxième partie consiste à évaluer le pouvoir antagoniste *in vitro* des souches bactériennes isolées vis à vis de la souche *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL), agent de la fusariose vasculaire de la tomate.

Introduction générale

3. la troisième partie vise à étudier de pouvoir antagoniste *in situ* des bactéries isolées en interaction avec la tomate, variété CEREZA AMARELLA et infectées par FOL.
4. la dernière étape a pour objectif de caractériser et d'identifier les souches isolées qui ont montré une efficacité de bio contrôle *in vitro* et *in situ*.

Chapitre 1

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Partie bibliographique

1. Généralités sur la rhizosphère

Le sol est un habitat et un élément de l'écosystème, il est le produit et la source d'un grand nombre de processus et d'interactions chimiques, biochimiques et biologiques. L'environnement de la rhizosphère vital (interaction plantes -micro-organismes) joue un rôle important dans les processus biochimiques du sol, tels que la décomposition de la matière organique, le cycle des nutriments et la biotransformation des polluants organiques.

1.1 La Rhizosphère

1.1.1. Définition

La rhizosphère désigne l'environnement situé à quelques millimètres de la surface de l'axe racinaire et constitue le lien entre le sol, les plantes et les micro-organismes. Ces dernières jouent un rôle important dans l'amélioration de la croissance des plantes en mobilisant les nutriments et en transformant la matière organique dans la plante (**Zhang et al., 2020**). La rhizosphère présente généralement une activité chimique et biologique beaucoup plus élevée, en raison des exsudats des racines qui sont également colonisés (**David et al., 2013**).

1.1.2. Types de rhizosphère:

Selon (**Zhou et al., 2020**) la rhizosphère se compose de trois éléments distincts reconnus la rhizosphère en soi (sol), le rhizoplan et la racine elle-même.

1. La rhizosphère est donc la zone du sol influencée par les racines par la libération de substrats qui affectent l'activité microbienne.
2. L'ectorrhizosphère constituée de rhizoplan qui est la surface de la racine, y compris les particules racinaires fortement adhérentes. Elle forme une interface entre les racines et la rhizosphère, qui correspond au reste de la zone rhizosphérique (**Tristan et al., 2021**).
3. L'endorrhizosphère, est constituée de tous les tissus internes de la racine qui fait partie du système, y compris le rhizoderme, le cortex et la stèle (**David et al., 2013**)

1.1.3. Composition microbienne de la rhizosphère

La rhizosphère et les racines des plantes abritent une grande diversité de microorganismes. En particulier les bactéries, les champignons et d'autres microorganismes. La diversité et la composition de la communauté bactérienne de la rhizosphère dépendent à la fois de l'espèce végétale et du type de plante. L'une des niches microbiennes, les plus récemment découvertes, est l'intérieur des plantes saines colonisée par les bactéries endophytes (**Ling et al., 2022**). Un grand nombre de micro-organismes diversifiés qui peuvent coloniser la surface ou les parties internes des plantes, interagissent entre eux et forment des réseaux d'interaction complexes notamment entre les micro-organismes,

interactions entre les micro-organismes et les plantes, et interactions entre les micro-organismes et les animaux (Moëgne-Loccoz *et al.*, 2014).

1.2. Interaction entre plantes et microorganismes rhizosphérique :

D'après Gholami *et al.*(2012), la plante interagit avec une série de micro-organismes présents dans le sol . Les interactions entre les microorganismes, les plantes sont complexes et réciproques. Le rôle de la plante dans l'orientation de la microflore rhizosphérique est en fonction de ses caractéristiques taxonomiques et métaboliques. En effet, il pourrait exister des mécanismes de spécificité (ou sélectivité de l'effet rhizosphère) aboutissant à la stimulation ou l'inhibition préférentielle de populations microbiennes en interaction avec certains génotypes de plantes. L'effet rhizosphère est un processus qui permet la création d'un environnement dynamique où les microbes peuvent se développer et interagir (De carne *et al.*, 2010).

le microbiome de la rhizosphère élargit considérablement le répertoire fonctionnel de la plante car La rhizosphère est l'interface entre la plante et le sol fonctionne comme la première étape de la défense des plantes et du recrutement du microbiome racinaire pour une gamme de fonctions bénéfiques pour l'amélioration de la croissance des plantes hôtes, par la régulation des fonctions essentielles des plantes, notamment le cycle et l'absorption des nutriments, la croissance des racines et des pousses, la suppression des maladies, la résistance systémique induite et la résistance abiotique (Zhang *et al.*,2020).

1. parasitisme :

La plupart des maladies parasitaires des plantes sont causées par des champignons ou des oomycètes, le reste étant dû à des bactéries ou des virus. Les champignons phytopathogènes et les oomycètes sont souvent des parasites facultatifs dits nécrotrophes, dont les phases saprophytiques et parasitaires alternent (Moëgne-Loccoz *et al.*, 2014).

2. symbiose

C'est une interaction qui déroule entre la plantes et certaines bactéries fixatrices d'azote qui pénètrent généralement dans la plante par les poils racinaires et aussi entre plante champignons qui fournit à la plante des minéraux prélevés dans le sol (phosphore et dans une moindre mesure azote), tandis que la plante fournit des substrats carbonés issus de la photosynthèse qui s'appelle symbioses mycorhiziennes (Moëgne-Loccoz *et al.*, 2014).

1.3. Interaction entre les microorganismes de la rhizosphère :

Les plantes abritent des assemblages taxonomiquement et fonctionnellement divers dans leur rhizosphère, rhizoplane, et endosphère. Ces micro-organismes interagissent, se coadaptent et établissent des relations intimes entre eux allant des interactions bénéfiques symbiotique aux interactions commensales ou nuisibles (Li *et al.*, 2023).

1.3.1. L'antagonisme :

Le terme antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne. L'antagonisme à un effet

Chapitre 1 : Partie bibliographique

positif direct et indirect sur la croissance et la santé des plantes. Ces mécanismes sont situés sur ou à proximité des racines en produisant des phytohormones ou en rendant les nutriments minéraux plus accessibles aux plantes (**Christel Leyronas, 2019**). Le processus de l'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un parasitisme, ou par une antibiose (**Belkadi et Koliai, 2016**).

1.3.2. Parasitisme :

Cette interaction repose que le symbiote utilise l'hôte comme une ressource et lui cause ainsi des dommages (**Siliwal et Ravichandran, 2008**). Les microorganismes parasitaires peuvent également avoir un impact négatif sur la santé de la plante hôte en produisant des toxines, en supprimant l'immunité innée de la plante et /ou en améliorant la survie et la reproduction des agents pathogènes et / ou des ravageurs des plantes (**Li et al., 2023**).

1.3.3. Antibiose :

C'est une interaction entre deux espèces dans laquelle l'une des deux inhibe le développement de l'autre et obtient ainsi un meilleur accès aux ressources alimentaires du biotope. Cette stratégie est répandue chez les procaryotes et les eucaryotes (**Moënné-Loccoz et al, 2014**).

1. compétition:

Cette interaction est définie comme une demande simultanée par deux ou plusieurs organismes d'une ressource environnementale limitée, telle qu'un nutriment, de l'eau, de l'espace vital ou de la lumière (**Moënné-Loccoz et al, 2014**).

1. Mutualisme :

Dans le cas où l'association l'hôte et le symbiote bénéficient réciproquement de la relation les partenaires mutualistes peuvent être en mesure d'apporter de multiples avantages à leurs hôtes. Les deux exemples les plus étudiés du mutualisme sont la symbiose entre les plantes et les champignons mycorrhiziennes (**Siliwal et Ravichandran, 2008**) et la symbiose nodulaire entre les plantes et les bactéries fixatrices d'azote (**Masayoshi et Kiwam, 2010**).

1. Cométabolisme et Commensalisme :

Le Cométabolisme c'est l'une d'interaction bénéfique entre les micro-organismes, il correspond à la coopération, à la syntrophie ou même à la symbiose lorsque les métabolismes sont différents et complémentaires et que l'interaction est durable. Le Cométabolisme est la transformation d'un composé qui ne peut servir de source unique de carbone et d'énergie par exemple d'isolats de sol incapables individuellement de métaboliser des composés aromatiques polycycliques, mais qui y parviennent lorsqu'ils sont cultivés en consortium (**Moënné-Loccoz, et al., 201**).

Le commensalisme est une association biologique au sein de laquelle le commensal obtient un avantage, alors que son hôte n'obtient ni avantage, ni désavantage. (**Moënné-Loccoz et al., 201**).

2. Les maladies fongiques d'origine tellurique cas de la fusariose vasculaire :

Les maladies des plantes sont aujourd'hui parmi les grands problèmes en agriculture qui devient un point de recherche très important vis à vis à leur danger en pertes de rendement et la diminution de la fertilité et de la productivité de la plante. dus au attaques d'origine biotique et abiotique , qui peuvent diviser les maladies des plantes en deux catégories : les maladies non parasitaires qui résultent d'un agents physique ou il peut s'agir de problèmes liés aux conditions climatiques, ou nutritifs et aussi aux phénomènes de pollution tel que la présence de produits toxiques dans le sol ou l'air , et les maladies non parasitaires sont les maladies d'origine microbienne causé par les micro-organismes présentent dans le sol (**Pierre, 2002**) . Il existe principalement huit groupes d'organismes vivants responsables de maladies : les plantes parasites, les bactéries, les virus, les particules viroïdes, les nématodes, les insectes, les oomycètes et les champignons qui sont la principale cause de pathologies végétales (**Yohann, 2018**) .

Les maladies fongiques sont signalées depuis fort longtemps à cause de grands dégâts provoqués (**Frantz, 2001**). Il existe 1.5 million d'espèces de champignons sur terre dont 10 000 sont responsables de 70 % de maladies sur les végétaux (**Christel, 2019**). les champignons phytopathogènes sont des micromycètes parasites provoquent des maladies cryptogamiques capable d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante (**Francisco et al., 2014**).

Les maladies d'origine tellurique par rapports aux maladies aériennes généralement ne peuvent pas se disperser sur de grandes distances (quelques centimètres à quelques dizaines de centimètres). La gestion des pathogènes telluriques est également délicate car il est très difficile de cibler les niches écologiques dans lesquelles l'agent pathogène se trouve (**Natacha, 2009**).

2.1. La fusariose vasculaire de la tomate :

La Fusariose vasculaire est parmi les maladies les plus graves et les plus dévastatrices de la tomate cultivées en serre et en plein champ dans les zones chaudes. (**Benoussaid et al., 2018**) Cette maladies a été identifié la première fois en Algérie en 1966 causer par la formas spéciales de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* (**Belkadi et Koliai, 2016**).

2.2 Plante hôte :

C'est l'une des cultures légumières les plus cultivées au monde pour la consommation sous forme de fruits frais et de divers types de produits transformés (**Nirmaladevi et al., 2016**). Elle contient des minéraux (calcium, fer et phosphore), des vitamines, des sucres, des acides aminés essentiels, de l'eau et de l'énergie. Malheureusement cette culture est attaquer par plusieurs ennemis notamment les insectes, les nématodes, les maladies virales, les maladies bactériennes et les maladies cryptogamiques (**Benaissa,2019**). La fusariose vasculaire est l'une des maladies les plus dangereuse de cette culture (**Nirmaladevi et al., 2016**). Elle peut entrainer une diminution du rendement à un pourcentage allant de 30% à 80 % et parfois même une absence totale du rendement dans certains des conditions météorologiques favorables.

Chapitre 1 : Partie bibliographique

2.3. Symptômes de la maladie :

Les fusarioses vasculaires sont parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, dont la contamination de la plante par le champignon *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici* se caractérise par l'apparition de certains symptômes qui peuvent toucher l'ensemble de la plante à n'importe quel stade de sa croissance (**Pothula et Vipul, 2021**). Les symptômes consistent en un flétrissement et un jaunissement qui se manifestent d'abord sur les feuilles basales puis gagnent les feuilles supérieures. Il apparaît d'une manière générale unilatéralement avec apparition des nécroses qui se généralisent par la suite. Le flétrissement est irréversible, lorsque les symptômes affectent l'ensemble du feuillage la plante meurt (**Bensaid, 2006**). Il existe d'autre symptomatologie tel que la coloration brun-rougeâtre des artères du xylème et une croissance fongique rose sur la partie supérieure des tiges infectées (**Pothula et Vipul, 2021**)

2.4. Agent causal :

Fusarium oxysporum f. sp lycopersici FOL est l'agent responsables des flétrissements et des pourritures racinaires de la tomate (**Srinivas, 2019**). Il se conserve dans le sol sous forme de chlamydospores et infecte les plantes par les racines ou des blessures d'origine mécanique ou biologique (percées des racines secondaires, piqûres de nématodes,...) (**Belkadi et Koliai, 2016**). C'est un champignon asexué (**Nirmaladevi et al., 2016**), doté d'une spécificité stricte d'hôtes (**Benoussaid et al., 2018**). Il se caractérise par la présence de régions de gènes génomiques (LS) spécifiques à une lignée, qui sont absents d'autres espèces de *Fusarium* (**Dean et al., 2012**). Chez cette espèce, il a été relevé une grande variabilité dans sa virulence dans laquelle il a été identifié 4 races physiologiques distinctes. Les deux premières races sont actuellement le VCG_s 0030 à 0032, la troisième et la quatrième race appartiennent aux VCG_s 0030 et 0033 (**Bensaid, 2006**).

2.4.1. Cycle de vie:

La contamination des plantes par le champignons commence par la pénétration des hyphes infectieux au niveau des cellule immature qui entoure la racine (**Dean et al., 2012**). Ces derniers vont se multiplier et se diviser ce qui provoque une élimination des cellules épidermiques et du cortex (**Bensaid, 2006**). Le champignons va envahit l'épiderme des racines et s'étend dans le tissu vasculaire produisant du mycélium et des conidies. (**Nirmaladevi et al., 2016**) et va transportées vers le haut par la sève (**Bensaid, 2006**). Ce processus va empêcher la circulation de l'eau dans la plante ce qui conduit au flétrissement et jaunissement du feuillage et la mort de la plante (**Pothula et Vipul.,2021**) (**Figure 01**).

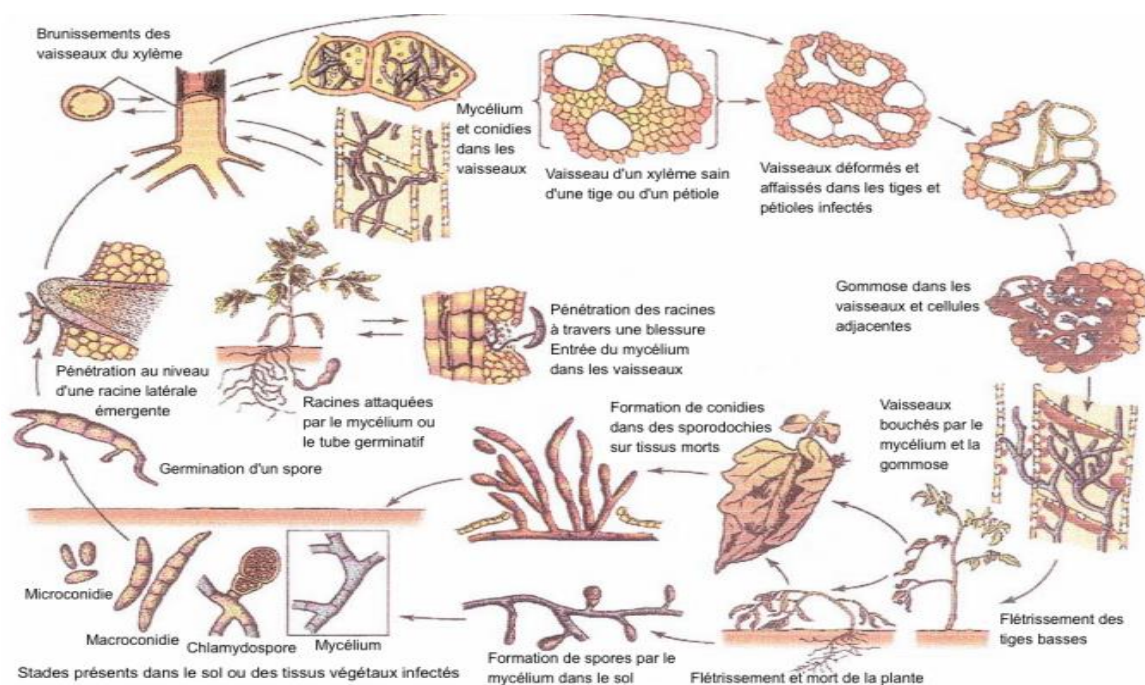


Figure 01 : Cycle de vie du *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici* (Agris, 2005).

2.4.2. Mode d'action:

L'invasion systémique du pathogène provoque des dommages sur le système vasculaire des plantes, induisant des perturbations dans la circulation de la sève par la détérioration des vaisseaux et/ou l'accumulation des substances toxiques telles que la lycomorasmine et l'acide fusarique (Bensaid, 2006). L'acide fusarique est une toxine peut conduire à une réduction de la photosynthèse, un flétrissement et une nécrose des feuilles, une peroxydation et la mort cellulaire. (Srinivas, 2019).

2.5. La lutte contre la fusariose vasculaire :

La protection des cultures contre le flétrissement fusarien se fait principalement, depuis plusieurs décennies, par l'utilisation de pesticides tels que bromure de méthyle qui deviennent aujourd'hui inquiétants à cause de leur impact chimique sur l'environnement. Actuellement, beaucoup de travaux cherchent à trouver des solutions alternatives notamment la lutte biologique qui consiste à utiliser des antagonistes naturels des pathogènes, limitant ainsi leur prolifération et/ou à renforcer les défenses des plantes et à augmenter la résistance du sol à la réceptivité des maladies (Bensaid, 2006) Un grand nombre de bactéries et de champignons antagonistes ont ainsi été mis en évidence mais, les résultats les plus confirmés ont été obtenus avec des isolats de *Trichoderma* spp il a un large spectre d'activité contre les pathogènes telluriques par la production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* spp. des agents potentiels en milieux terrestres et une matière de choix pour l'exploitation Industrielle (Prieto et al., 1997).

Chapitre 1 : Partie bibliographique

1. Rôle des rhizobactéries dans la bio protection des plantes

Le terme « lutte biologique » ou « biocontrôle » signifie en phytopathologie, toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter les divers ennemis des cultures (Les insectes, les acariens, les mauvaises herbes) (Foughalia, 2022). Pour lutter contre les maladies des plantes causée par des champignons phytopathogènes on prend en considération leurs caractéristiques particulières du cycle de vie, ainsi que son habitat préféré et son comportement dans certaines conditions environnementales (Agrios, 2005).

3.1. Les agents de la lutte biologique :

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol (Dobbelaere et al., 2003). La capacité d'un micro-organisme du sol à coloniser la rhizosphère de la plante est la première qualité qui le désigne comme un agent antagoniste efficace. Certains de ces micro-organismes, principalement les bactéries présentent une capacité de synthétiser une large gamme de métabolites secondaires qui influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant. Ils font partie intégrante des processus de cycle des nutriments et sont des déterminants cruciaux de la fertilité et de la santé des sols et protègent les plantes contre les infections pathogènes. (Swarnalakshmi et al., 2020). Des études ont été menées sur certains groupes de ces microorganismes non pathogènes rhizosphériques colonisent les racines appartiennent au groupe des PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), ont montré leurs utilisation en tant que biopesticides et/ou biofertilisants (Benoussaid et al., 2018).

3.2. Rôle des PGPR dans la lutte biologique :

Les mécanismes d'action des PGPR se basent essentiellement sur la compétition pour les nutriments et l'activité antagoniste vis-à-vis de la croissance des pathogènes et sur leur capacité à stimuler les mécanismes de défense chez l'hôte végétal (Benoussaid et al. 2018). Ces bienfaits peuvent être exercés d'une façon directe et indirecte sur la plante (Swarnalakshmi et al., 2020).

3.2.1. Effet direct des PGPR :

Les bactéries antagonistes peuvent influencer d'une façon directe la croissance et la santé des plantes à travers la fixation de l'azote, la solubilisation du phosphore et du potassium et la production de certains enzymes (Clémentine, 2013).

1. Fixation biologique de l'azote:

L'azote est l'élément nutritif le plus limitant pour les plantes, nécessaire à la synthèse des acides aminés et des protéines (Vejan, et al., 2016). Leur fixation par les bactéries rhizosphérique est considérée comme l'un des principaux mécanismes par lequel les plantes bénéficient de l'association microbienne pour augmenter la disponibilité de la concentration de nutriments dans la rhizosphère. C'est un processus qui utilise un système enzymatique

complexe pour convertir l'azote atmosphérique (N₂) En ammoniac (NH₃) (Swarnalakshmi, et al., 2020). Les bactéries PGPR fixatrices d'azote les plus importantes appartiennent aux genres suivants : *Azospirillum*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* et *Pseudomonas*. (Vejan, Pel al 2016).

2. Solubilisation du Phosphate:

Cette molécules est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes et indispensable pour l'augmentation de la fertilité des sols, il se trouve sous forme insoluble dans les sols. L'utilisation de bactéries solubilisatrices du Phosphate on transforme le P insolubles en formes solubles. Actuellement, plusieurs espèces bactériennes sont connues par leurs capacité de solubilisation de phosphate notamment *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* (Swarnalakshmi., et al., 2020).

3. Solubilisation du potassium :

Selon Govind et al. (2015), le potassium (K) est le troisième macronutriment essentiels à la croissance des plantes mais plus de 90% du potassium présent dans le sol existe sous forme de roches insolubles ce qui influence négativement la croissance, le développement et le rendement de la plante. Cela a mis l'accent sur la valorisation des propriétés biologiques des microorganismes à travers la solubilisation des roches potassiques en produisant et en sécrétant des molécules de potassium. Cette solution peut être une méthode alternative aux engrais chimique et permet de favoriser la croissance des plantes en tant que biofertilisant. Plusieurs espèces ont été expérimentées avec succès telles que *Acidothiobacillus ferrooxidans*, *Bacillus edaphicus*, *Bacillus mucilaginosus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus sp.* et *Pseudomonas* (Vejan, Pel al 2016).

4. Production des phytohormones (hormones de croissance) :

Un large éventail de micro-organismes présents dans la rhizosphère est capable de produire des substances régulatrices de la croissance et le développement des plantes. ces régulateurs ont une influence sur les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques des plantes (Vejan, et al., 2016). Les phytohormones ou les hormones microbiennes sont similaires aux hormones végétales naturelles. Les PGPR produisent plusieurs phytohormones (les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène).

1. l'Acide indole-acétique (IAA)

Parmi les auxines les plus connu l'Acide indole-acétique (IAA) qui est un produit naturellement dans les plante et régulateurs de croissance des plantes car il affect la division, l'extension et la différenciation des cellules végétales ce qui provoque une stimulation de la croissance des racines et une amélioration de l'absorption des minéraux et des nutriments du sol. Ce mécanisme est courant chez les bactéries PGPR comme *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Agrobacterium*, *Enterobacterium*, *Klebsiella* (Govind et al., 2015).

Chapitre 1 : Partie bibliographique

1. Cytokines et gibbérellines :

Plusieurs rhizobactéries favorisant la croissance des plantes peuvent produire des cytokines ou des gibbérellines ou les deux à la fois (Govind et al., 2015). Les gibbérellines est une substance de croissance possède une grande importance dans le développement de la plante ; elle a un rôle dans la germination des graines ainsi que dans le développement des fleurs et des fruits (Swarnalakshmi et al., 2020).

2. L'éthylène:

La production de l'éthylène est une autre substance clé qui possède un large éventail d'activités biologiques. Elle peut affecter la croissance et le développement des plantes par nombreux processus en favorisant l'initiation des racines, en inhibant l'inhibition de l'élongation des racines, la promotion de la maturation des fruits, la promotion du flétrissement inférieur, activation de la synthèse d'autres hormones végétales (Govind et al 2015).

3.2.2. Effet indirect des PGPR :

Les PGPR stimulent indirectement la croissance des végétaux par l'inhibition et l'élimination des effets néfastes de la flore racinaire pathogène à travers la production d'antibiotique, d'enzymes, de sidérophores et d'induction de résistances systémique des plantes (Govind et al 2015).

1. Production d'antibiotiques:

La production d'antibiotiques par les PGPR est le mécanisme le plus puissant contre les agents phytopathogènes en limitant la prolifération les agents pathogènes des plantes généralement des champignons (Bashan, 2005). Les microorganismes antagonistes produisent plusieurs types d'antibiotiques tels que : polyoxine B et D par *Streptomyces cacaoi*. (Vurukonda, 2018), la bacillomycine, la kanosamine, la surfactine fengycine, la zwittermicine A et l'iturine (Foughalia, 2022).

2. Production des enzymes lytique :

L'activité enzymatique est un mécanisme très important chez les bactéries rhizosphérique pour l'amélioration de la croissance des plantes ainsi pour le biocontrôle des agents pathogènes. La production et la libération de certains enzymes telles que les chitinases, les déshydrogénases, les β -glucanases, les lipases, les phosphatases, les protéases limite la prolifération des agents pathogènes en excréant des hydrolases de leurs paroi cellulaire (Vejan et al., 2016).

3. Production des sidérophores :

Le fer est un élément essentiel à la croissance microbienne, il est le plus indisponible car il est principalement présent dans le sol sous forme insoluble. De nombreux microorganismes du sol notamment les PGPR sécrètent des molécules de faible poids moléculaire qui fixent le fer, appelées sidérophores qui ont une plus grande affinité pour le fer que les sidérophores produits par les champignons pathogènes, ce qui permet aux antagonistes de capter la plus

grande partie du fer disponible et d'empêcher ainsi la prolifération des agents pathogènes. Il a été rapporté que les activités antagonistes chez la souche mutante de *Pseudomonas putida* à l'encontre de *Fusarium oxysporum* de la tomate dont le potentiel chélateur est nettement meilleur que celui des autres microorganismes (**Bashan ,2005**).

4. L'induction de la Résistance systémique induite (RSI) :

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes peuvent également fournir une résistance systémique contre un large spectre de maladies d'origine fongique, bactérienne et virale et même des dommages causés par les insectes et les nématodes. Ils peuvent stimuler les mécanismes naturels des plantes avant qu'une infection pathogène puisse s'établir par l'accumulation de composés tels que l'acide salicylique, qui joue un rôle protecteur central dans la résistance systémique acquise (**Bashan, 2005**).

1. . Stratégies de formulation des PGPR :

Aujourd'hui, le marché mondial des agents de lutte biologique est d'environ 5 à 6% du total des pesticides. Parmi les agents de lutte biologiques, les biopesticides à base de microorganismes commencent à prendre leur place dans le marché (**Foughalia, 2022**). La formulation d'un agent de biocontrôle expérimentalement efficace est le principal défi pour le succès ou l'échec d'un produit commercial qui doit adapter aux conditions de terrain. Parmi ces défis, les agents microbiens devraient être identifiés de manière univoque en tant qu'unité taxonomique efficaces contre les pathogènes ou les ravageurs des plantes cibles. Il ne doit pas présenter de toxicité clinique ou animale, et il doit avoir une stabilisation. Aujourd'hui les biopesticides d'origine microbienne qui se trouvent dans le marché se présentent sous quatre formes : poudre, suspension liquide, granulés et boue. Leur stockage se fait -5 à 30 °C. Au cours des 30 dernières années, environ 60 % des nouveaux insecticides et herbicides signalés proviennent de *Streptomyces* qui ont été connue comme une alternative attrayante aux engrais, pesticides et suppléments chimique (**Vurukonda, 2018**).

Chapitre 2

Matériels et méthodes

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1. Matériel biologique :

Dans notre étude, nous avons utilisé deux souches fongiques, l'une pathogène représenté par *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici* (FOL) et l'autre antagoniste appartient au genre *Trichoderma*. Les deux souches ont été fournies par le laboratoire de mycologie de l'université Saad Dahleb Blida 1.

2. Isolement des rhizobactéries :

2.1. Echantillonnage:

L'échantillonnage a été réalisé dans les régions de BOUSMAIL, FOUKA et ZERALDA. Les prélèvements ont été effectués à partir de la rhizosphère de trois plante déférente (tomate, la fraisé et du citronné) (**Tableau02**). Les échantillons prélevés à partir de plusieurs parcelles ont été mis dans des sacs en papiers et tamisé pour éliminer les débris végétaux.

Tableau 01 : site d'échantillonnage des 3 sols rhizosphérique

plante	Site de prélèvement	Date
fraise	ZERALDA wilaya D'ALGER	22/02/2023
tomate	BOUSMAIL wilaya DE TIPAZA	24/02/2023
Citron	FOUKA wilaya de TIPAZA	25/04/2023

2.2.

Isolement, sélection et purification des rhizobactéries :

Après séchage et tamisage des échantillons, et à l'aide d'une micropipette de 1000 µl, une série de dilution (10^{-1} à 10^{-7}) ont été préparée en prélevant 1 g du sol et en le plaçant dans un tube à essai stérile contenant 9 ml d'eau distillée stérile pour obtenir la dilution de 10^{-1} , puis à partir de chaque dilution, la même opération est répétée jusqu'à obtention de la dilution 10^{-9} , ensuite 100 µl de chacune des dilutions décimales appartenant aux 10^{-2} et 10^{-5} est étalé par la méthode de râteau sur la surface des boîtes de Pétri contenant le milieu gélose nutritive (GN) (**Annexe 01**). Les boîtes de Pétri portant les indications nécessaires (origine de l'échantillon, dilution et date) sont incubés dans un incubateur de 28 °C, 24 à 48 heures. Après incubation, les colonies ou UFC (Unités Formant Colonies) qui se sont développées à la surface du milieu de culture milieu GN ont été sélectionnées en se basant sur des critères macromorphologiques. Le comptage de ces colonies développées à la surface des milieux gélosés nous a permis de déterminer la concentration des microorganismes dans un gramme de sol rhizosphérique.

Les souches bactériennes sélectionnées ont été purifiées sur le milieu de culture GN, Les boîtesensemencés sont incubées 18 à 24h à 28°C et conservées à 4 °C.

3. Antagoniste *in vitro* :

Selon la méthode de confrontation directe décrite par **Xu et Kim (2014)**, l'activité antagoniste *in vitro* consiste à mettre en évidence la capacité de 9 isolats bactériens d'inhiber la croissance mycélienne de l'agent pathogène *FOL*.

3.1. Préparation des isolats fongiques :

Dans l'essai d'antagonisme *in vitro*, nous avons utilisé les souches bactériennes rhizosphérique isolées et purifiées et les deux souches fongiques de référence *FOL* et *Trichoderma* (**Figure02**). Les souches pures fongique sont obtenus suite à une série de repiquages jusqu'à obtention des souches pures. La vérification de la pureté des isolats fongiques a été effectuée par la mise en développement des champignons en déposant un disque mycélien sur le milieu PDA (**Annexe 01**). Après incubation à 28°C ±2 pendant une semaine, les isolats fongiques sont conservés à 4°C.

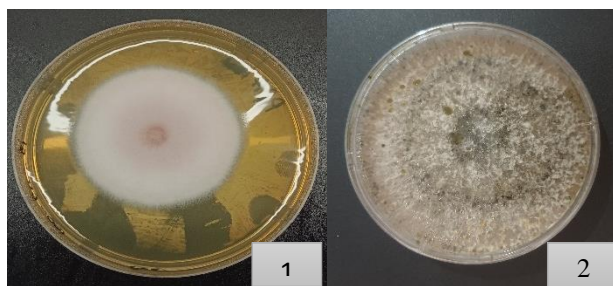


Figure 02 : Isolats fongiques sur milieu PDA (original 2023) (1. *FOL* / 2. *Trichoderma*)

3.2. Confrontation direct :

Le pouvoir antagoniste des souches bactériennes sur l'inhibition de la croissance mycélienne de *FOL* a été testé sur le milieu mixte PDA/ GN (**Annexe 01**). Le test consiste à placer au centre de la boîte de Pétri le pathogènes et à la périphérie de la boîte de Pétri 4 spots bactériens (**Becker, 1988**). Les spots bactériens ont été préparés à partir des cultures âgées de 24 heures alors que le disque mycélien a été préparé à partir des cultures âgées d'une semaine d'incubation (**Figure 03**). Les boîtesensemencées ont été incubées à une température de 26°C±2 pendant une semaine à dix jours. Deux témoins ont été utilisés. dans le premier témoin nous avonsensemencé les boîtes de Pétri uniquement par l'isolat fongique *FOL* (**Figure 04**). Le second sert àensemencer les boîtes par les deux souches de référence (*Trichoderma* – *FOL*) (**Figure 05**). .

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

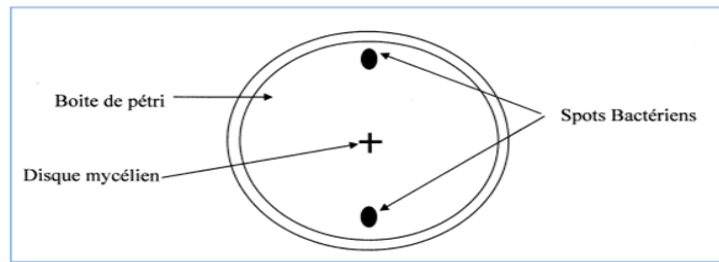


Figure 03: schéma de la méthode en spot.

L'effet antagoniste des bactéries a été évalué par la méthode de **Whipps (1987)** en calculant le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PGI) :

$$\text{PGI (\%)} = (R1-R2)/R1 \times 100.$$

R1 : Rayon de la colonie du pathogène en absence des antagonistes (témoin).

R2 : Rayon de la colonie du pathogène en présence des antagonistes.

4. Antagonisme *in situ*:

L'essai d'antagonisme *in situ* a été réalisé avec 7 souches bactériennes en interaction avec *FOL* agent du flétrissement fusarien de la tomate. Les 7 souches ont été sélectionnées sur la base de leurs activités antagonistes *in vitro*. L'inoculation des graines de la tomate CEREZA AMARELLA, préalablement désinfectées, a été effectuée par trempage dans les suspensions de l'antagoniste (**Bensaid, 2006**).

La désinfection des graines a été réalisée par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 6° pendant 20 mn, puis rincées abondamment à l'eau distillée stérile et séchées sur papiers filtre absorbant. Les suspensions de l'antagoniste ont été préparées dans de l'eau distillée stérile à partir de cultures bactériennes de 24 h cultivées sur le milieu GN, pendant 20 mn à la concentration de 10^8 conidies ou UFC /g de sol. La standardisation de la suspension a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm pour une DO comprise entre 0,08 et 0,1 correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml.

Après application des antagonistes les graines ont été semées dans des pots contenant 160 g de sol (1/3 de tourbe et 2/3 de sol), et infestés par le pathogène *FOL* 24 h après le semis. LA concentration de *FOL* a été ajusté à 10^8 conidies /ml à l'aide d'une cellule de malassez à partir des cultures de 7 à 10 jours (**Bensaid, 2006**). L'arrosage a été effectué chaque jour avec l'eau de robinet stérile.

4.1. Dispositif expérimental :

Les essais ont été conduits selon un dispositif expérimental en trois blocs aléatoires complets avec trois répétitions,

Les traitements en question sont:

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

- T (-) : Témoin négatif (sain) : plants inoculés avec l'eau distillée stérile.
- T (+) : Témoin positif (malade) : plants inoculés avec le pathogène *FOL*
- T1: Plants bactériés par la souche *Trichoderma* et infestés par le pathogène
- T2: Plants bactériés par la souche antagoniste T1 et infestés par le pathogène.
- T3 : Plants bactériés par la souche antagoniste T2 et infestés par le pathogène .
- T4 : Plants bactériés par la souche antagoniste T3 et infestés par le pathogène.
- T5 : Plants bactériés par la souche antagoniste T4 et infestés par le pathogène.
- T6 : Plants bactériés par la souche antagoniste F (-2) 1 et infestés par le pathogène.
- T7 : Plants bactériés par la souche antagoniste F (-2) 2 et infestés par le pathogène.
- T8 : Plants bactériés par la souche antagoniste F (-5) 2 et infestés par le pathogène.

4.2. Paramètres analysés :

Pendant une période de 45 jours avec des notations quotidiennes, les observations ont porté sur le développement et l'extériorisation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire selon des échelles adoptées (**Bensaid, 2006**) :

0. pas de symptômes.
1. Jaunissement de quelques ou plusieurs feuilles.
2. Jaunissement généralisé.
3. Flétrissement latéral.
4. Mortalité du plant.

Le suivi de l'évolution de la maladie est basé sur deux paramètres, taux d'infection et sévérité de la maladie.

1. Le taux d'infection (I %) qui correspond au pourcentage des plants malades.

$$I (\%) = (\text{total de plants malades} / \text{total de plants observés}) \times 100.$$

2. la sévérité de la maladie (S%) est prise comme critère pour évaluer la sévérité des attaques des pathogènes. Selon la formule décrite par **Fuch et al., (1997)** la gravité (S %) a été calculée comme suit :

$$S (\%) = \Sigma (E . a / N) 100.$$

N : nombre total de plants observés.

T : valeur du degré le plus haut (4) de l'échelle.

E : classe de symptôme qui varie de 0 à 4 selon l'échelle.

A : nombre de plants malades à la classe considérée.

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

1. A la fin de la période de notations, l'effet de traitement sur la promotion de la croissance des plants ont été évalué en mesurant la longueur de la partie aérienne et racinaire de chaque plante. Le poids frais et sec ont été aussi déterminé.

5. Identification des souches antagonistes :

5.1. Identification microscopique :

La coloration de Gram est réalisée afin de déterminer le type de Gram de chaque bactérie, elle repose sur une différence fondamentale de la composition et de la structure de la paroi. Elle consiste à traiter un frottis bactérien fixé à la chaleur, du bec bunsen, par une solution de violet de gentiane, puis par une solution iodo-iodurée (Lugol) : un complexe de colorant teint les cellules. Celles-ci sont soumises ensuite à l'action d'un solvant organique l'éthanol. Les cellules réagissent de deux façons et forment deux groupes :

1. Les une dites Gram négatif se décolorent rapidement : les lipides de la paroi bactérienne se dissolvent et rendent celle-ci poreuse, provoquant ainsi la décoloration du cytoplasme (coloration en rose).
2. Les autre conservent leur coloration violette et sont dites à Gram positif : l'éthanol ne décolore pas la cellule car la paroi est de composition en majorité protéique.

5.2. Identification biochimique

L'étude biochimique a été inspirée des travaux de Marchal et Bourdon (1982).

1. Test de catalase :

La catalase est enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes, aéro-anaérobies facultatives. La fonction principale de la catalase dans les cellules est de prévenir l'accumulation de niveaux toxiques de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) formé au cours des réactions d'oxydation.

1. Technique :

Sur une lame propre, on dépose une colonie prélevée à l'anse, ensuite on ajoute une goutte d'eau oxygénée et on observer immédiatement le résultat.

2. Résultat ;

-Apparition de bulles d'oxygène, l' H_2O_2 est donc dégradé en H_2O et O_2 . La bactérie possède une catalase, elle est dite catalase (+).

-Pas d'apparition de bulles d'oxygène, H_2O_2 n'est donc pas dégradé en H_2O et O_2 : la bactérie ne possède pas de catalase, elle est dite catalase (-).

1. Test d'oxydase :

L'oxydase est une enzyme qui permet à la bactérie d'utiliser pour sa croissance l'oxygène ambiant. Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore le N-diméthyle-paraphénylene diamine en un dérivé rose violacé. Ce test est essentiel pour continuer l'identification des bacilles à Gram négatif.

3. Technique :

La technique consiste à mettre la crème bactérienne sur un disque imprégné par le réactif et observer immédiatement le résultat.

4. Résultat :

- Apparition d'une coloration rose violacée : oxydation du réactif, souche oxydase (+).
- Absence de coloration rose 7violacée : absence d'oxydation de réactif, souche oxydase (-).

1. Galerie Biochimique :

5. Galerie API20 E :

C'est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes (20 caractères pour les entérobactéries). Ils détectent généralement une activité enzymatique, principalement liée à la fermentation des glucides ou au catabolisme des protéines ou des acides aminés (**Annexe 03**). Ils produisent des changements de couleur (**Figure 04**) qui sont soit spontanés, soit révélés par l'ajout de réactifs après leur incubation (**Annexe 03**).



Figure 04 : interprétation du résultat par variation de couleur dans la galerie API 20

6. Galerie API 20 NE :

La galerie API 20 NE se compose de 20 microtubes contenant des milieux et des substrats sous forme déshydratée. Elle permet l'identification des bacilles Gram (-) non entérobactéries. La lecture de réactions se fait à l'aide d'un tableau de lecture (**Annexe 03**) en se basant sur le virage de couleur (**Figure 05**)

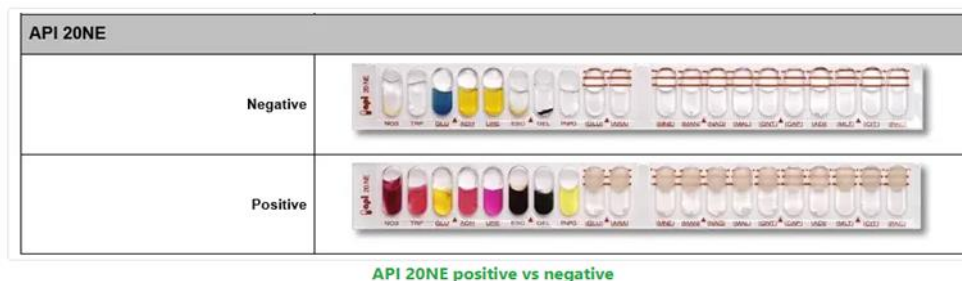


Figure 05: Interprétation du résultat par variation de couleur dans la galerie API 20 NE.

Chapitre 3

Résultats et discussion

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Résultats:

1.1 Dénombrement et purification des souches bactériennes rhizosphérique :

L'isolement des microorganismes à partir de la rhizosphère de trois sites (citron, fraise, et tomate) a permis d'isoler un nombre important de bactéries dont la concentration varie entre 1.4×10^6 Ufc/g et 7.05×10^7 UFC/g. Les caractéristiques macromorphologiques (**Figure06**) des colonies bactériennes isolées ont montré une diversité des formes (filamenteux, arrondie, régulière..), la tailles (petite, moyenne, grande) et des couleurs (blanche, blanc beige, jaunâtre ...) (**Tableau 02-03-04**). La purification des souches bactériennes de différents sites, nous a permis d'obtenir 9 souches pures (**Figure08**).

Tableau 02: Nombre de colonies et description macroscopiques des colonies isolées à partir de la rhizosphère de la fraise (F).

dilution	souche	nombre de colonies	description microscopique	Nombre de colonie dans 1g su sol (UFC/g)
1×10^{-2}	F(-2)1	50 colonies	forme : filamenteux / couleur : blanche taille : grande	7.05×10^7 UFC/g
	F(-2)2	32 colonies	forme : arrondie / couleur : blanche taille : moyenne	
	F(-2)3	10 colonies	forme : arrondie / couleur : blanche taille : moyenne	
	F(-2)4	6 colonies	forme : irrégulier / couleur : blanche taille : moyenne »	
1×10^{-5}	F(-5)1	9 colonies	forme : arrondie / couleur : blanche taille : moyenne	
	F(-5)2	32 colonies	forme : arrondie / couleur : blanche taille : petites	
	F(-5)3	1 colonie	forme : arrondie / couleur : jaune taille : petites	
	F(-5)4	1 colonie	forme : irrégulière / couleur : blanche taille : grande	

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Tableau 03: Nombre de colonies et description macroscopiques des colonies isolées à partir de la rhizosphère de la tomate (T).

Dilution	SOUCHES	nombre de colonie	description macroscopique,	Nombre de colonie dans 1g su sol (UFC)
1×10^{-2}	T1	50 colonies	forme : irrégulière / couleur : beige taille : moyenne	1.4×10^6Ufc/g
	T 2	35 colonies	forme : Arrondie / couleur : blanc beige taille : moyenne	
	T3	30 colonies	forme : Arrondie / couleur : beige taille : grande	
	T4	31 colonies	forme : Arrondie / couleur : blanche taille : petite	
1×10^{-5}	T 5	1 colonie	forme : Arrondie / couleur : blanche taille : petite	
	T6	3 colonies	forme : Arrondie / couleur : blanche taille : moyenne	

Tableau 04: Nombre de colonies et description macroscopiques des colonies isolées à partir de la rhizosphère du citron (C).

dilution	souches	nombre de colonie	description macroscopique,	Nombre de colonie dans 1g su sol (UFC)
1×10^{-2}	c1	120 colonies	forme : arrondie / couleur : blanche taille : petite	1.4×10^6 UFC/g
	c2	25 colonies	forme : irrégulière / couleur : beige taille : moyenne	
1×10^{-5}	c 3	8 colonies	forme : arrondie / couleur : blanche taille : petites	
	c 4	1 colonie	forme : arrondie / couleur : blanche taille : moyenne	

Chapitre 3 : Résultats et discussion

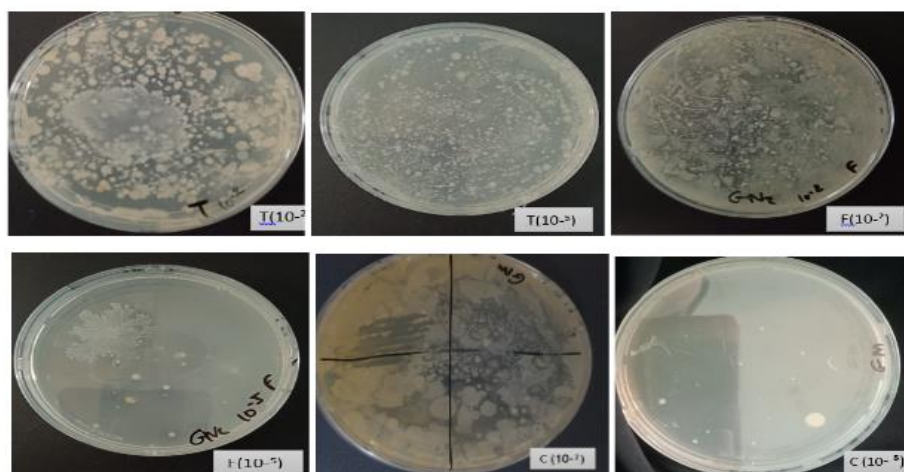


Figure 06 : Aspect macroscopique des bactéries isolées à partir de 3 sites Rhizosphériques.

La purification des souches bactériennes, nous a permis d'obtenir 9 souches pures différentes par leurs caractères macromorphologiques (couleur, forme, taille des colonies et vitesse de multiplication ...) (**Figure07**).

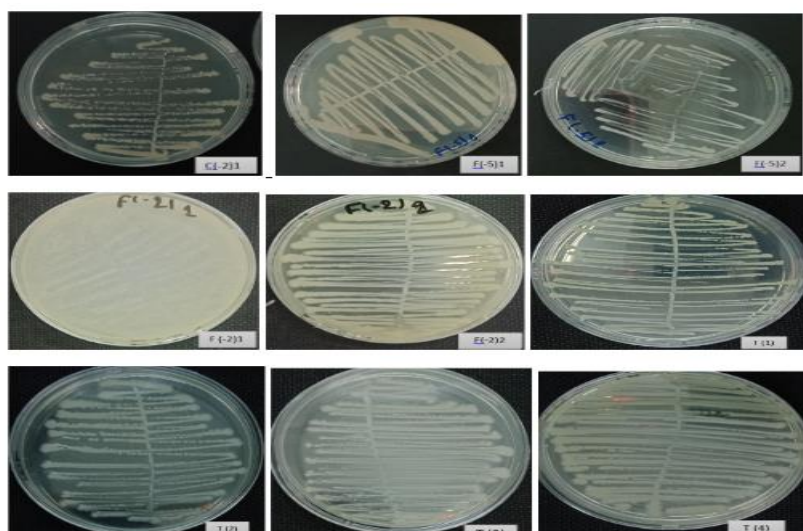


Figure 07 : cultures pures des isolats bacteriennes

7. Antagoniste *in vitro* :

L'activité antagoniste *in vitro* de 9 isolats bactériens en interaction avec *FOL* dans le milieu mixte (GN/PDA) a montré que 7 souches ont inhibé la croissance mycélienne du pathogène (**Figure 08**). Les meilleurs taux d'inhibition, 33% et 83 %, ont été liés avec les souches isolées à partir de la rhizosphère de la tomate et de la fraise. Aucune inhibition n'a été enregistrée avec les souches isolées à partir de la rhizosphère du citron (**Figure 09**) les résultats sont obtenus par comparaison avec les deux témoins préparées *FOL* (**Figure 10**) et (*Trichoderma* – *FOL*) (**Figure 11**) Sur milieux GN/PDA.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

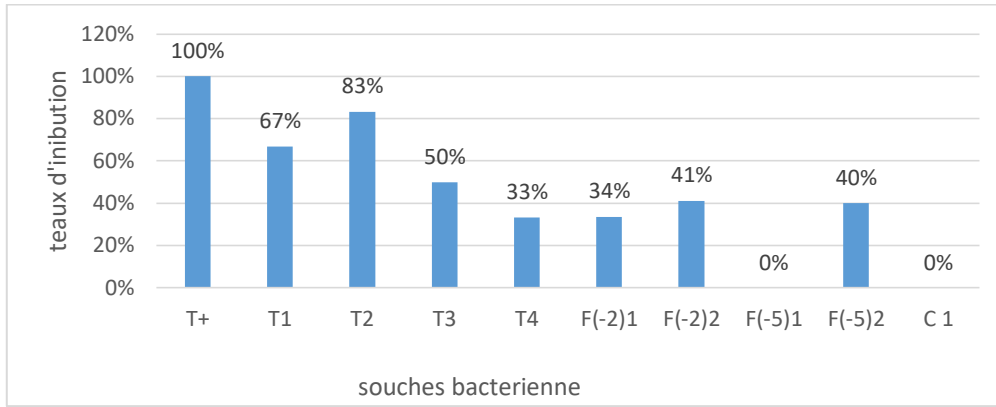


Figure 08: taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fol* (en confrontation directe avec les bactéries antagonistes).

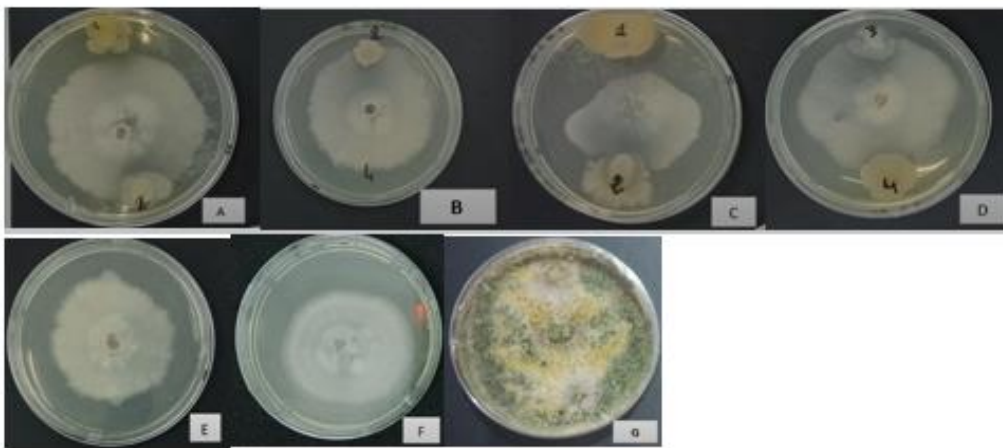


Figure 09: résultats d'antagonisme *in vitro* de la croissance mycélienne de *Fol* en confrontation directe avec les bactéries antagonistes.

A: F(-2)1 , F(-2)2 / *FOL* ; B : F(-5)1; F(+5)2 /*FOL* ; C : t(1) , T(2) /*FOL* ; D : T(3) , T(4) /*FOL* ; E : E : C(1)/ *FOL* ; F : témoin négatif *FOL* ; G : témoin positif (*Trichoderma* / *FOL*)



Figure 10: *FOL* sans bactéries sur milieu PDA/GN (original 2023).

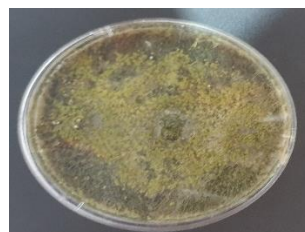


Figure 11 : *Fol* / *Trichoderma* sur milieu PDA/GN (original 2023).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Effet antagoniste *in situ* :

Le développement de la maladie et l'observation des symptômes typiques ont été suivis chaque jour durant toute la période d'expérimentation (45 jours) (**Figure 12**). L'évaluation de la maladie a été réalisée à travers deux paramètres liés à l'infection et la sévérité de la maladie



Figure 12 : Dispositifs expérimentaux après 45 jours des essais.

3.1. Pourcentage de la maladie :

Les notations individuelles réalisées au cours de la période d'expérimentation correspondant à 45 jours de suivi ont permis d'exprimer en pourcentage l'évolution de la maladie. La maladie a été initiée à partir du 21^{ème} jour chez le témoin positif (T+) et chez le traitement (T4) avec un taux d'infection de 33 %. Dans le cas des autres traitements, la maladie a été déclarée entre le 26^{ème} et le 40^{ème} jour après inoculation. En fin de notation, les taux d'infection les plus élevés ont été liés avec les traitements (T1, T2, T4, T7%) en enregistrant des taux allant de 33 à 66 %. Aucune infection n'a été enregistré avec les traitements T5 et T6. (**Figure 13**).

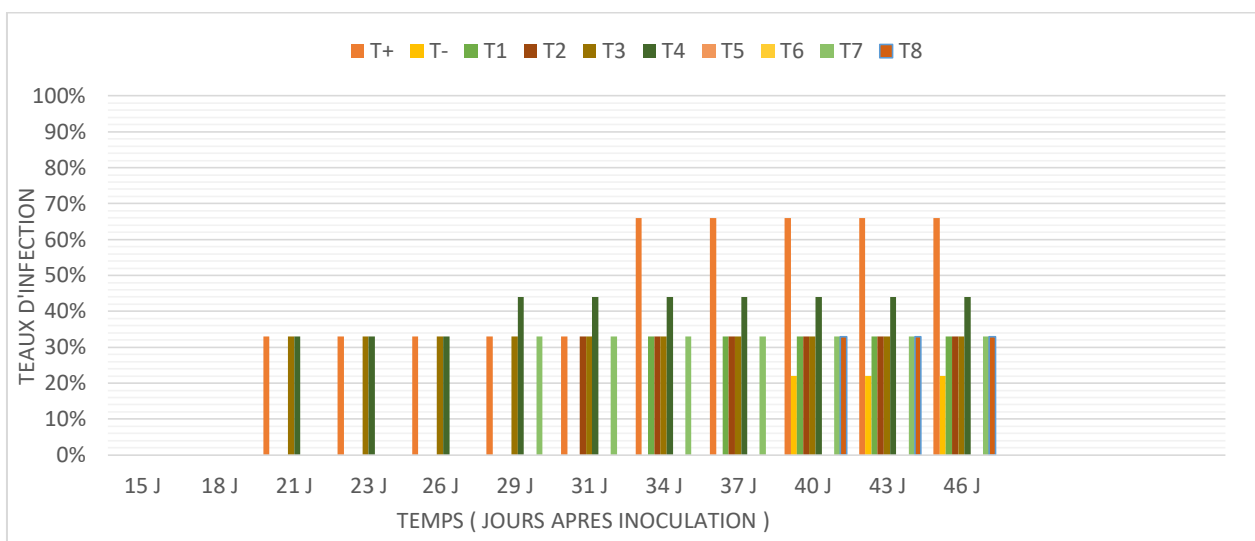


Figure 13 : Evolution de l'infection (%) de la fusariose vasculaire de la tomate.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

3.2. La sévérité de la maladie :

La gravité de l'infection a été jugée à travers la sévérité calculée sur la base de l'échelle symptomatologique après les notations individuelles de chaque traitement au niveau de 3 blocs.

Les résultats ont montré que la sévérité de la fusariose été variable selon la souche bactérienne. Nous avons enregistré une absence totale de la sévérité avec les traitements T5 et T6. L'évolution a été très faible avec le traitement négatif (T-) et le traitement (T1) bactérisés avec la souche *Trichoderma*. De plus la sévérité a été faible avec les traitements T2, T3, T7 et T8 bactérisés respectivement avec les souches antagonistes isolées T1, T2, F(-)2 et F(-)5)2 avec un taux d'évolution allant entre 22 et 33 %. Dans le cas du traitement (T4) bactérisés avec la souche T3, la sévérité de la fusariose été la plus élevée avec un taux de 66%. (**Figure 14**).

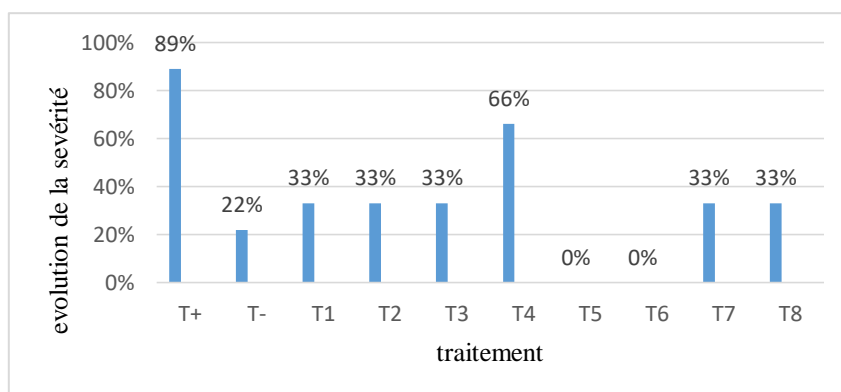


Figure 14 : Evolution de la sévérité (%) de la fusariose vasculaire de la tomate.

3.3. Inhibition de la maladie et la sévérité :

A la fin de de nos essai, nous avons constaté que l'inoculation des plants avec les souches antagonistes T4, F (-)2)1 a un effet bénéfique sur l'inhibition de l'expression des fusarioses vasculaires de la tomate (100% d'inhibition). Alors que chez les restes de traitements bactérisés avec les souches isolées le taux d'inhibition de la maladie est variable entre 67 % et 57%.

Les traitements (T5 et T6) bactérisés respectivement avec les souche T4 et F(-)2)1 ont montré un taux d'inhibition de 100 %. Dans le cas des traitements T1, T2, T6 et T7, les taux d'inhibition sont de l'ordre de 67 %. Le traitement T3 bactérisés avec la souche T2 a montré le plus faible taux d'inhibition (34 %).

Tableau05 : Taux inhibition de la sévérité et la maladie de fusariose.

Traitements	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Inhibition de la maladie %	67%	67%	57%	34%	100%	100%	67%	67%
Inhibition de la sévérité %	67%	67%	34%	34%	100%	100%	34%	67%

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1. Biostimulation de la croissance des plantes :

Suite à l'application des agents antagonistes, nous avons constaté une phytostimulation de la croissance des plantes, notamment ceux traités avec les souches bactériennes T2, T5, F (-)2. Ces effets ont été exprimés à travers la phytomasse aérienne et l'élongation du système racinaire, (**Figure 15**).

Concernant le poids frais et sec de la partie aérienne, nous avons enregistré des valeurs différentes selon le traitement. Le poids frais le plus élevé a été noté avec les traitements T5 et T6 (4g). Les autres traitements ont montré des valeurs allant de 1g à 2.5g (**Tableau 06**). Concernant le poids sec, les meilleurs résultats ont été toujours noté avec les traitements T5 et T6 avec un poids sec de 1.5 g.

Concernant la longueur des parties aérienne et racinaire, nous avons enregistré une coordination entre eux et entre les résultats précédents (poids frais et ces). Les résultats de la longueur de la partie aérienne des traitements T5 et T6 a été respectivement 25 cm et 18 cm et la partie racinaire a été 10cm et 8 cm. Pour les autres traitements, l'apport des bactéries a un effet positif sur l'augmentation des longueurs par rapport au témoin positif avec des valeurs allant de 6 à 15 cm dans le cas des parties aériennes et 2.5 à 11 cm concernant les parties racinaires (**Tableau 06**).



Figure 15 : Gaine en élongation de la partie racinaire et aérienne après 45 jours d'essai.

Tableau06 : Effet des traitements sur la phytostimulation des plants de tomate.

Traitements	T+	T-	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Poids frais	0.5 g	2 g	1 g	1.5 g	1.5 g	2.5 g	4 g	3 g	2 g	2.5 g
Poids sec	0.2 g	1 g	0.5 g	0.6 g	0.7g	1 g	1.5 g	1.5 g	1 g	0.5 g
Longueur partie aérienne	6.5cm	15.3cm	14.5cm	13cm	11.5cm	13.5cm	25cm	18c m	17cm	14cm
Longueur des racines	2.5cm	4cm	6.5 cm	5.1cm	5.1cm	6cm	10cm	8cm	11cm	7cm

Chapitre 3 : Résultats et discussion

2. Identification des bactéries antagonistes :

L'identification des souches bactériennes a été basé sur des caractères macroscopiques (forme, taille, couleur...) et microscopiques (coloration de Gram) et sur des tests biochimiques du métabolisme glucidique et protidique, en ensemençant une galerie d'identification par un système miniaturisé (micro-galerie).

4.1. Observation microscopique :

Les 7 souches qui ont montré un effet inhibiteur positif *in vitro*, ont fait l'objet d'une observation microscopique. Les résultats ont montré que toutes les souches sont des bacille Gram négatif à l'exception de la souche F(-2)1 qui est une bactérie cocci Gram positif (**Figure16**) et (**Tableau 07**).

Tableau07 : Résultats de l'observation microscopique des souches antagonistes isolées

souche	forme	Gram
T(1)	bacille	Gram négatif
T(2)	bacille	Gram négatif
T(3)	bacille	Gram positif
T(4)	bacille	Gram négatif
F(-2)1	cocci	Gram positif
F(-2)2	bacille	Gram négatif
F(-5)2	bacille	Gram négatif

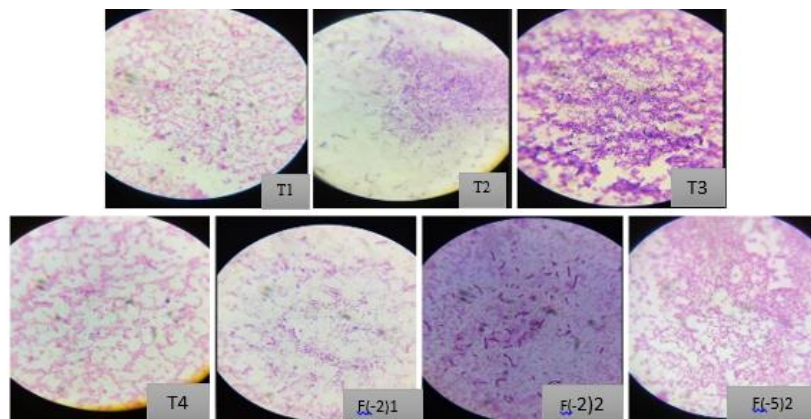


Figure 16 : coloration de Gram sous microscope optique des bactéries antagoniste (G×40) (original 2023).

Chapitre 3 : Résultats et discussion

4.2. Identification biochimique :

Les tests d'identification biochimiques des 7 souches bactériennes nous ont révélé 4 Genres bactériens, les résultats sont présentés ci dessous :

1. Teste catalase - oxydase :

Les résultats du test catalase ont montré que toutes les souches sont des catalase positive. A l'exception de la souche T4, les 6 souches sont des oxydases négatives (**Tableau 08**).

Tableau 08: résultats des tests oxydase et catalase des 7 souches isolées.

souches testées	T1	T2	T3	T4	F(-2)1	F(-2)2	F(-5)2
oxydase	-	-	-	+	-	-	-
catalase	+	+	+	+	+	+	+

4.2.2. Galerie 20E :

L'identification de 4 souches bactériennes, réalisée par les galeries API 20 E, nous a permis de mettre en évidence ses principaux caractères biochimiques. Les résultats obtenus après incubation sont les suivants

1. souche T2 :

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 09 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (T2).

teste	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultat	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
teste	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Figure 17 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche T2 (original 2023).

1. souche T3

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Tatumella ptyseos*.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Tableau 10 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (T3).

tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-



Figure 18 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche **T3** (original 2023).

2. souche T4

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Pseudomonas fluorescens*.

Tableau 11 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (T4).

tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-



Figure 19 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche **T4** (original 2023).

3. Souche F (-2)1 :

A partir du site d'identification, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Bacillus subtilis*.

Tableau 12 : Résultat de la galerie API 20E de la souche F(-2)1

tests	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	<u>H2S</u>	URE	TDA	IND	VP
résultats	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	+	+	+	+	+	-	+	-/+	+	+

Chapitre 3 : Résultats et discussion

4. Souche F (-5)2 :

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Pseudomonas spp.*

Tableau 13 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (F (-5)2).

tests	ONP G	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP
résultats	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
tests	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
résultats	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-



Figure 20 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche **F (-5)2 (original 2023)** .

1. . Galerie API20NE

L'identification bactérienne réalisée par la galerie API 20 NE, nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques de trois souches bactériennes. Après incubation, les résultats obtenus sont les suivants :

5. Souche T1

A partir du site d'identification, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Pseudomonas luteola*.

Tableau 14 : Résultat de la galerie API 20E de la souche (T1).

tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA
résultats	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
tests	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CT	PAC
résultats	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-



Figure 21 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche **T1 (original 2023)**

1. souche F (-2)2 :

A partir du site d'identification, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Agrobacterium radiobacter*.

Chapitre 3 : Résultats et discussion

Tableau 15 : Résultat de la galerie API 20E de la souche F (-2)2.

tests	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA
résultats	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
tests	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CT	PAC
résultats	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-



Figure 22 : Résultats de la galerie API 20 NE de la souche f (-2)2 (original 2023).

2. Discussion :

Les dégâts causés par les pathogènes du sol, depuis toujours, constituent une réelle menace sur diverses spéculations végétales entraînant une réduction importante des rendements. L'utilisation de micro-organismes bénéfiques comme biopesticides pour réduire les maladies est considérée comme l'une des méthodes les plus prometteuses dans les pratiques de gestion des cultures. Dans la présente étude, nous avons évalué l'efficacité *in vivo* et *in planta* des souches isolées à partir de trois sites rhizosphérique différents dans la lutte biologique contre *F. oxysporum* f.sp *lycopersic* responsable de la fusariose vasculaire de la tomate.

Les isolements réalisés ont montré une richesse microbienne intéressante avec des concentrations allant de 1.4×10^6 à 7.05×10^7 UFC/g. Dans ce contexte l'étude de **Miransari (2011)** a montré que la rhizosphère est un environnement riche en microorganismes dont la concentration peut atteindre plus de 10^9 microorganismes par gramme de sol.

La confrontation de 9 souches bactériennes isolées a la base de leur caractères macromorphologiques avec *FOL* sur milieu GN/PDA dans le but de tester leur activité antagoniste *in vitro* nous a permis de sélectionnées 7 souches qui ont un effet positive. Les taux d'inhibition sont variables d'un site à un autre site rhizosphérique. Les meilleurs résultats ont été enregistré avec les souches isolées à partir de la tomate avec un taux d'inhibition allant de 33 à 67% suivi par les souches isolées à partir de la rhizosphère de la fraise avec un taux d'inhibition de (34 à 41 %) et une absence totale des bactérie antagoniste dans le site de citron. Cette différence peut être expliquée par la diversité des microorganismes rhizosphérique et leurs modes d'action tels que la production des composés antifongique (**Foughalia 2022**). Le microbiote des plantes est variable selon l'espèce végétale et de la variété cultivée (**Masson et Simonin, 2022**).

Les 7 souches qui ont un effet positif *in vitro* vis avis de *FOL* ont été expérimentées *in situ* en interaction avec la tomate variété Amarela. Le suivi de l'essai expérimental pendant 45 jours nous a permis de confirmer l'efficacité des 6 souches *in situ* dans l'inhibition de la fusariose et l'amélioration de la croissance des plantes. Cette protection s'est traduite par une nette réduction de l'infection et de la sévérité des maladies et une phytostimulation de la biomasse végétale (pois sec, pois frais, longueur des parties aérienne et racinaires). La bioprotection obtenue présente des degrés d'efficacité variables selon les souches antagonistes. Avec plus de 67% l'effet inhibiteur a été enregistré avec les souches isolées à partir de la rhizosphère de la tomate. **Katy (2014) ; Jordan (2015)** ont montré que plusieurs rhizobactéries peuvent avoir un rôle important dans la protection et la phytostimulation de la croissance des plantes.

Les souches qui ont montré une efficacité de biocontrôle *in vitro* et *in situ*, ont fait l'objet d'une identification microscopique et biochimique. L'identification préliminaire des rhizobactéries ont montré que les souches isolées appartiennent aux espèces suivantes : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium radiobacter* et *Tatumella pyseos*. les résultats sont en accord avec beaucoup de travaux qui ont montré le potentielle de la majorités de ces souches dans le biocontrôle des maladies phytopathogènes

Chapitre 3 : Résultats et discussion

tel que la fusariose vasculaire notamment les souches *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas spp*, *Bacillus subtilis*, *Agrobacterium radiobacter* (poveda et eugui, 2022; çakir et al., 2022 ; pellegrini, 2023). Ces bactéries sont souvent dominantes au sein de la communauté microbienne rhizosphérique, elles se rencontrent dans tous les horizons, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes.

Dans notre étude, les souche *P. fluorescens* (T4), *P. aeruginosa* (T2) et *P.luteola* (T1) isolées à partir de la rhizosphère de la tomate et *Pseudomonas spp* f(-5)2 isolée à partir de la rhizosphère de la fraise ont montrer une nette efficacité d'antagonisme *in vitro* (taux d'inhibition allant de 33% à 67 %) et *in situ* (taux d'inhibition allant de 67 à 100%) et même une promotion de la croissance des plantes. Les résultats de notre étude étaient en accord avec ceux de **Benoussaid et al., (2018)** qui ont montré que les *Pseudomonas* peuvent inhiber *in situ* la croissance de *F. oxysporum f.sp.lycopersici* à un pourcentage de 22.08 % à 54.16 %.

En outre (**Lugtenberg, 2001**) ont montré que les *Pseudomonas spp. fluorescents*, ont été expérimentés avec succès dans de nombreux essais conduits en conditions contrôlées, en plein champs, et en conditions naturelles et qui ont montré une grande importance dans le biocontrôle de agents phytopathogènes et dans la phytostimulation de la croissance des plantes. La réduction de la sévérité de la maladie, réalisée peut s'expliquer par ses divers mécanismes connus, tels que la synthèse des sidérophores (pyocheline et pyoverdine) et d'antibiotiques et la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol (**Weller, 1986**). La synthèse de métabolites secondaires analogues aux phytohormones confère également des gains en croissance induits par ces microorganismes (**Bensaid, 2006**). De plus **Mujeebur et Shahana (2002)** suggèrent que la solubilisation du phosphore organique du sol améliore aussi la croissance des plantes. A cause de ses mécanismes d'action et ses capacités antagonistes, des formulations à base de souches de *Pseudomonas spp. fluorescents* ont longtemps été appliquées en lutte biologique contre les maladies des plantes (**Ranasingh et al., 2006**).

La souches F(-2) 1 identifié comme étant de *Bacillus*, isolée à partir de la rhizosphère de la fraise a inhibé la croissance mycélienne *in vitro* avec un taux e de 34% et *in situ* par un pourcentage de 67% avec un gains de croissances de 12 cm en comparaison avec le témoins malade. Plusieurs études ont montré l'efficacité des *Bacillus spp* entant que PGPR vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes. Ses mécanismes d'action sont la production des métabolites antifongiques et antibactériens, la compétition spatiale et nutritive ainsi que l'induction de la résistance systémique chez l'hôte (**Yan et al., 2019**). Les études de **Fiddaman et Rossall (1993)** ; **Foughalia (2022)** montrent que le principale mode d'action des *Bacillus* est la production de différents types d'antibiotiques telles que bacillomycine, la kanosamine, la surfactine fengycine, la zwittermicine A et l'iturine. le genre *Bacillus* offrent un avantage par rapport aux autres bactéries en raison de leur capacité à former des endospores résistantes aux conditions défavorables du milieu (**Raaijmakers et al., 2002**) . Selon **Veerubommu(2011)**, les *Bacillus* ont produit aussi *in vitro* les sidérophores, les chitinases et les β -1,3-glucanases. Une autre étude consiste à évaluer l'efficacité individuelle et combinée de *Pseudomonas fluorescens* et de *Bacillus subtilis* pour favoriser les paramètres

Chapitre 3 : Résultats et discussion

de croissance et de rendement de la tomate et pour gérer la fusariose causée par *FOL* dans des conditions *in vitro* et en serre à montrer une efficacité dans l'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène (de 40 %) par rapport à l'application de souches individuelles des antagonistes bactériens et une réduction élevée de la maladie.

Actuellement plusieurs recherches mettent en évidence que les associations des *Pseudomonas* et *Bacillus* procurent une meilleure protection contre les maladies telluriques (**Bashan, 2005**). De plus, les plants de tomates traités avec les souches par la recombinaison des deux souches antagonistes ont montré un effet stimulant sur la hauteur des plants et ont augmenté le poids sec des plants de tomates jusqu'à 27% par rapport à le témoin non bactérisés et ont également augmenté le poids des fruits de tomate donc ces deux souches pourraient être exploitées pour une gestion durable des maladies transmises par le sol, en particulier la fusariose de la tomate (**Sundaramoorthy et Balabaskar, 2013**).

La souche F (-)2 isolée à partir de la rhizosphère de la fraise appartient à l'espèce *Agrobacterium radiobacter* à prouver une efficacité d'antagonisme *in vitro* à 41 % et *in situ* à 67% et même une promotion de la croissance des plantes. Selon **Issaas (2012)**, les *Agrobacterium radiobacter* sont parmi les bactéries qui ont une activité antagoniste contre le champignon pathogène *Fusarium*. D'autres études publiées par **Joo et al., (2009)**, ont mis en évidence que le potentiel d'*Agrobacterium radiobacter* comme un agent de biocontrôle est lié à la synthèse des hormones de croissance comme la cytokinines et la Gibérellines. Selon **Bashan (2005)**, *Agrobacterium radiobacter*, la production des antibiotiques type Agrocine 84 est le mécanisme le plus puissant contre les agents phytopathogènes.

Il est à noter que la corrélation entre le pouvoir antagoniste d'une souche bactérienne *in vitro* et son effet antagoniste *in vivo* vis-à-vis un champignon phytopathogène, n'est pas toujours évidente, la souche *Tatumella tyseos* (T3), a montré des taux d'inhibitions *in vitro* très importantes (67%), et une faible efficacité *in situ* (34 %).

Les résultats que nous avons obtenus dans notre travail ont été toujours comparés avec les témoins que nous avons utilisés notamment avec le témoin antagoniste positif du genre *Trichoderma* qui a donné des résultats très importants notamment *in situ* par l'inhibition de la croissance mycélienne de *FOL* et *in vitro* par l'inhibition de la maladie et la phytostimulation de la croissance de la tomate. Dans ce contexte *Trichoderma* sp. A fait l'objet de nombreuses études dans le cadre de la protection des plantes vis-à-vis des maladies parasitaires. Il est capable d'attaquer différents agents pathogènes par des mécanismes variés dont les principaux sont le parasitisme, l'antibiose et la compétition (**Howell, 2003 ; Vinale et al., 2006**) il a prouvé sa capacité de diminution de la croissance mycélienne *in vitro* par la confrontation avec *Fusarium* (**Kaabar H., Abbassi A., 2021**). Les résultats de **Mouria et al., (2008)** ont montré que toutes les souches du *Trichoderma* ont stimulé la croissance de la tomate, notamment les biomasses végétative et racinaire.

Conclusion générale

Conclusion générale et perspectives :

La tomate est une culture stratégique d'importance économique malheureusement elle est confrontée à plusieurs maladies microbiennes notamment fongique causée par *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici*. La lutte biologique contre cet agent du flétrissement vasculaire à l'aide de bactéries antagonistes du sol semble être une alternative prometteuse à l'emploi des fongicides et aussi ont un rôle important dans la croissance et l'amélioration des espèces. Notre travail a porté sur l'isolement des souches bactériennes à partir de différentes sols rhizosphérique afin de et mettre en évidence leur capacité *in vitro* et *in situ* dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire causée par *FOL* et aussi évaluer leur pouvoir de biostimulation de la croissance de la plante de la tomate.

Les isollements réalisés ont montré que les rhizosphères des plantes contiennent une large diversité microbienne. Les essais d'antagoniste *in vitro* a été réalisée par 9 bactéries isolées à partir de sol rhizosphérique de la tomate et de la fraise vis-à-vis de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. Les taux d'inhibition enregistrés sont variables selon la souche antagoniste. Il atteint parfois des seuils dépassant 83 %, ce qui confirme le potentiel antagoniste des microorganismes testés.

Les essais réalisés *in situ*, en interaction avec la tomate ont montré la possibilité de bioprotection de ces espèces végétales vis-à-vis des fusarioses vasculaires étudiées. Cette bioprotection s'est exprimée à travers l'inhibition des maladies, en inhibant le processus infectieux quantitativement et qualitativement. L'aspect quantitatif a été marqué par une réduction du nombre de plants atteints, après leur inoculation par les pathogènes concernés; en effet la réduction de l'infection, tous traitements confondus, a atteint des seuils dépassant les 78 % voire même une inhibition totale par certaines souches antagonistes. Concernant l'aspect qualitatif, il a été exprimé à travers la réduction de la sévérité de la maladie ou la gravité symptomatologique a été nettement atténuée comparativement aux témoins positifs.

Les essais d'identification microscopiques et biochimique des 6 souches antagonistes *in vitro* et *in situ*, ont montré que 4 souches appartiennent au genre *Pseudomonas*, 1 au *Bacillus* et 1 au l'espèce *Agrobacterium radiobacter*. Il est à noter que la septième souche qui n'a pas montré un effet antagoniste *in situ*, il a été identifié comme étant *Tatumella ptyseos*.

Il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations relatives à :

2. L'identification des souches par des caractéristiques chimiotaxonomiques et moléculaires plus approfondies.
3. L'extraction des molécules d'intérêts antifongique des bactéries antagonistes isolées (phytohormones, antibiotique, sidérophores ...) et élucider leurs mécanismes d'action dans le biocontrôle et la biostimulation de la croissance des plantes
4. l'évaluation de l'efficacité de ces agents de lutte biologique sur une grande échelle (en serre puis en champ), en interaction avec d'autres agents phytopathogènes.
5. La mise en œuvre des mécanismes antagonistes, en prospectant mieux les aspects microbiologiques (trophiques et adaptatifs dans le sol)
6. Le travail sur les possibilités de formulation et de conception des inoculum microbiens destinés à l'emploi pratique à base de bactéries antagonistes qui peuvent

Conclusion générale et perspectives

apporter un plus aux méthodes classiques, diminuer le recours systématique aux pesticides chimiques et même participer activement dans la restauration de la fertilité des sols

Références bibliographiques

Reference bibliographique

Reference bibliographique :

1. Agrios G.N., 2005. *Plant Pathology*. Elsevier Academic Press, Oxford, Uk , 922 P.
2. Bashan Y ., De-Bashan L E., 2005. Plant Growth-Promoting Soil. Center For Biological Research Of The Northwest (CIB), La Paz, Mexico , vol 1,103-115p.
3. Becker J.O.Cook,R.J., 1988.Role of sidérophores on suppression of Pathogens species production of increased- growth reponse of wheat by *Fluorescens Pseudomonas* Phytopathoogy, 78:778-782p.
4. Belkadi Z ., Koliai Y.,2016. Isolement De Bactéries Rhizosphériques A Activité antagoniste et essai Dans Le Biocontrôle De *Botrytis Cinerea* Sur La Tomate. Mémoire De De Master Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou , 115p .
5. Benaissa S., 2019. Etude De La Faculté Suppressive d'un Sol Au *Fusarium Oxysporum F.Sp Lycopersici* Race 1, Agent Causal De Fusarium Wilt Sur Tomate., Mémoire De Master Université Mohamed Khider De Biskra , 75p.
6. Benoussaid N., Benchabane M Et Thonart P., 2018. Identification De Souches De *Pseudomonas Fluorescents* et application de Leurs Lyophilisats Pour Le Biocontrôle De La Fusariose Vasculaire De La Tomate. 8(1): 753-764
7. Bensaid F., 2006. Etude De L'effet *Bseudomonas Spp .Fluorescencts* Et De L'isolat FO47 *Fusarium Oxysporum* Non Pathogènes Dans La Lutte Biologique Visà Vis De Fusariose Vasculaire, 135p.
8. Çakır Aydemir, B. , Şahin, M. , Gül, A. , Özaktan, H., Yolageldi, L., 2022. *Pseudomonas Putida* Induces Resistance To *Fusarium Oxysporum F. Sp. Radicis-*

Reference bibliographique

- Lycopersici In Tomato Plants By Activating Expression Of Defense-Related Genes . Department Of Horticulture, Faculty Of Agriculture, Ege University, 35100, Bornova- İzmir/ Türkiye ,vol 32 (2) 190 – 202.
9. Christel L .,2019. Maladies fongiques des plantes cultivées : caractériser l'inoculum pour prévoir les risques épidémiques : Page web INRA/Département Santé des plantes et environnement/Actualités 2p
 10. Claude C. Alabouvette, Y., Vonne J., 1984. Louvet. Recherches sur la resistance des sols aux maladies.IX. Dynamique des populations du *fusarium spp.* et de *fusarium oxysporum f. sp. melonis* dans un sol resistant et dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. Agronomie, 4 (8), pp.729-733.
 11. Clémentine L., 2013 Etude Des Interactions Plantes-Microbes Et Microbes-Microbes, Au Sein De La Rhizosphère, Sous Un Aspect Coûts-Bénéfices, Dans Un Contexte De Variation Environnementale THESE de doctorat De l'Université De Bourgogne.236p
 12. Conrath,U.,Pieterse,C.M.J.And Mauch-Mani, B., 2002 .Priming In Plantpathogen Interactions »,Tends Plant Sci.7,210-216.
 13. Curl E A., Truelove B., 1986. The rhizosphere, Advanced series in agriculture sciences. Springer-Verlag Berlin He in Belkadi Z ., Koliai Y.,2016. Isolement De Bactéries Rhizosphériques A Activité Antagoniste Et Essai Dans Le Biocontrôle De Botrytis Cinerea Sur La Tomate Mémoire De De Master Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou , 115p .
 14. David, H. and McNear, J. R., 2013. The rhizosphere - roots. Soil and everything in between. Nature education knowledge 4 (3): 1.

Reference bibliographique

15. De Carne, C.Ch., 2010 . Agriculture biologique, une approche scientifique. Edition : France agricole. Productions végétales et grandes cultures, 434 p. ISBN : 978-2-85557-211-6.
16. Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J. And Foster, G.D., 2012.The Top 10 Fungal Pathogens In Molecular Plant Pathology. *Molecular Plant Pathology*, 13: 414-430.
17. Djerdjouri A,2012. Activités de phytostimulation par les PGPR: cas de *Pseudomonas* et *Bacillus* en interaction avec la tomate et le haricot . Mémoire de Magister . Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach, Alger,199p.
18. Dobbelaere, S., Vanderleyden, J., et Okon, Y., 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Critical reviews in plant sciences*, 22(2), 107-149.
19. Fiddaman, P.J. et Rossall, S., 1993, The production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis*. *Journal of Applied Bacteriology*, 74: 119-126.
20. Foughalia A., 2022 .Recherche D'agents De Lutte Biologique D'origine Microbienne Contre Des Champignons Phytopathogènes Thèse De Doctorat En Sciences Université Mohamed Khider De Biskra ,133p
21. Francisco J., Fernandez-A., Maria C., Carlos G., Inmaculada V., et Jesus M., 2014. Proteomic Advances in Phytopathogenic Fungi . *Current Proteomics*, vol. 4, (2), p. 79-88.
22. Frantz R., 2001 .Champignons Des Plantes : Les Premiers Agents Pathogènes Reconnus Dans L'histoire Des Sciences vol 324(10), 0-898.

Reference bibliographique

23. Fuchs, J.G., Moëgne-Loccoz, Y., Défago, G., 1997. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato”, *Plant Dis*, 492-496
24. Gholami, A., Biyari, A., Gholipoor, M., Et Rahmani, H.A., 2012. Growth Promotion Of Maize (*Zea Mays* L.) By Plant-Growth Promoting Rhizobacteria Under Field Conditions. *Communications In Soil Science And Plant Analysis*. 43: 1263-1272
25. Govind G., Shailendra S P., Narendra K A., et al., 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Pgpr): Current And Future Prospects For Development Of Sustainable Agriculture Barkatullah University, Bhopal, India In *Journal Of Microbial & Biochemical Technology* , 8 p
26. 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*. Vol 87(1) :4–10.
27. Issaas. J 2012 Potential Of Microbial Antagonists As Biocontrol Agents Against Plant Fungal Pathogens University, Denpasar Bali, Indonesia Vol 18(2), 1-8 .
28. Joo, GJ., SM. Kang, M. Hamayun, Na. CI. Kim, DH. Shin Et IJ. Lee., 2009. *Burkholderia* Sp. KCTC 11096BP As A Newly Isolated Gibberellin Producing Bacterium. *J Microbiol*.47:167–171
29. Jordan V., 2015 . Sélection des rhizobactéries phytostimulatrices par la plante : impact sur la distribution des propriétés phytobénéfiques chez les *Pseudomonas* fluorescents. *Ecologie, Environnement*. Université Claude Bernard - Lyon I, 2015. Français p :271
30. Kaabar H ., Abbassi A .,2021 Évaluation in vivo du pouvoir antagoniste des champignons du genre *Trichoderma* contre le environnementales naturelles et non contrôlées *Fusarium culmorum* sous des conditions Mémoire de Master en Biochimie Université Frères Mentouri Constantine p ;48.
31. Katy B.,2014 . Évaluation Du Déplacement De Modèles D'endophytes Dans Le Maïs Et De Leur Effet Sur La Photosynthèse L'université Du Québec À Trois-Rivières,129p.

Reference bibliographique

32. Li Y., Lei S., Cheng Z., Jin L., Zhang T., Liang LM., Cheng L., Zhang Q., Xu X., Lan C., Lu C., Mo M., Zhang KQ., Xu J., Tian B.,2023. Microbiota And Functional Analyses Of Nitrogen-Fixing Bacteria In Root-Knot Nematode Parasitism Of Plants. *Microbiome*. 10;11(1):48.
33. Ling N., Wang T., Kuzyakov Y.,2022 Rhizosphere Bacteriome Structure And Functions. *Nat Commun*. 11;13(1):836.
34. Lugtenberg,B.J.J.,Dekkers,L.,Bloemberg,V.G.,2001.Molecular Determinants Of Rhizosphere Colonization By *Pseudomonas*, *Ann, Rev, Phytopathol*, 461-491.
35. Masayoshi K. , Kiwamu ., 2010. *Physiologie Végétale Et Cellulaire* , Volume 51, Numéro 9, Septembre 2010, 1377–1380 ,
36. Masson A. , Simonin M., ,2022 .Le microbiote des plante , son rôle dans la survie végétale à son ingénierie pour une agriculture durable .
37. Miransari, M ., Mackenzie, A.F., 2011. Development of a soil N-test for fertilizer requirements for corn (*Zea mays L.*) production in Québec. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 42: 50-65
38. Moëgne-Loccoz Y., Mavingui P., Combes C., Normand P., Steinberg C,2014.. *Microorganisms And Biotic Interactions. Environmental Microbiology: Fundamentals And Applications*. 29:395–444.
39. Mouria, B., Ouazzani-Touhami, A. & Douira, A.,2007. Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*, 88(3), 103–110.
40. Mujeebur R K., Shahana M K .,2002. Effects Of Root-Dip Treatment With Certain Phosphate Solubilizing Microorganisms On The Fusarial Wilt Of Tomato, 85(2):213.
41. Natacha M.,2009 .Réguler les maladies d'origine tellurique par une culture intermédiaire de Brassicacées : mécanismes d'action et conditions d'expression dans

Reference bibliographique

- une rotation betterave-blé. Sciences du Vivant AGROCAMPUS OUEST; Université européenne de Bretagne,267p .
42. Nirmaladevi D., Venkataramana M., Srivastava Rk., 2016. Molecular Phylogeny, Pathogenicity And Toxigenicity Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* , 17(6), 21367p.
 43. Pellegrini M., Djebaili R., Pagnanig., Sperad Et Gallo M ., 2023. Plant Growth-Promoting Bacterial Consortia Render Biological Control Of Plant Pathogens In *Sustainable Agrobiolgy* 57-74p
 44. Pierre L., 2002 .Modes D'action Des Produits Phytosanitaires Sur Les Organismes Pathogènes Des Plantes Unité De Phytopharmacie Et Médiateurs Chimiques, Inra, Route De Saint-Cyr, 78026 Versailles Cedex, France , 9–21p
 45. Pothula H ., Vipul K.,2021. Methods For Management Of *Fusarium* Wilt In Tomato Pothula Department Of Plant Pathology, School Of Agriculture, Lovely Professional University, Phagwara (Punjab), India , 10(01): 363-371.
 46. Poveda J ., Eugui D ,2022.Combined use of *Trichoderma* and beneficial bacteria (mainly *Bacillus* and *Pseudomonas*): Development of microbial synergistic bio-inoculants in sustainable agriculture. *Biological Control* Vol (176), 19 .
 47. Prieto A., Leal J.A., 1997. Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *hypocrea* species. *Carbohydrate Research* 1997, 304 (3-4) ,281p-291p.
 48. Raaijmakers, J.M., Vlami, M., And De Souza, J.T., 2002. Antibiotic Production By Bacterial Biocontrol Agents. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81(1), 537- 547.
 49. Ranasingh, N., Saurabh, A., & Nedunchezhiyan, M. 2006. Use of *Trichoderma* in disease management. *Orissa Review*, 63(2-3), 68-70.
 50. Syed Nabi RB ., Shahzad, R., Tayade, R., Shahid, M., Hussain, A., Ali, M. W., & Yun, B. W. (2021). Evaluation potential of PGPR to protect tomato against *Fusarium* wilt and promote plant growth. *PeerJ*, vol 16(9).11194.

Reference bibliographique

51. SILIWAL, Manju Et RAVICHANDRAN, B. Commensalism In Microhylid Frogs And Mygalomorph Spiders. *Zoos' Print*, 2008, Vol. 23, No 8, P.13.
52. Song, X., Zhang, X., Zamanian, K., Dippold, M. A., Kuzyakov, Y., & Razavi, B. S. 2019. Hotspot localization but not the duration of hot moments in the rhizosphere is affected by root hair length. In *Geophysical Research Abstracts Vol(21)*.
53. Srinivas, C.; Nirmala Devi, D.; Narasimha Murthy, K., et al ., 2019. *Fusarium Oxysporum F. Sp. Lycopersici* Causal Agent Of Vascular Wilt Disease Of Tomato: Biology To Diversity– A Review. *Saudi Journal Of Biological Sciences* vol 26(7):1315-1324.
54. Sundaramoorthy, S. ., Balabaskar, P, Évaluation de l'efficacité combinée de *Pseudomonas fluorescens* et de *Bacillus subtilis* dans la gestion du flétrissement de la tomate causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Annamalai University, Chidambaram - 608 002, Tamil Nadu, India , vol 12 (4), 154-161.
55. Swarnalakshmi, K., Yadav, V., Tyagi, D., Dhar, D. W., Kannepalli, A., & Kumar, S. 2020. Significance Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria In Grain Legumes: Growth Promotion And Crop Production. *Plants*, 9(11), 1596.
1. Tristan L ., Barbara P ., Philippe L ., Sylvie M ., 2021. Importance of the Rhizosphere Microbiota in Iron Biofortification of Plants. *Frontiers in Plant Science* , 3;12:744445p
2. Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A ., 2016. Role Of Plant Growth Promoting Rhizobacteria In Agricultural Sustainability—A Review. *Molecules*, 21(5), 573.
3. Verma, J.P., J. Yadav And K.N. Tiwari. ., 2010. Application Of Rhizobium Sp. Bhurc 01 And Plant Growth Promoting Rhizobacteria On Nodulation, Plant Biomass And Yields Of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.). *Int. J. Agric. Res.*, 5: 148-156.

Reference bibliographique

4. Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E., 2018. Plant Growth Promoting And Biocontrol Activity Of Streptomyces Spp. As Endophytes. International Journal Of Molecular Sciences , vol 19(4):952 .
5. Weller, D.M., 1986 . Effects Of Wheat Genotype On Root Colonization By A Take-All Suppressive Strain Of *Pseudomonas Fluorescens*”, Phytopathology, V. 76.
6. Whipps, J.M., 1987, Effect Of Media On Growth And Interactions Between A Range Of Soil-Borne Glasshouse Pathogens And Antagonistic Fungi. New Phytologist, 107: 127-142.
7. Xu, S. J., & Kim, B. S., 2014. Biocontrol of Fusarium crown and root rot and promotion of Growth of tomato by Paenibacillus strains isolated from soil. Mycobiology, 42(2), 158-166.
8. Yan Li ., Marie-Claire H ., Xun Z ., ,et al.,2019 .Surfactin And Fengycin Contribute To The Protection Of A *Bacillus Subtilis* Strain Against Grape Downy Mildew By Both Direct Effect And Defence Stimulation vol 20(8):1037-1050.
9. Yohann P ., 2018 .Comprendre L'implication Des Effecteurs Fongiques Dans L'infection D'une Plante Hôte : Caractérisation Fonctionnelle D'effecteurs De *Leptosphaeria Maculans*, Un Champignon Pathogène Du Colza Thèse De Doctorat De L'université Paris-Saclay Préparée A L'université Paris-Sud ,322p.
10. Zhang Bh ., Hong Jp ., Zhang Q ., Jin Ds ., Gao Ch., 2020 . Contrast In Soil Microbial Metabolic Functional Diversity To Fertilization And Crop Rotation Under Rhizosphere And Non-Rhizosphere In The Coal Gangue Landfill Reclamation Area Of Loess Hills. Plos 15(3):20p.

Reference bibliographique

11. Zhou Y .,Coventry DR, Gupta VVSR ., Fuentes D ., Merchant A ., Kaiser BN ., Li J., Wei Y ., Liu H ., Wang Y ., Gan S., Denton MD.,2020. The Preceding Root System Drives The Composition And Function Of The Rhizosphere Microbiome. *Genome Biol.* 6;21(1):8

Annexes

Abstract

Annexe 01 : Milieu de culture

1. Milieu Potato Dextrose Agar (PDA) :

Pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
Agar.....	20 g
Eau distillée stérile.....	1000 mL

2. Milieu Gélose nutritive (GN) :

Tryptone.....	5,0g
Extrait de viande	1,0g
Extrait de levure	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Agar agar bactériologique	12,0 g
Eau distillées stérile	1000 ml

3. Milieu PDA/GN :

Milieu déshydraté GN	14g
Milieu déshydraté PDA	19g
Eau distillées stérile	1000 ml

ANNEXE 02 : GALERIE BIOCHIMIQUE

1. Les tests de Galerie API 20E :

- 1- ONPG : test de l'enzyme β -galactosidase par hydrolyse du substrat o-nitrophényl-Bd galactopyranoside
- 2- ADH: décarboxylation de l'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase
- 3- LDC: décarboxylations de l'acide aminé lysine par la lysine décarboxylase
- 4- ODC: décarboxylations de l'acide aminé ornithine par l'ornithine décarboxylase
- 5- CIT: utilisation du citrate comme seule source de carbone
- 6- H₂S: production de sulfure d'hydrogène.
- 7- URE: test de l'enzyme uréase
- 8- TDA (Tryptophane désaminase): détection de l'enzyme tryptophane désaminase
- 9- IND: Test Indole - production d'indole à partir de tryptophane par l'enzyme tryptophanase.
- 10- VP : le test de Voges-Proskauer pour la détection de l'acétoïne (acétylméthylcarbinol) produite par fermentation du glucose par des bactéries utilisant la voie du butylène glycol
- 11- GEL: test de production de l'enzyme gélatinase qui liquéfie la gélatine
- 12- GLU: fermentation du glucose (sucre hexose)
- 13- MAN: fermentation du mannose (sucre hexose)
- 14- INO: fermentation de l'inositol (polyalcool cyclique)
- 15- SOR: fermentation du sorbitol (sucre d'alcool)
- 16- RHA: fermentation du rhamnose (sucre de méthyl pentose)
- 17- SAC: fermentation du saccharose (disaccharide)
- 18- MEL: fermentation du mélibiose (disaccharide)
- 19- AMY: fermentation de l'amygdaline (glycoside)

Abstract

2. interprétation pour la galerie API 20NE :

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolor	rose-rouge
				Zn / 5 min	
				rose	incolor
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRYPTOPHANE)	JAMES / immédiat	
				incolor vert pâle / jaune	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUCOSE)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DIHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCUline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase)	incolor	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUCOSE)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARABINOSE)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (MANNOSE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANNITOL)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-ACÉTYL-GLUCOSAMINE)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALTOSE)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GLUCONATE)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPRIQUE)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIPIQUE)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MALIQUE)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITRATE)	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PHÉNYLACÉTIQUE)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

3. Réactifs de Galerie API 20E :

1. TDA : ajout e de réactif TDA
2. IND : ajoute de réactif de James ou kovacs.
3. VP : ajoute de réactif de VP1 puis VP2

4. Réactifs de Galerie 20NE :

5. TRP : ajoute de réactif de James ou kovacs.
6. NO₃ : NIT 1 ET NIT 2