REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de biotechnologie

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Biopesticides et gestion phytosanitaire

ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES NEMATODES PAR L'APPLICATION DE PSEUDOMONAS FLUORESCENS

Par

BOUHIDEL Amel

Devant le jury composé de :

H. BELKAHLA	Professeur, USDB	Présidente
D. NEBIH	Maitre de conférences (B), USDB	Examinatrice
A. BOUTAHRAOUI	Maitre assistant (A), USDB	Examinateur
M. BENCHABANE	Professeur, USDB	Promoteur
L. KHELIFI	Professeur, ENSA-El Harrach	Examinateur

Blida, avril 2014

RESUME

ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES NEMATODES PAR L'APPLICATION PSEUDOMONAS FLUORESCENCE

Certaines bactéries de la rhizosphère (PGPR, rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes), exercent un effet bénéfique sur les plantes, en stimulant des mécanismes de défense inductibles chez l'hôte, rendant celles-ci moins susceptible vis-à-vis d'une infection ultérieure par un agent pathogène. Dans cette étude, nous avons essayé de mettre en évidence les potentialités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (PP, C7R12) vis-à-vis du nématode à galles du genre meloidogyne.

Nos essais ont été conduits en utilisant les deux souches bactériennes en interaction avec deux variétés de tomates *Solanum lycopersicum* L., la Saint Pierre et la Marmande, pour contrôler l'effet du nématode à galles *Meloidogyne* spp.

Nos résultats ont montré une efficacité très élevée de *Pseudomonas fluorescens* à induire une résistance chez la tomate, vis-à-vis du nématode à galles meloidogyne. L'application des deux rhizobacteries a engendrée des actions de biocontrole, que ce soit sur le nombre de galles ou sur la prolifération des femelles de meloidogyne. En effet, nous avons noté des taux de réduction du nombre de galles de l'ordre de 93% sur la variété Marmande pour la souche C7R12, et de 80% pour la souche PP.

Les paramètres de croissance des plants ont été évalués, le poids et la longueur des racines et de la partie aérienne ont été mesurés. En comparant les plants bactérisés et non bactérisés, nous n'avons noté aucune amélioration dans le développement de la partie racinaire ou de la partie aérienne.

Mots clés : Lutte biologique, *Pseudomonas fluorescens,* nématodes à galles, *Meloidogyne*.

ABSTRACT

BIOLOGICAL CONTROL OF NEMATODES BY PSEUDOMONAS FLUORESCENS

Some rhizosphere bacteria (PGPR, plant growth promoting rhizobacteria) have a beneficial effect on plants by stimulating inducible defense mechanisms in the host, making it less susceptible to subsequent infection by a pathogen. In this study we tried to identify antagonists potential of two strains of *Pseudomonas spp. fluorescent* (PP, C7R12) against the root-knot nematode, *Meloidogyne spp.*

Our tests were conducted using two bacterial strains interact with two varieties of tomatoes *Solanum lycopersicum* L.; Saint Pierre and Marmande, to monitor the effect of the nematode *Meloidogyne spp*.

Our results have shown a very high efficiency of *Pseudomonas spp. fluorescent* induce resistance in tomato against root-knot nematode *Meloidogyne*, the application of both rhizobactérie resulted actions biocontrol, whether the number of galls or on the proliferation of female meloidogyne. Indeed, we observed rates of reduction in the number of galls on the order of 93% on Marmande variety for C7R12 strain and 80% for PP strain.

Growth parameters of plants were evaluated, the weight and length of both roots and aerial parts were measured. Comparing treated ant not treated plants, we have noted no improvement in the development of the roots or of the aerial part.

Keywords: Biological control, *Pseudomonas fluorescens*, root-knot nematodes, *Meloidogyne*.

ملخص

اختبار المكافحة البيولوجية ضد نيماتودا باستعمال PSEUDOMENAS FLUORESCENS

بعض أنواع البكتيريا المتأقلمة في المناطق الجذرية للنباتات (بكتيريا الجذور المحفزة لنمو النباتات (PGPR) لها تأثير نفعي على النباتات من خلال تحفيز آليات الدفاع الطبيعية عند النبات لتصبح هده الأخيرة اقل حساسية في حالة تعرضها لعدوى مستقبلية من قبل عوامل حيوية ممرضة.

في هذه الدراسة حاولنا اختبار الإمكانيات المضادة للسلالتين Pseudomonas fluorescents, PP, C7R12 ضد النيماتود العقدي Meloidogyne.

أجريت التجارب باستخدام السلالتينPP, C7R12 بالتفاعل مع نوعين من الطماطم , Marmande, Pierre Saint لرصد تأثير ها على نيماتودا تعقد الجذور.

أظهرت نتائجنا فعالية عالية لتحفيز المقاومة عند الطماطم ضد النيماتودا العقدي. استعمال السلالتين من البكتيريا الجذرية النافعة اظهر مفعول ايجابي في التقليل من حدة الإصابة سواء فيما يخص عدد العقد على الجذور أو تكاثر العناصر ألأنثوية من نيماتودا. و 80% منه لاحظنا انخفاض في نسب تكوين العقد بما يساوى 93% على الصنف Marmande, بالنسبة للسلالة C7R12, و80% بالنسبة للسلالة PP.

بالنسبة لنمو النبات, أظهرت النتائج أن تطبيق البكتيريا لم يكن له تأثير فعال سواء علي الجزء الجدري أو الجزء العلوي, و كان ذلك واضحا في مؤشرات النمو (طول الجذر و وزنه, طول الساق و الوزن).

الكلمات المفتاحية: المكافحة البيولوجية, نيماتودا تعقد الجذور, Pseudomonas fluorescens, Meloidogyne

REMERCIEMENTS

Je remercie Dieu tout puissant, de m'avoir permis d'arriver à mon but. Même si c'est un travail personnel, la réalisation de ce mémoire, est le fruit des interactions d'un groupe.

L'expression de mon entière gratitude et mes plus vifs remerciements vont à mon promoteur monsieur le Professeur Benchabane Messaoud, pour avoir accepté la direction de ce travail et pour m'avoir dirigé et aidé par ses précieux conseils qui ne m'ont jamais fait défaut. Je le remercie pour ses encouragements et la confiance qu'il m'a si gentiment accordée. Je le remercie également pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail et pour son aide précieuse lors de la rédaction de ce manuscrit.

C'est avec un grand honneur que j'adresse mes vifs remerciements et mon profond respect aux membres du jury, qui ont bien voulu accepter d'honorer de leur présence et d'examiner mon travail, en dépit de leurs charges:

Madame le Professeur BELKAHLA H qui me fait l'honneur de présider le jury, Madame NEBIH D, Monsieur KHELIFI et Monsieur BOUTAHRAOUI M d'avoir accepter d'être membre de jury et d'examiner ce travail.

A tous mes enseignants et mes professeurs qui ont assuré ma formation sans oublier les personnels du département d'agronomie de Blida. Aux personnels de la bibliothèque et du laboratoire de phytobacteriologie et de zoologie pour leur disponibilité et leur compréhension en particulier AMINA et DJAMILA.

Un merci tout spécial à ma famille et mes amies en particulier mes chers parents qui m'ont donné la force et le courage de continuer sur ce chemin.

Un merci tout spécial à mon mari, Mohamed, qui m'a accompagné, pour son soutien, sa patience, ses aides, et ses encouragements tout au long de ce travail. Ainsi que tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail.

TABLE DES MATIERES

RESUME	2
ABSTRACT	3
ملخص	4
REMERCIEMENTS	5
TABLE DES MATIERES	6
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX	7
INTRODUCTION	9
CHAPITRE 1 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	12
 1.1. Biologie de base des nématodes phytoparasites 1.2. Les types de nématodes 1.3. Les nématodes à galles 1.4. Méthodes de lutte 1.5. Lutte biologique 1.6. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) en tant qu'agents de lutte biologique 1.6.1. Mécanismes d'action des PGPR en lutte biologique 	12 14 16 21 26 28
1.6.2. Bioprotection des plantes	30
CHAPITRE 2 MATERIELS ET METHODES	37
 2.1. Matériel biologique 2.2. Interaction <i>Meloidogyne</i>/rhizobactérie 2.3. Dispositif expérimental 2.4. Paramètres étudiés 2.6. Notations réalisées et quantification des attaques 	37 38 39 40 40
Chapitre 3 RESULTATS ET DISCUSSION	42
3.1. Résultats3.1.1. Evolution nématologique3.1.1. Développement sur la plante3.1.2. Impact de la bactérisation sur la phytostimulation3.2. Discussion	42 42 46 49 52
CONCLUSION	60
REFERENCES	62

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure n°1.1 : Formes des différents nématodes.	12
Figure n°1.2 : Structure générale d'un nématode. Meloidogyne sp.	13
Figure n°1.3 : Le stylet est utilisé pour l'alimentation.	13
Figure n°1.4 : Les types de nématodes.	15
Figure n°1.5 : Taille d'un meloidogyne par rapport à la tête d'un crayon.	17
Figure n°1.6 : Image en microscopie électronique à balayage d'un meloidogyne	
mâle, d'une femelles et 13 juvéniles du deuxième stade, montrant la forme du corps	
en général et les dimensions relatives des stades.	17
Figure n°1.7 : Cycle de développement de meloidogyne spp.	18
Figure n°1.8 : Microscope confocal à balayage laser des racines de blé colonisé par	
Pseudomonas fluorescens Q8r1-96 marqués avec la protéine fluorescente verte (P.	
fluorescens Q8r1-96-GFP).	29
Figure n°1.9 : Augmentation de l'absorption des éléments nutritifs par la plante en	
présence de PGPR et résistance au stress (salinité, sècheresse).	31
Figure n°1.10 : Les différentes phases du phénomène d'induction de résistance	
chez les plantes par les rhizobactéries.	35
Figure n°2.1 : Dispositif expérimental	40
Figure n°2.2 : Table d'indexation pour les nématodes à galles D'après John Bridge	
et Sam Page (1980).	41
Figure n°3.1 : Evaluation des paramètres nématologiques (nombre de galles,	
nombre de femelles)	44
Figure n°3.2: Taux de réduction du nombre de galles et du nombre de femelles	
après le traitement.	46
Figure n°3.3 : Evaluation des paramètres de croissance des plants de tomates	46
Tableau n°1.1 : Principaux produits utilisés pour les nématodes s'attaquant à la	
tomate.	25
Tableau n° 1.2 : Antibiotiques produits par Pseudomonas sp.	32
Tableau n° 1.3 : Diversité des espèces bactériennes identifiées en tant qu'agents	
inducteurs de la résistance systémique chez les plantes contre des nématodes.	34

Tableau n°3.1 : Nombre de galles et nombre de femelles par racine	42
Tableau n°3.2 : Taux de bioprotection	43
Tableau n°3.3 : Paramètres de croissance de la partie racinaire	47
Tableau n°3.4: Paramètres de croissance de la partie aérienne	48
Tableau n° 3.5 : Effet de la bacterisation sur la phytostimulation de la partie	
racinaire sur plant infesté.	49
Tableau n° 3.6. : Phytostimulation de la partie racinaire sur plant sain.	50
Tableau n° 3.7. : Phytostimulation de la partie aérienne sur plant infesté.	51
Tableau n° 3.8. : phytostimulation de la partie aérienne sur plant sain.	51

INTRODUCTION

Parce qu'ils sont difficiles ou impossibles à observer au champ, et parce que leurs symptômes sont le plus généralement non spécifiques, les dommages que les nématodes infligent aux cultures sont le plus souvent attribués à d'autres origines plus visibles. Souvent, agriculteurs et chercheurs sous-estiment leurs effets. L'importance des dégâts causés par les nématodes dépend d'un grand nombre de facteurs, comme leur nombre, la virulence de l'espèce ou de la souche, la résistance (capacité de la plante à réduire le développement de la population de nématodes) ou la tolérance (capacité de la plante à produire en dépit de l'attaque des nématodes) de la plante hôte. D'autres facteurs sont également aggravants, comme le climat, la disponibilité en eau, le type de sol, la fertilité et la présence d'autres maladies et ravageurs. Bien que nous ayons déjà quelques connaissances sur les relations nématodes-plantes et facteurs associés, beaucoup reste à apprendre. Les seuils de nuisibilité des nématodes sur différentes cultures, dans diverses régions du monde, sont le plus souvent inconnus et le danger lié à la présence des nématodes demeure approximatif [1].

Il est globalement reconnu que les nématodes phytoparasites réduisent la production agricole d'approximativement 11% [1], soit une perte de récolte de plusieurs millions de tonnes chaque année. Les nématodes à galles constituent un groupe important parmi les nématodes phytoparasites qui affectent la production agricole et réduisent sensiblement la qualité des produits. Les espèces de nématodes à galles ont une large gamme d'hôtes, provoquant des problèmes dans de nombreuses cultures annuelles et pérennes [2]. Les pertes estimées dans le bassin méditerranéen dues à *Meloidogyne arenaria* sur tomate sont de l'ordre de 30% à 40% et peuvent atteindre 75% pour *Meloidogyne incognta* [3].

En Algérie, le genre *Meloidogyne* a été signalé pour la première fois en 1928 par DELASSUS, sur les cultures maraîchères de plein champ et sous serres [4]. En plus de leur extension, les cultures maraîchères sous abri en Algérie sont à caractère intensif avec deux ou trois cultures par an. Ces deux faits facilitent le développement

des maladies et des ravageurs, pouvant réduire la production de 50 à 100 % dans certaines régions du pays. Les nématodes à galles du genre *Meloidogyne*, endoparasites sédentaires des racines, sont des ennemis redoutables pour les cultures. En effet, dans les années 90, les cultures étaient infestées par ces nématodes à plus de 60% dans la wilaya de Tipasa à l'Ouest d'Alger [4], à plus de 80% des serres du littoral algérois [5] ; et dans certaine régions comme Bordj El Kifan et Bab Ezouar, le taux d'infestation varie de 24% à 83% et peut atteindre 100% selon le type de culture [6]. L'étude de SELAMI [7], menée à travers les principales zones pratiquant les cultures sous abri plastique durant la période1990-1995 a permis de déterminer la distribution des espèces de Meloidogyne dans huit willayas (Adrar, Biskra, Ouargla, Alger, Boumerdes, Tipaza, Bejaia et Jijel) donnant ainsi un aperçu sur la distribution géographique des quatre espèces prédominantes de *Meloidogyne* (*M. javanica*, *M. Incognita*, *M. arenaria* et *M. hapla*).

Parce que le cycle de développement des nématodes à galles se déroule dans le sol, il est pratiquement impossible d'éliminer complètement les *Meloidogyne*. L'objectif principal est de maintenir la population à un niveau suffisamment bas pour qu'une culture sensible ne subisse pas trop de dommages [8].

Plusieurs moyens de lutte contre ces nématodes ont été employés. La lutte culturale, la lutte physique et la lutte chimique sont les plus communément utilisées. Cette dernière reste, pour des raisons essentiellement d'ordre économique et de facilité de mise en œuvre, la méthode la plus employée. Elle consiste à traiter le sol avec des produits fumigants ou précurseurs de fumigants, ces dernier sont considérés comme dangereux pour l'homme et l'environnement [9].

Malheureusement, ces produits présentent de sérieux inconvénients en perturbant les équilibres écologiques des milieux traités ; ils polluent l'environnement et les denrées alimentaires, la santé de l'homme et des animaux est menacée et ils favorisent l'apparition de souches résistantes [10]. Face à cette situation, d'autres alternatives doivent être employées pour lutter contre ces nématodes ; les recherches se sont orientées vers des stratégies non polluantes, parmi lesquelles la lutte biologique, cette méthode consistant en l'utilisation d'un organisme vivant ou l'un de ses dérivés comme produits de biocontrole [11].

Les micro-organismes qui peuvent croître dans la rhizosphère assurent la première ligne de défense pour les racines contre les attaques d'agents pathogènes et sont idéales pour une utilisation comme agents de lutte biologique [12]. Parmi les rhizobactéries non symbiotiques, les *Pseudomonas fluorescens* font l'objet d'une attention particulière. L'inoculation des plantes à l'aide de certaines souches de Pseudomonas spp s'accompagne en effet d'une augmentation significative du rendement de la culture. Celle-ci résulte de la stimulation de la croissance des plantes et de leur protection contre des microorganismes pathogènes [13].

La reconnaissance par la plante de certaines bactéries de la rhizosphère peut conduire à une réaction d'immunisation, lui permettant de mieux se défendre vis-àvis d'une attaque ultérieure par un organisme pathogène. Utilisé en combinaison avec d'autres approches phytosanitaires, ce phénomène d'induction de résistance systémique (ISR) par les rhizobactéries est considéré comme une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies des cultures [14].

Dans l'ensemble, les bactéries ayant un impact positif sur la plante, par le biais d'un effet protecteur ou via une stimulation de sa croissance, ont communément été regroupées sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) [15]. De nombreuses études ont démontré le potentiel de biocontrôle de ces PGPR [13, 15, 101, 93, 94, 102].

L'objectif de notre expérimentation est de mettre en évidence les propriétés de biocontrôle de deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (*Pseudomonas fluorescens* C7R12, *Pseudomonas putida* PP), inoculées à des plants de tomates infectés par le nématode à galles *meloidogyne sp.* La bibliographie fait état d'une bonne efficacité de ces *Pseudomonas* contre les nématodes à galles en conditions contrôlées.

CHAPITRE 1 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Biologie de base des nématodes phytoparasites

1.1.1 Apparence et structure

Les nématodes sont le plus souvent des vers ronds, à symétrie bilatérale en forme d'aiguille bien que d'organisation complexe; de taille très variable, les espèces évoluant dans le sol ainsi que dans les eaux douces varient de 150 microns à 10mm, les espèces marines de 83microns à 50mm; les parasites d'animaux peuvent atteindre 1m de longueur. Les nématodes phytoparasites, quant à eux, varient entre 0,25mm et 12mm. De forme effilée de la tête et à la queue, d'ou vient leurs nom (nema=fil, oides=ressemblant), ils existent avec une très grande variabilité de formes et de tailles. Chez quelques espèces, les femelles perdent leur forme effilée au fur et à mesure de leur croissance, jusqu'à devenir des femelles adultes élargies, en forme de poire, de citron, de rein ou sphériques (Fig. n°1.1). (Fig. n°1.2). [8, 9, 10].

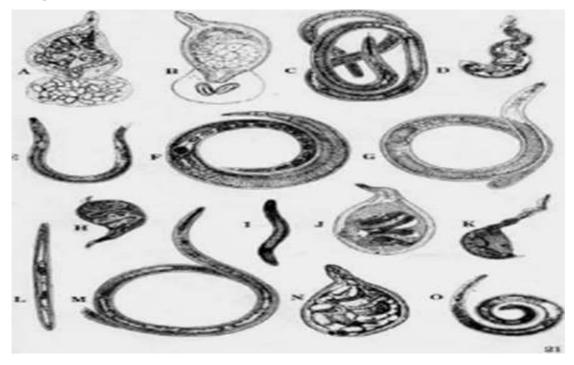


Figure n°1.1 : Formes des différents nématodes [16].

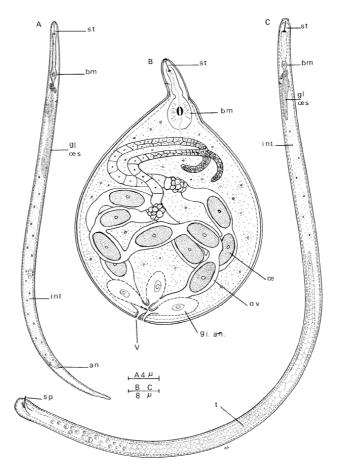


Figure n°1.2 : Structure générale d'un nématode. Meloidogyne sp. A : larve de deuxième stade (stade libre) ; R : femelle adulte ; C : mâle adulte ; an. . anus ; bm : bulbe médian de l'oesophage ; gl. an. : glandes anales ; gl. aes. : glande basale de l'oesophage : int . : intestin ; oe. : oeuf ; ov. : ovaire; sp. : spicules copulateurs ; st. : stylet ; t. : testicules ; v. : vulve [17].

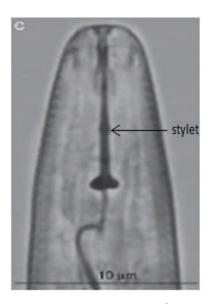


Figure n°1.3 : Le stylet est utilisé pour l'alimentation [18].

Les nématodes phytoparasites diffèrent des autres nématodes qui s'alimentent sur des bactéries et des champignons, par la présence d'une structure spécialisée, le stylet (Fig. n°1.3), qui est utilisé à la fois pour injecter des enzymes dans les cellules et les tissus végétaux des plantes et pour en extraire le contenu, d'une manière très semblable aux aphidés (pucerons) sur les plantes [1].

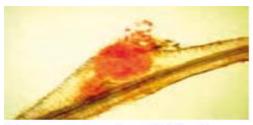
1.1.2 Cycle biologique

Le cycle de développement des nématodes est relativement simple, divisé en six stades: le stade œuf, 4 stades juvéniles et le stade adulte. La durée de chacun de ces stades et du cycle biologique complet diffère considérablement quelque jours à presque une année, selon les espèces, elle dépend de facteurs comme la température, la teneur en eau et la plante hôte. En conditions favorables sous les tropiques, de nombreuses espèces ont des cycles de développement très courts avec plusieurs générations par saison. Cela peut conduire à des développements très rapides de populations, à partir seulement d'un (autofertilisation) ou deux individus. Les nématodes se reproduisent aussi bien par voie sexuée, que par voie asexuée via différents mécanismes parthénogénétiques [1, 19]. Par ailleurs, les nématodes peuvent survivre à des conditions défavorables comme la saison sèche ou les hivers froids. Bien que l'eau soit un facteur primordial, il existe des espèces qui peuvent survivre à la sécheresse dans un état anhydrobiotique. Certain genres peuvent se développer dans des conditions d'asphyxie dans les cas où il y a trop d'eau tel Hischmanniella. Il existe des espèces qui survivent mieux à des stades particuliers ; par exemple, les espèces du genre Heterodera survivent mieux sous formes d'œufs à l'intérieur de kystes, le genre Ditylenchus au quatrième stade juvénile et le genre Anguina au second stade juvénile [1; 20].

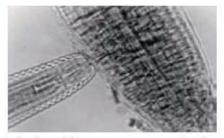
1.2. Les types de nématodes

Les nématodes phytoparasites peuvent être divisés en deux groupes ; les nématodes des parties aériennes (ils s'alimentent sur les parties aériennes des plantes) et les nématodes des parties racinaires (ils s'alimentent sur les racines et tubercules souterrains) [1]. Ils peuvent également être divisés selon le mode de parasitisme en trois groupes principaux (Fig. n° 1.4) :

- Les ectoparasites (migrateurs et sédentaires) vivant libres dans le sol, ne pénètrent jamais à l'intérieur de la racine et se servent de leur stylet pour se nourrir. Ces nématodes sont généralement responsables de dommages limités. Les nématodes endoparasites pénètrent entièrement dans la racine [21].
- Les endoparasites migrateurs détruisent beaucoup de cellules; ils restent mobiles à tous les stades de leur développement (e. g.espèces du genre *Pratylenchus*). Ils sont très polyphages et provoquent des lésions tissulaires massives [22].
- La catégorie des endoparasites sédentaires renferme les espèces responsables des dommages les plus importants au niveau économique. Au sein de cette famille, on distingue, les nématodes à kystes (*Heterodera* spp., *Globodera* spp.) qui n'attaquent qu'un nombre limité d'espèces végétales, et les nématodes à galles (*Meloidogyne* spp.) particulièrement polyphages [21].



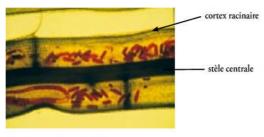
Nématode à galles (*Meloidogyne* spp.) dans une racine de courge avec une sortie extérieure des oeufs [JB].



Aulosphora s'alimentant sur une racine de riz avec un agrandissement sur la pénétration du stylet dans le tissu racinaire.

a : Nématodes endoparasites

b : Nématodes ectoparasites.



Hirschmanniella sur riz [IB].

c : Nématodes endoparasites migrateurs

Figure n°1.4 : Les types de nématodes [20].

a : Nématodes endoparasites.
 b : Nématodes ectoparasites.
 c : Nématodes endoparasites migrateurs

1.3. Les nématodes à galles

1.3.1. Généralités

Les nématodes à galles appartiennent au genre *Meloidogyne* tel que décrit en 1892 par GOLDI, le terme meloidogyne est d'origine grecque et veut dire « femelle en forme de pomme » [23]. L'une des premières observations et descriptions du nématode à galles est celle de BERKELEY en 1855, depuis les recherches concernant ce parasite n'ont jamais cessé [24].

Les *Meloidogyne* parasitent plus de 5500 espèces de plantes [25] et sont largement répandues sur le globe. Les espèces les plus couramment rencontrées en région méditerranéenne sont *M. incognita et M. arenaria* [25]. Il y a environ 40 espèces à l'heure actuelle [24]. Ils survivent dans le sol sous forme de larves du 2eme stade, logées dans la coque de l'œuf. Elles éclosent à proximité des racines, stimulées par les exsudations de celles-ci. Les larves pénètrent dans les racines et se fixent au voisinage du cylindre central, provoquant la formation de cellules géantes dont elles se nourrissent. Les mâles, souvent absents, restent filiformes et retournent au sol. Les femelles hypertrophiées atteignent la taille d'un grain de millet et, dans le cas des petites galles, excrètent à l'extérieur une masse d'œufs mucilagineuse. Dans le cas de grosses galles, les masses d'œufs peuvent rester incluses [26].

1.3.2. Morphologie

Les femelles adultes sont sédentaires à l'intérieur des racines, et renflées. Elles sont blanc nacré, en forme de poire et mesurent de 0,3 à 0,7 mm de diamètre. Les mâles sont vermiformes et non sédentaires. Ils mesurent de 1 à 2 mm de long. Les larves, également vermiformes, mesurent de 250 à 600 µm de long (Fig. n°1.5, Fig. n°1.6) [27, 28].

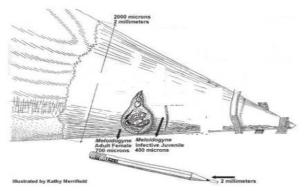


Figure n°1.5: Taille d'un meloidogyne par rapport à la tête d'un crayon [29].



Figure n°1.6: Image d'un *Meloidogyne* mâle (à gauche), d'une femelles (au centre) et 13 juvéniles du deuxième stade (à droite), montrant la forme du corps en général et les dimensions relatives des stades [24].

1.3.3. Biologie des nématodes à galles

Les nématodes à galles sont des endoparasites sédentaires dont le cycle de vie se déroule en 2 phases: une phase d'invasion racinaire au stade larvaire, et une phase d'élaboration d'un site nourricier au niveau du cylindre central de la racine (où est véhiculée la sève) permettant l'établissement du parasite (Fig. n°1.7). Ce sont les juvéniles de deuxième stade (J2) qui pénètrent dans la racine et migrent entre les cellules pour atteindre le cylindre vasculaire des plantes. Le stylet relié à l'œsophage, est utilisé pour percer les parois des cellules végétales, libérer les sécrétions de l'œsophage et absorber les nutriments [30]. Ce site nourricier induit par les sécrétions salivaires du nématode est constitué de 5 à 6 cellules hypertrophiées (cellules géantes), ce qui lui permet d'accomplir son cycle sans avoir à se déplacer

(le nématode n'aura en effet qu'à ponctionner avec son stylet buccal dans ces cellules géantes pour se nourrir) [25].

En 3 à 8 semaines (selon la température), les larves deviennent des femelles obèses (petites poires blanchâtres de diamètre inférieur à 1 mm) qui pondent à l'extérieur de la racine de 300 à 3.000 œufs protégés dans une gangue mucilagineuse. Le nématode devient sédentaire et passe par trois stades. Parfois, les mâles se développent et migrent hors de la racine. Toutefois, on pense qu'ils ne jouent aucun rôle dans la reproduction [30].

Plusieurs cycles peuvent se succéder en une année et l'infestation peut alors atteindre 100 à 200.000 larves par kg de sol, s'étalant sur des profondeurs pouvant être supérieures à 30 cm [31, 27]. Tous les œufs n'éclosent pas en même temps et peuvent résister au froid et à la sécheresse pendant plusieurs années (jusqu'à 5-6 ans). Néanmoins, lorsque les températures sont basses, l'infestation se développe lentement. C'est le cas en culture « hivernale » sous abri [31].

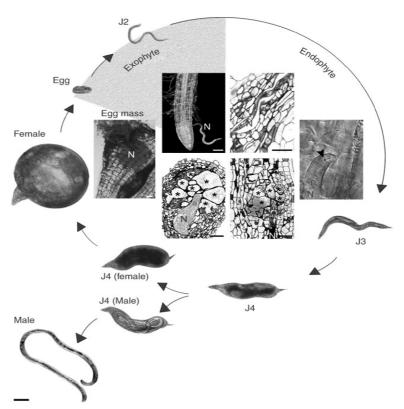


Figure n° 1.7 : Cycle de développement de *meloidogyne spp* [30].

Juvéniles de deuxième stade (J2).Cellules nourricières hypertrophiées et multinucléés (*).

Nématode (N). Le nématode devient sédentaire et passe par trois stades.

1.3.4. Symptomatologie et pathogenèse

Les symptômes sont très généraux et non spécifiques, étant semblables à ceux produits par une carence en minéraux. La croissance est réduite, voire stoppée, le résultat en est des plantes rabougries, une chute des feuilles prématurée, un flétrissement, une sénescence précoce, et une réduction dans la production de fruits ainsi que des pertes de rendement. Ces symptômes sont dû aux dégâts sur les racines et l'interférence avec la synthèse ou la translocation de l'hormone de croissance de l'hôte, y compris les cytokinines et les gibbérellines, qui entraînent une diminution de la photosynthèse. Les symptômes souterrains comprennent des galles, qui sont initiées et produites en réponse à des régulateurs de croissance, des protéines et des glycoprotéines introduites dans l'hôte par les glandes œsophagiennes subventrales de l'alimentation des J2 [32]. La production de galles est nocive pour la plante, du fait non seulement du prélèvement des produits de la photosynthèse, mais aussi par inhibition de croissance des radicelles, donc difficulté d'alimentation en eau. De plus, les galles sont plus sensibles à des champignons du sol « parasites de faiblesse» (Pythium, Fusarium, Rhizocionia spp) que les racines normales. La pourriture des galles, qu'on observe surtout après plusieurs cultures successives de plantes sensibles, peut provoquer le flétrissement des plantes [26].

1.3.5. Incidence économique

Du fait de leur gamme d'hôtes très étendue, ces bioagresseurs ont une incidence économique non négligeable, tout particulièrement dans les zones méditerranéennes de production où les conditions optimales de leur développement sont réunies [31].

Les dégâts dus aux Meloidogyne sont difficilement chiffrables, en raison des nombreuses interactions les liant à d'autres pathogènes fongiques ou bactériens (*Phytophthora, Rhizoctonia, Pythium, Fusarium, Pseudomonas, Agrobacterium,* etc.) favorisés par les lésions induites par l'entrée des nématodes. En outre, ils dépendent pour beaucoup du système de culture utilisé. Au niveau mondial, on estime les pertes à 100 milliards de dollars par an. En Europe, ils sont responsables de dégâts atteignant 10% de la production céréalière et entraînent des diminutions de récoltes de 20 à 30% dans les vergers d'agrumes méditerranéens. En cultures maraîchères,

le problème est déjà très important dans certaines exploitations menées en agriculture biologique. Du fait des restrictions d'emploi des nématicides chimiques, le problème se révèle de plus en plus préoccupant, même dans les exploitations menées en conventionnel, et peut devenir dramatique dans les années à venir [25].

Des traitements nématicides ont augmenté les rendements de coton cultivé en terrain infesté par *Meloidogyne* de 50% en Californie. En Rhodésie, les rendements de tabac sont diminués de 5 à 10 % sur terrains vierges, de 20 à 40 % sur terrain laissé en jachère après culture de tabac, et de 20 à 80% sur terrains continuellement cultivés en tabac, si on ne traite pas le sol contre les nématodes [17]. A eux seuls, les nématodes à galles du genre *Meloidogyne* seraient responsables de 5% des pertes agricoles à l'échelle mondiale [21]. Ils représentent probablement les ennemis les plus graves des cultures maraichères sous toutes les latitudes. Ils s'attaquent à la plupart des légumes avec une certaine prédilection pour les cucurbitacées, les solanacées et les composées. Les dommages qu'ils occasionnent au Etats-Unis sur fruits et légumes sont évalués à 6 milliards de dollars par an. Les cultures en serre sont les plus touchées dans la mesure où les attaques sont aggravées par les hautes températures [33].

1.3.6. Distribution de *Meloidogyne* en Algérie

Une étude menée à travers les principales zones pratiquant les cultures sous serres durant la période 1990-1995 par SELAMI et al., [7] a permis de déterminer la distribution des espèces de *Meloidogyne* dans huit wilayas, trois sont situées au sud du pays (Adrar, Biskra, Ouargla) et cinq dans les zones littorales (Alger, Boumerdes, Tipaza, Bejaia et Jijel). Ces nématodes constituent le genre le plus important parmi les nématodes phytoparasites dans le monde [7].

Les informations sur la distribution et plantes hôtes de ces nématodes sont peu nombreuses en Algérie, bien que plusieurs travaux en aient montré l'importance notamment à l'égard des cultures conduites sous abris plastiques, ainsi ; MOKABLI [4] pour l'ensemble de l'Algérie, NADJI [34] pour les zones du Sud du pays, signalent respectivement des pourcentages de 65% à 88% d'infestations par ces nématodes.

Parmi les hôtes recenses, 30 sont des plantes spontanées appartenant à 25 genres différents, quatre familles renferment les espèces les plus dominantes et les plus fréquentes et sont les plus infestées avec un indice de galles d'environ de deux.

Ce sont les amarantacées, (Amaranthus retroflexus L., A. hybridus L.), les chénopodiacées (Chenopodium hybridum L. et C. murale L.), les portulacacées (Portulaca oleracea L.), et les solanacées (Solanum nigrum Q.). Ainsi, les plantes spontanées constituent des réservoirs permanents en dehors des périodes de cultures et contribuent à prolonger et à augmenter l'infestation des parcelles. En effet les Meloidogyne sont connus pour leur polyphagie; ainsi DE GUIRAN [35] et SCOTTO LA MASSESE [36] signalent respectivement 2000 et 2400 plantes infestées par ces nématodes. Ces données confirment l'importance de ce groupe de nématodes qui constitue une menace sérieuse pour toutes les cultures maraichères sous abris plastiques. Elles confirment aussi que, en raison de la polyphagie des espèces identifiées dans les cultures algériennes, toute stratégie de lutte doit faire intervenir le contrôle de la végétation spontanée qui joue un rôle important dans la conservation et l'accroissement de l'infestation en l'absence de cultures hôtes [7].

Parmi les cultures les plus infestées, la tomate avec un indice de galle compris entre 4 et 5 dans la quasi-totalité des zones [la note 0 est attribuée aux plants présentant plus de 100 galles par système racinaire selon l'échelle (0-5) établie par TAYLOR et SASSER [37].

1.4. Méthodes de lutte

En raison de leur extrême résistance, de leur grande variabilité physiologique et de leur vie souterraine, il est très difficile de combattre les Nématodes.

1.4.1. Méthodes prophylactiques

Ces méthodes comprennent l'ensemble des précautions à prendre afin d'éviter toute source de contamination, ainsi que la dissémination du parasite ; parmi celles-ci nous citons :

- ➢ le transport des particules de sol par les chaussures, les outils aratoires et les pneus du tracteurs [17, 38]
- ➤ la destruction des débris de plants atteints et le désherbage continu afin d'éviter la multiplication de ces nématodes [8].
- ➤ la désinfection des plants à l'eau chaude tout en évitant d'endommager les végétaux [39].

L'éviction du ruissellement des eaux d'un champ infesté vers un champ non infesté [17].

Ces méthodes prophylactiques ne sont pas suffisantes à elles seules, mais sont des mesures complémentaires aux autres méthodes de lutte [35].

1.4.2. Méthodes culturales

Il est possible de limiter les dégâts occasionnés par les nématodes, en cultures maraichères, par des procédés relativement simples et peu onéreux. Ces méthodes sont anciennes, plus faciles à réaliser et moins coûteuses mais plus vulnérables [40]. Parmi les techniques utilisées, nous citons :

- La jachère : elle restaure la structure du sol et accroit le taux de matière organique ; elle est largement utilisée pour lutter contre les nématodes. Elle empêche le développement des nématodes, mais n'entraine pas leur disparition [41].
- Les labours et les façons culturales superficielles : ils sont pratiqués pendant les périodes sèches et conduisent à une destruction importante de nématodes par la dessiccation. Le labour effectué par temps sec et chaud, ramène en surface, les nématodes qui se dessèchent très rapidement (stress hydrique) [42].
- La rotation des cultures avec des plantes non- hôtes [43] : c'est une pratique difficile a prendre, vue la polyphagie des Meloidogyne.
- L'utilisation des variétés résistantes : c'est un moyen de lutte efficace, qui permet le maintien de population des nématodes au-dessous du seuil de nuisibilité et sans risque sur les autres constituants de la biocénose [44].
- Amendements organiques et minéraux : Des substances organiques et minérales comme les fumiers de poulet et de vache, les tourteaux d'oléagineux et la chitine ont fait l'objet de recherches comme nématicides ou pour éloigner les nématodes des racines de la tomate. Les tourteaux d'oléagineux semblent particulièrement efficaces contre les nématodes. Ces substances augmentent les phénols et les acides aminés dans la plante ce qui rebute les nématodes [45]. SINGH et al. [46] ont observé que le fumier de vache, le terreau de feuilles et les tourteaux de ricin, de moutarde et de nim diminuent les populations de *M. incognita* sur la tomate tout en augmentant la

croissance des plants et en diminuant les problèmes de champignons parasitaires. La chitine, contenue dans les carapaces de crustacées et d'insectes, est un très bon nématicide à raison de 0.05 à 0.03 % par poids de sol mais peut être phytotoxique pour la tomate. L'ajout d'acide phosphorique réduit la phytotoxicité de la chitine [47]. Le compost de champignon usagé a été le plus efficace de six amendements organiques pour le contrôle de *M. incognita* selon VERMA [48]. L'ajout de cendres de charbon a pu réduire les populations de *M. incognita* de la tomate dans une expérience en pot mais les quantités requises étaient importantes (jusqu'à 30 % pour une efficacité maximale) [49].

De nombreuses recherches concernant la résistance variétale aux nématodes sont effectuées sur cultures maraichères et fruitières [44, 50]. L'utilisation des variétés résistantes est un moyen efficace, car elle permet de réduire les populations dans le sol et assure une protection pour les cultures ultérieures, cependant, il existe certains facteurs qui peuvent limiter leur utilisation, tels que les températures supérieures a 30°C qui brisent la résistance de la plante [51, 52, 53]; l'utilisation des variétés résistantes, provoque également l'apparition de souches plus agressives [54, 44].

Les pratiques culturales (utilisation de variétés résistantes, rotations, longues jachères, déforestation pour mise en culture de terres neuves, etc.) et les moyens physiques (solarisation, désinfection à la vapeur, inondation des sols infestés) ne peuvent être employés que dans des cas exceptionnels. Aussi, bien qu'une lutte intégrant ces différentes méthodes non-chimiques soit très séduisante, la lutte chimique reste, pour des raisons essentiellement d'ordre économique et de facilité de mise en œuvre, la méthode la plus employée. Elle consiste, soit à désinfecter les sols chaque année avant plantation avec des produits fumigants ou précurseurs de fumigants (Tableau n°1.1), dangereux pour l'homme et l'environnement, soit à traiter sur culture en place avec des produits systémiques, véhiculés par la sève (carbamates et organophosphorés) pour des productions non comestibles ou à récolte tardive [55].

1.4.3. Méthodes chimiques

La lutte chimique est traditionnellement le moyen de lutte le plus répandu contre les nématodes. Cette méthode est basée sur l'utilisation des traitements du sol avec des fumigants (ou des précurseurs de fumigants) ou des substances endothérapiques [8].

Les fumigants sont généralement utilisés avant la mise en place de la culture ; ce sont des produits qui se volatilisent dans le sol et agissent par contact en tuant les nématodes. En effet, ces derniers permettent de protéger la culture dés la reprise des attaques précoces [44].

Les substances endothérapiques appartiennent aux organophosphorés (Thionazin, Ehtoprohos, Cadusafos, Nemacur, etc....) et aux carbamates (Aldicarbe, Carbofuran, Oxamyl, etc....). Ces substances agissent par inhibition de la pénétration des nématodes à l'intérieur des plantes hôtes, et sur le taux d'éclosion, en réduisant l'activité des larves infestantes (L2) dans le sol, et interviennent essentiellement par répulsion et éventuellement par intoxication dans la plante [56]. L'Ethoprophos à 10% agit essentiellement sur les larves infestantes des nématodes au niveau des racines [57]. L'efficacité de ces traitements dépend essentiellement de certains facteurs à savoir : la préparation du sol, l'humidité, la température du sol et le PH.

Concernant l'efficacité de ces produits ; citons les travaux de STEPHAN, [58, 59] qui rapporte que l'application des produit comme le Miral (25g/m²) et le Carbofuran (15g/m²) permet la diminution des densités de Meloidogyne javanica et une augmentation de la production respectivement de 59% et 57% comparé au témoin. STEPHAN et al, (1998) montrent que les nématicides l'Ethprophos et le Cadusafos appliqués aux doses de 6ml/m² et 1ml/m² respectivement sur tomate sous abri-serre et sur aubergine en plein champ ont permis de diminuer les populations de Meloidogyne et d'augmenter les rendements.

Le marché global dédié aux produits phytosanitaires est estimé à 26.7 milliards de dollars US en 2005. Les pesticides synthétiques dominent ce marché [60].

Cette méthode présente des avantages mais aussi des limites ; la désinfection chimique est une opération onéreuse, non seulement du fait du prix élevé des produits utilisés, mais aussi leur emploi nécessite un appareillage adéquat pour leur application [61]. L'élimination des nématodes n'est jamais totale, ainsi les

populations restantes peuvent se développer d'avantage et atteindre un taux supérieur par rapport à l'inoculum initial [43, 8, 62].

L'emploi des nématicides chimiques (Tableau n°1.1) est de plus en plus limité car, ils posent des problèmes de toxicité sur l'environnement, et chez l'homme. Ils laissent des résidus toxiques pour le consommateur et leur spectre d'action et très large; ils perturbent les équilibres écologiques des milieux traités. Certains pays comme l'Allemagne, les Pays-Bas et la Suisse ont interdit leur emploi [63]. Devant tous ces inconvénients, d'autres recherches s'orientent vers les méthodes de lutte qui connaissent des regains d'intérêt à savoir la lutte biologique et physique.

Tableau n°1.1: Principaux produits utilisés pour les nématodes s'attaquant à la tomate [63].

Matières actives	Spectre d'activité	Renseignement divers
Fumigants	Produit souvent assez	Plus efficaces que les non
- Chloropicrine	polyvalents (fongicides,	fumigants, ces produits sont
- 1,3-dichloropropéne	insecticides et herbicides en plus	surtout employés en
(1,3-D)	d'être nématicides). Ils sont	pépinière. Le 1,3-D a une
- Dazomet	généralement plus efficaces	faible action sur les
- Diméthyle disulfide	dans les sols bien drainés et	mauvaises herbes. Un
(DMDS)	poreux. ils agissent directement	certain nombre d'entre eux
- Métam-sodium	sur les nématodes.	sont aussi utilisés en plein
- Isothiocyanate de		champ.
méthyle		
Non fumigants	Produit plus spécifiques des	Moins coûteux, ils sont
- Ethoprophos	nématodes et des insectes	surtout usités en plein
- Aldicarbe	telluriques. Ils sont actifs, soit	champ. Leur efficacité est
- Carbofuran	directement sur les nématodes	plus faible que les produits
- Fénamiphos	présents dans le sol, soit par	précédents. Ils sont soit
- Oxamyl	l'intermédiaire de la plante	apportés en préplantation,
	parasitée. Souvent, ils inhibent	soit pulvérisés dans les
	momentanément le	semaines qui suivent (cas
	développement des nématodes	de l'oxomyl).
	sans les tuer	

1.5. Lutte biologique

La lutte Biologique contre les parasites telluriques des plantes repose sur l'utilisation de nombreux antagonismes et auxiliaires existants entre les êtres vivants. Elle consiste à combattre les maladies des cultures, en introduisant dans le milieu où ils vivent, un (ou plusieurs) de leurs ennemis, appelé «antagoniste». Actuellement, de nombreuses préparations commerciales à base de virus, de champignons, de bactéries et de nématodes sont disponibles sur le marché. Bien qu'encore très marginale (moins de 5% des interventions phytosanitaires), la lutte biologique se développe et remplace de plus en plus la lutte chimique, particulièrement en agriculture biologique [26].

1.5.1. Les champignons nématophages

1.5.1.1. Les champignons prédateurs

Cette méthode de lutte repose sur un principe simple : l'existence dans le sol de champignons qui ont la capacité de prendre au piège les nématodes et de s'en nourrir [55]. De nombreux champignons prédateurs de nématodes tels que les *Arthrobotrys* ont fait l'objet d'essais comme alternative à la lutte chimique contre les nématodes à galles [66]. En Algérie cet agent biologique a été isolé à partir de certains sols maraîchers, et son efficacité a été rapportée par KACIMI [67]; HAMMACHE [68] et YEZLI [69].

1.5.1.2. Les champignons ovicides

Ces champignons ont la propriété de tuer les œufs des Nématodes. A l'intérieur de ces derniers, on peut trouver de nombreuses espèces de champignons telles que *Paecilomyces lilacinus* et *Verticillium chlamydosporium*. *P. lilacinus* est utilisé sur un grand nombre de cultures pour lutter contre de nombreux nématodes [65; 70]. Différentes souches de *V. chlamydosporium* ont été collectées et sélectionnées en Angleterre, non seulement pour leur aptitude à former de nombreuses chlamydospores, mais aussi pour leur aptitude à s'installer dans tous les sols et dans toutes les conditions et aussi pour leur résistance à la pression de

sélection exercée par les autres micro-organismes du sol. La plus performante d'entre elles (souche CMI : CC334168) a fait l'objet d'un dépôt de brevet pour son utilisation comme agent de lutte biologique contre les *Meloidogyne* [55]. Ces champignons ne sont efficaces que dans des conditions très précises et prennent un certain temps avant d'agir ce qui implique l'introduction des champignons jusqu'à deux mois avant la culture. La lutte biologique n'est donc pas à utiliser en cas d'urgence [71].

1.5.2. Les plantes nématicides

La production de substances nématicides par des végétaux supérieurs est connue depuis très longtemps. De nombreuses enquêtes ethnobotaniques démontrent l'efficacité de certains végétaux introduits traditionnellement (par des ethnies africaines ou des populations d'Asie et d'Amérique du Sud) dans les assolements, en cultures intercalaires ou sous forme de broyats, pour lutter de façon empirique contre des Nématodes phytoparasites. A l'heure actuelle, plus de 200 espèces de plantes, appartenant à 80 familles différentes, ont prouvé leurs propriétés nématicides. L'utilisation de *Tagetes spp* est devenue une pratique très courante au Maroc pour lutter contre les nématodes à galles (*Meloidogyne spp*) des cultures maraichères [65].

Aux Philippines, l'utilisation d'extraits de racines d'œillets d'Inde (*Tagetes erecta*), d'ipil-ipil (*Leucaena leucocephala*), de chiendent (*Cynodon dactylon*) et de makahiya (*Mimosa pudica*) s'est révélée particulièrement efficace pour inhiber l'éclosion des œufs et limiter l'infestation de *M. incognita*. L'efficacité de ces extraits de racines est comparable à celle des nématicides chimiques. De même, les extraits de racines de Kaatoanbangkal (*Anthocephalus chinensis*) et de nénuphars (*Eichornia crassipes*), ainsi que des extraits de bulbes d'ail (*Allium sativa*) et d'oignon (*Allium alia*) se sont révélés efficaces contre *M .incognita*. La caractérisation des principes actifs nématicides révèle des composés tels que l'aldéhyde phénolique chez *A .chinensis*, l'acide carboxylique chez *E. crassipens* [72].

1.5.3. Les bactéries antagonistes

Il existe une large gamme de bacteries parasite des nématodes, en raison de leur étroite association dans la rhizosphére. Des bactéries comme Pasteuria penetrans agissent sur les nématodes par leur comportement parasitaire, en sécrétant des métabolites toxiques, leurs efficacité a été signalé sur Meloidogyne [73, 74, 75, 55]. La bactérie Streptomyces avermitilis produit l'avermectine qui est une toxine très efficace contre toute sorte de nématodes. GARABEDIAN et VAN GUNDY [76] ont obtenu un contrôle aussi bon qu'avec les nématicides chimiques contre Meloidogyne incognita en appliquant l'avermectine à travers un système d'irrigation goutte-à-goutte. Un grand nombre de rhizobactérie réduisent les populations de nématodes en colonisant la rhizosphére appartenant aux genres; Agrobacterium, Alcaligenes, Bacillus, Clostridium, Desulfovibrio, Pseudomonas, Serratia et Streptomyces [77]. Parmi ces derniers les genres Bacillus et Pseudomonas ont données des résultats appréciables contre les nématodes à galles [78]. En Algérie, ZOUIOUECHE [79], rapporte que le pourcentage de mortalité des larves de Meloidogyne est de 96% en utilisant Bacillus thurengiensis comme agent de lutte.

1.6. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) en tant qu'agents de lutte biologique

Les PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) sont des bactéries de la rhizosphére capable de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ils représentent 2 à 5% de l'ensemble des rhizobacteris, le terme PGPR a été créé en 1978 par KLOEPPER et SCHROTH [80, 81]. L'utilisation des PGPR offre de nouvelles perspectives pour remplacer les produits phytosanitaires, fertilisant, pesticides et suppléments comme étant une composante dans un système de gestion intégrée aidera à diminuer le taux de produits pesticides [82].

Les PGPR sont connues pour avoir plusieurs mécanismes d'actions ; directes ou indirectes. Plusieurs modifications chimiques dans le sol sont associées à des

PGPR. Toute une panoplie de métabolites secrétée dans la rhizosphère qui est une aire d'intense activité, et d'importantes interactions [83].

1.6.1. Mécanismes d'action des PGPR en lutte biologique

La condition préalable pour toute lutte biologique efficace est la réussite d'une colonisation et l'établissement des microorganismes d'intérêt dans la rhizosphère et dans la zone des racines (Fig. n°1.8) et ceci quel que soit le mécanisme impliqué [84].

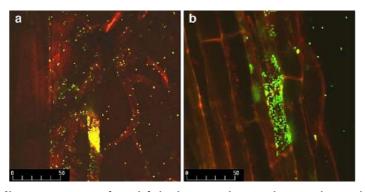


Figure n°1.8: Microscope confocal à balayage laser des racines de blé colonisés par Pseudomonas fluorescens Q8r1-96 marqués avec la protéine fluorescente verte (P. fluorescens Q8r1-96-GFP). Microcolonies de P. fluorescens Q8r1-96-GFP sur les poils absorbants matures (a) et le long des jonctions des cellules épidermiques (b) [84].

Une fois installé dans la rhizosphère, le microorganisme d'intérêt peut intervenir favorablement, cet effet bénéfique peut être direct, ou indirect. La promotion directe de la croissance est le résultat du pouvoir d'acquisition des nutriments en privant les organismes potentiellement infectieux des ressources nutritives (substrats carbonés, oligoéléments essentiels) et spatiales nécessaires à son développement ou de la stimulation des hormones de la plante. Il peut également s'agir d'antagonisme, c'est-à-dire d'une inhibition directe de la croissance des pathogènes par la production d'antibiotiques et/ou d'enzymes lytiques antifongiques. Cette antibiose est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important employé par les agents de biocontrôle pour limiter l'invasion des microbes pathogène dans les tissus végétaux. D'autres mécanismes indirects, mais le plus souvent liés à la croissance des plantes, sont impliqués dans la

réduction des pathogènes des plantes. Certaines souches de PGPR peuvent protéger les plantes d'une façon indirecte par la stimulation de mécanismes de défense inductibles dans la plante, ce qui peut rendre l'hôte beaucoup plus résistant à l'agression future par des agents pathogènes. Ce phénomène a été nommé ISR «résistance systémique induite» [84].

1.6.2. Bioprotection des plantes

Les modes d'action des agents microbiens dans le biocontrôle peuvent varier pour un micro-organisme donné, en fonction du pathosystème sur lequel ils sont appliqués. De nombreux exemples décrivant un ou plusieurs mécanismes responsables de la réduction de la maladie sont disponibles.

1.6.2.1. Modification des équilibres microbiens et Compétition

Il a été observé qu'une biomasse microbienne élevée et active, au niveau de la rhizosphère pouvait avoir un effet bénéfique sur les plantes, en limitant les possibilités de rencontre avec des agents pathogène, en effet, l'utilisation de fongicides systémiques, peut favoriser l'expression de pathogènes bactériens ou fongiques. À ce mécanisme s'ajoutent des dispositifs de résistance plus particuliers liés à l'activité antagoniste de populations microbiennes spécifiques. En raison de la sélection progressive d'une microflore antagoniste du champignon pathogène (Gaeumannomyces graminis var. tritici), en particulier de bactéries rhizosphériques du genre Pseudomonas il a été noté une régression au cours du temps lors d'une monoculture de blé du piétin échaudage [85].

1.6.2.2. Modification du métabolisme et de la physiologie de la plante et production microbienne de substances de croissance

De nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après bactérisation [13]. Certaines souches de PGPR de genre Pseudomonas ont été décrites pour leur effet direct positif sur la croissance des plantes et l'augmentation du rendement [86]. Ils favorisent la croissance des plantes hôtes par divers mécanismes, production de siderophores, production de

régulateurs de croissance et augmentation de l'absorption en phosphate par la plante (Fig. n°1.9) [87]. Les activités enzymatiques des *Pseudomonas* rhizosphériques peuvent contribuer, particulièrement, en l'absence de formes assimilables de phosphores dans le sol, dans l'approvisionnement de la plante en cet élément [88, 89]. Certaines souches de *Pseudomonas* spp fluorescents stimulent également la nodulation des légumineuses, elles provoquent une augmentation de la masse de nodosités plutôt que de leur nombre [90].

L'utilisation de bactéries pour lutter contre les maladies d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques. Les modèles biologiques utilisés mettent en jeu différentes souches de *Pseudomonas* et différentes maladies. Les problèmes pathologiques les plus étudiés sont : les fontes de semis, les fusarioses, le piétin échaudage et les pourritures racinaires [13].

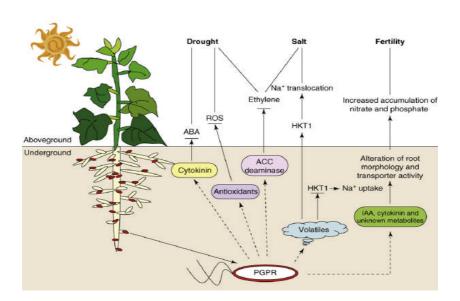


Figure n°1.9: Augmentation de l'absorption des éléments nutritifs par la plante en présence de PGPR et résistance au stress (salinité, sècheresse). ABA, abscisic acid; ACC, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate; HKT1, high-affinity K+ transporter 1; IAA, indole aceti cacid; PGPR, plant-growth-promoting rhizobacteria; ROS, reactive oxygen species [91].

1.6.2.3. Antibiose

L'antibiose est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte. Il consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène

via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Tableau n°1.2) [92].

Tableau n° 1.2: Antibiotiques produits par Pseudomonas sp [93].

PGPR	Antibiotiques	Référence
	Antibiotiques antifongique	
	phenazines	Burkhead et al. (1994)
	Phenazine-l-carboxylique acide	Pierson et pierson (1996)
	Phenazine-I-carboxylique	Chin-A-Woeng et al. (1998)
	pyrrolnitrin	Thomashow et Weller (1998)
	pyluteorin	Howell et Stipanovic(1980)
	2,4 diacetylphloroglucinol Rhamnolipids	Shanahan et al. (1992b)
	Oomycin A	Kim et al. (2000)
	Cepaciamide A	Howie et Suslow (1991)
	Ecomycins	Jiao et al. (1996)
	DDR	Miller et al. (1998)
Pseudomonas sp	Viscosinamide	Hokeberg et al. (1998)
	Viscosiliallilide	Nielson et al. (1999)
	Butyrolactones	Thran et al. (2000)
	N-butylbenzene	Gamard et al. (1997)
	Sulphonamide	Kim et al. (2000)
	Pyocyanin	Baron et Rowe (19981)
	Antibiotiques antibactériens	
	Pseudomonic acid	Fuller et al. (1971)
	Azomycin	Shoji et al. (1989)
	Antibiotiques antitumorale	
	FR901463	Nakajima et al. (1996)
	cepafungins	Shoji et al. (1990)
	Antibiotique antibactérien	
	karalicin	Lampis et al. (1996)

Des progrès énormes ont étais fait durant les deux dernières décennies, en matière de recherches moléculaires chez Pseudomonas, il a été démontré que des molécules antifongiques et antibiotiques comme le HCN, la viscosamide, la pyoluteorine, le 2,4diacetylphloroglucinol, la pyrrolnitrine, les phenazines et les butyrolactones sont impliquées dans les mécanismes de biocontrôle [93].

Plusieurs facteurs abiotiques (l'oxygène, la température, des sources spécifiques de carbone et d'azote, et des micro-éléments), biotiques (la plante hôte, le pathogène, la microflore indigène, et la densité de cellules de la souche productrice) et physiologiques tels que le quorum sensing ont été identifiés pour influencer la production des antibiotiques par les agents bactériens de biocontrôle [92]. La production de DAPG chez *Pseudomonas fluorescens* peut être stimulée par la présence de glucose ou de saccharose, ainsi que celle du zinc sulfate et de l'ammonium molybdate, par contre, le phosphate inorganique a un effet inhibiteur. D'autres études ont démontré que des amendements de zinc ou de combinaison zinc et glycérol ont augmenté l'efficacité de *Pseudomonas fluorescens* contre le *Meloidogyne* [94].

1.6.2.4. Induction de résistance de la plante

La résistance systémique induite (ISR) des plantes contre les pathogènes est un phénomène répandu qui a été profondément étudiée en ce qui concerne les voies de signalisation sous-jacentes ainsi que de son utilisation potentielle dans la protection des plantes. La résistance induite est une amélioration de capacités défensives développées par une plante en réaction à des stimuli spécifiques biotiques ou chimiques [13].

Introduit en 1961 par ROSS, ce concept avait initialement pour fondement l'observation qu'une plante pré-inoculée par un microorganisme non pathogène développait une résistance accrue à l'égard d'agents pathogènes. Il faudra pourtant attendre les années 80, pour que les mécanismes cellulaires, biochimiques et moléculaires impliqués dans l'expression de la résistance chez les plantes, soient soumis à une investigation détaillée grâce à l'apport des technologies modernes. Les travaux de recherche dans ce domaine vont progressivement démontrer la

complexité des réactions de défense chez les plantes et prouver la remarquable diversité de la stratégie défensive.

Afin de cerner le processus associé à l'induction de résistance chez les plantes, l'effet d'éliciteurs biologiques, microbiens et chimiques sur la réponse cellulaire des plantes envers une attaque pathogène a fait l'objet d'investigations, et les mécanismes impliqués dans le phénomène ont été étudiés. Dans tous les cas, il a été montré qu'une corrélation existait entre la réponse globale de la plante et des changements dans la biochimie et la physiologie des cellules, lesquels étaient accompagnés de modifications structurales incluant la formation d'appositions pariétales riches en callose et l'infiltration de composés phénoliques aux sites de pénétration potentielle par l'agent pathogène [95]. Les résultats d'application pratique de la résistance induite en tant que méthode de lutte contre les maladies des plantes obtenus à partir de quelques expériences menées en plein champ et en serre sont encourageants et indiquent que cette approche a le potentiel de devenir une stratégie de lutte efficace et durable contre toute une gamme d'agents pathogènes [95].

Tableau n° 1.3: Diversité des espèces bactériennes identifiées en tant qu'agents inducteurs de la résistance systémique chez les plantes contre des nématodes. [96].

Espèces	Plante hôte/pathogène(s)	
1-gram négatives		
Rhizobium elti	pomme de terre/nématode	
Agrobact radiobacter	pomme de terre/nématode	
2-gram-positives		
Bacillus sphaericus	pomme de terre/nématode	
Bacillus cereus	poivre/ nématode	

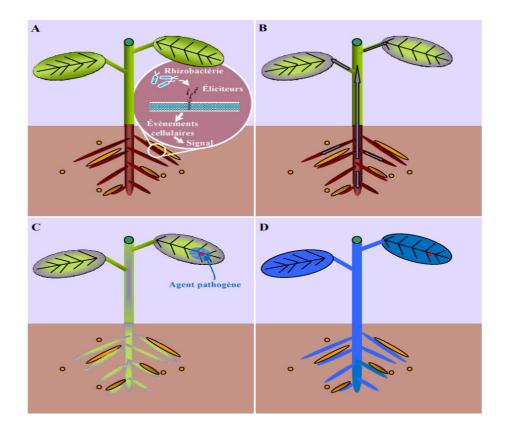


Figure n°1.10: Les différentes phases du phénomène d'induction de résistance chez les plantes par les rhizobactéries. La perception de la bactérie par l'hôte végétal via un(des) éliciteur(s) moléculaire(s) est la première étape (A). Suite à ce dialogue moléculaire, il y a émission d'un signal à travers toute la plante menant à un état « induit » systémique alors que la bactérie inductrice ne migre pas (B). Cet état induit n'est que peu perceptible d'un point de vue moléculaire mais permet à la plante de réagir rapidement et de limiter une infection ultérieure d'abord localement autour du site d'attaque (C). Il s'en suit une réaction systémique menant à un renforcement de tous les organes qui permet une certaine résistance vis-à-vis d'une agression future (D) [96].

La protection conférée via l'ISR est peu spécifique concernant la nature de l'agent infectieux contre lequel elle permet de lutter (Tableau n°1.3). Etant donné la systémicité du phénomène, l'état induit s'exprime dans tous les organes de la plante, des racines aux feuilles et aux fruits. L'ISR est donc efficace non seulement contre les pathogènes du sol comme *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* ou *Pythium aphanidermatum* mais également contre les dommages causés par les agents pathogènes qui ciblent les parties aériennes. Parmi ces derniers, on peut citer les

champignons Alternaria brassicicola, Botrytis cinerea, Colletotrichum lagenarium, les bactéries Pseudomonas syringae, Erwinia amylovora, Xanthomonas campestris et certains virus tel que les virus de la mosaïque du tabac ou du concombre ou le virus de la marbrure de la tomate. L'efficacité de l'ISR induite par les rhizobactéries peut même s'étendre au contrôle des infections causées par plusieurs types de nématodes comme Globodera pallida provoquant des kystes chez la pomme de terre, Heterodera schachtii chez la betterave sucrière ou Meloidogyne incognita actifs sur le coton et la tomate.

Selon certaines études, l'induction de résistance systémique peut également être efficace pour la gestion d'infections par certains insectes dans plusieurs types de récoltes. D'un intérêt crucial pour une perspective appliquée, il apparaît également qu'une bactérie donnée peut déclencher chez une même plante, une résistance contre divers microbes pathogènes (Tableau n°1.3).

Parce qu'elle permet de lutter contre une large gamme d'agents pathogènes, parce, elle ne fait appel qu'au patrimoine génétique naturel de l'hôte végétal, sans l'introduction de gènes de résistance étrangers, Parce qu'elle n'est pas propice au développement de résistance chez les pathogènes (multiplicité et variété des mécanismes de défense induits), et que l'augmentation du niveau de résistance s'établit de manière durable, l'exploitation de l'ISR constitue une des voies les plus prometteuses de traitement biologique des cultures en vue de leur protection [96].

CHAPITRE 2 MATERIELS ET METHODES

L'expérimentation a été réalisée durant l'année 2011 au niveau du laboratoire de zoologie et de la serre en verre de cultures maraichères du département des sciences agronomiques de l'université de Blida 1.

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Nématode

Des racines de tomate, de courgette et d'aubergine présentant des symptômes caractéristiques des nématodes à galles sont prélevées des parcelles de production maraîchère infestées par *Meloidogyne sp.* (Serre privée ; commune de KOURSOU wilaya de BOUMERDAS). Les racines sont lavées sous un courant d'eau faible.

2.1.2. Souches bactériennes

Deux souches bactériennes de PGPR d'une espèce fluorescente du genre Pseudomonas ont été utilisées. Les souches de pseudomonas ont été fournies par le laboratoire de phytopathologie du département des sciences agronomiques, université de Blida1.

- -Pseudomonas fluorescens (C7R12) la souche C7R12 de Pseudomonas fluorescens est un mutant spontané de la souche C7. La souche C7R12 est connue pour ses compétences rhizosphérique et ses aptitudes de biocontrôle [97].
- Pseudomonas putida (PP) a été rapporté à la fois comme PGPR et comme souche de biocontrôle des champignons phytopathogènes et des nématodes *Meloidogyne* [98, 99]

2.1.3. Plante hôte

Deux variétés de tomate *Solanum lycopersicum* L.ont été étudiées ; la Saint Pierre et la Marmande. Les semences de tomates nous en été fournies par la station expérimentale au niveau du département d'agronomie. Les graines de tomates ont été désinfectées par trempage dans l'eau javellisée à 6° (20 minutes), suivi de trois rinçages successifs dans l'eau distillée stériles (3 minutes) et séchées sur papier filtre stérile. Après désinfection, nous avons procédé au semis. Les plantules ont été repiquées trois semaines après germination, dans des pots contenants un sol composé de 1/3 terre, 1/3 sable et 1/3 terreaux, préalablement autoclavé (140C°, 40min).

2.2. Interaction *Meloidogyne*/rhizobactérie

2.2.1. Eclosion contrôlée des œufs de *Meloidogyne* spp.

Les masses d'œufs de *Meloidogyne sp.* sont prélevées manuellement à l'aide de pinces et d'une petite seringue hypodermique sur les galles racinaires et sont mise à éclore dans des tamis placés dans une boîte de Pétri remplie d'eau. L'ensemble est placé à l'étuve à 28°C à l'obscurité. Après 24 à 48 heures d'incubation, les juvéniles sont récupérées et dénombrées.

2.2.2 Infestation des plantes hôtes par *Meloidogyne sp.*

Les juvéniles de second stade (J2) sont inoculées aux plants de tomate à raison de 100 individus par pot une semaine après la bactérisation. Le sol autour des racines a été soigneusement écarté, sans endommager les racines. La suspension d'inoculum a été versée ou placée autour des racines et le sol remplacé. Quatre semaines après l'inoculation, les plants de tomate sont prélevés et le système racinaire de chaque plant est rincé à l'eau courante. Les galles racinaires sont énumérées et leur nombre est rapporté à un indice de galles avec une échelle allant de 0 à 10 [68].

2.2.3. Bactérisation

Les souches utilisées ont été repiquées sur milieu gélosé King B., et incubées à 30°C pendant 24 heures. La concentration est déterminée, après dilution appropriée, par lecture de densité optique, à raison de 10°9 ufc. Les suspensions d'inoculum ont été placées deux mois après le semis à raison de 10 ml par plant. Dans les traitements de contrôle, où aucun inoculum bactérien n'a été donné, de l'eau a été ajoutée en volume égale à la suspension de l'inoculum.

2.3. Dispositif expérimental

L'essai a comparé les modalités suivantes :

Avec nématodes	Sans nématodes
T1=variété St Pierre+nématode	T7=variété St Pierre
T2=variété Marmande+nématode	T8=variété Marmande
T3=variété St	T9=variété St Pierre+C7R12
Pierre+nématode+C7R12	13-vallete of 1 lefte+0/1(12
T4=variété St Pierre+nématode+PP	T10=variété St Pierre+PP
T5=variété	T11=variété Marmande+C7R12
Marmande+nématode+C7R12	111-variete Marmande+O/1(12
T6=variété Marmande+nématode+PP	T12=variété Marmande+PP

v1 : variété Saint Pierre ; v2 : variété Marmande ; b1 : Pseudomonas fluorescent souche C7R12 ; b2 : Pseudomonas Fluorescent PP ; n : nématodes a galles Meloidogyne sp

L'essai a été mis en place suivant un dispositif en blocs aléatoires complets, avec deux répétitions. Dans chaque bloc figurent les 12 traitements étudiés. Chaque traitement est représenté par dix plants par bloc, soit vingt plants au total pour chaque traitement (Figure °2.2). Les pots sont répartis aléatoirement dans la serre.

2.4. Paramètres étudiés

Juste après le prélèvement des plants de tomate, le poids frais et la longueur des racines, ainsi que le poids frais de la partie épigée des plants (tiges et feuilles), sont mesurés.



Figure n°2.1 : Dispositif expérimental

2.6. Notations réalisées et quantification des attaques

La détermination de la gravité d'une attaque de *Meloidogyne* se base sur l'observation du système racinaire et la détermination d'un « indice de galle » pour chaque plant échantillonné. D'après BRIDGE et PAGE (1980), cette méthode de notation comprend 11 indices (de 0 à 10) caractérisés par le pourcentage de racines atteintes par plante, mais aussi par la taille des galles et le taux de pourrissement des racines. [1]

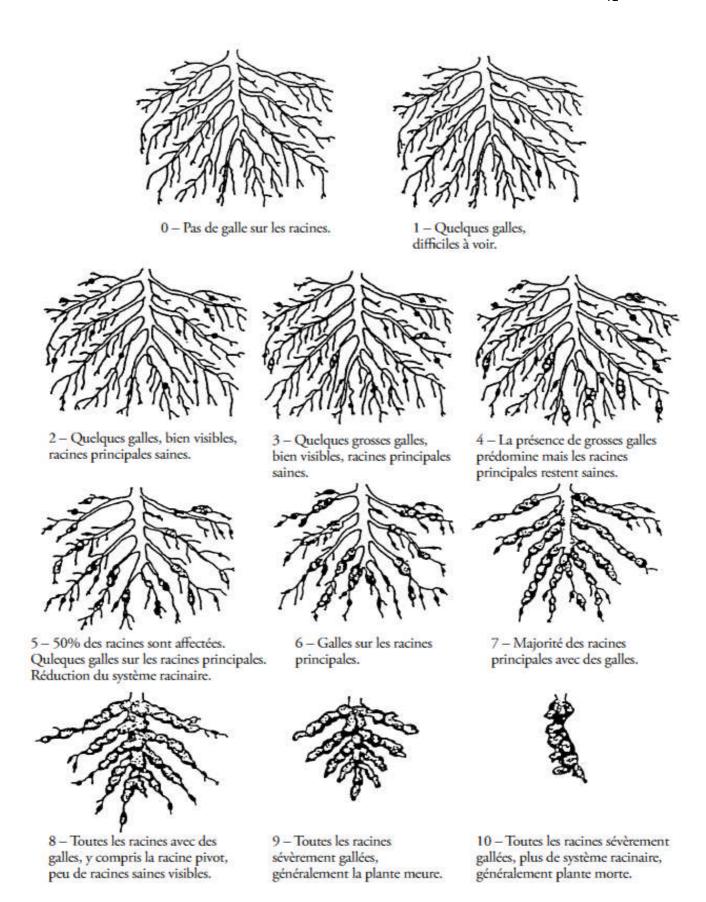


Figure n°2.2 : Table d'indexation pour les nématodes à galles de 0 à 10 [1].

Chapitre 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Résultats

3.1.1. Evolution nématologique

Les essais des activités nématologiques montrent que les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* (C7R12, PP) ont un impact sur la diminution du nombre de galles, ainsi que sur la prolifération des femelles de *Méloidogyne sp*, (Tableau n°3.1).

Tableau n°3.1 : Nombre de galles et nombre de femelles par racine

Traitements	Nombre de galles*	Femelles%*
T1=v1+n	20,33±0,58	48±0,2
T2=v2+n	13,33±3,72	44±0,08
T3=v1b1+n	11,27±5,02	43±0,26
T4=v1b2+n	1,85±2,72	15±0,27
T5=v2b1+n	0,88±1,69	3±0,08
T6=v2b2+n	2,6±2,67	4±0,13

V1 : variété La Saint Pierre ; V2 : variété La Marmande ; b1 : Pseudomonas Fluorescent souche C7R12 ; b2 : Pseudomonas Fluorescent PP ; n : nématodes a galles Meloidogyne sp

^{*}Moyenne des dix répétitions.

^{**}Proportion du nombre de femelles par rapport au nombre de galles.

La variété Saint-Pierre a montré une sensibilité supérieure à l'attaque du *Méloidogyne* par rapport à la variété Marmande.

La moyenne du nombre de galles par racine et la prolifération sur la variété Marmande sont respectivement de 13,33 galles par racine et 44% de femelles.

La variété Saint-Pierre affiche une moyenne de 20,33 galles par racine et une prolificité de 48%.

L'estimation des taux de réduction du nombre de galles et du nombre de femelles à montré des intensités réductrices variables, selon les souches antagonistes et selon les variétés étudiées (Tableau n°3.2).

Tableau n°3.2: Taux de bioprotection

Traitements	Nombre de galles%*(NG)	Femelles%**(F)
Т3	44,57%	10,42%
Т4	90,91%	68,75%
Т5	93,40%	93,19%
Т6	80,50%	90,91%

^{*}Taux de réduction du nombre de galles sur plants traités par rapport au témoin infesté par *Meloidogyne*. T3=((NGT3/NGT1)x100)-100, T4=((NGT4/NGT1)x100)-100, T5=((NGT5/NGT2)x100)-100, T6=((NGT6/NGT2)x100)-100.

Les plantes bactérisées ont montré des niveaux d'infestation en *Meloidogyne* réduit par rapport aux témoins (Tableau n°3.2). Nous avons constaté que les taux de réduction du nombre de galles sur les plants traités par la souche C7R12 sont de 44,57% sur la variété Saint-Pierre, et 93,4% sur la variété Marmande. Les

^{**}Taux de réduction du pourcentage de femelles sur plants traités par rapport au témoin infesté par *Meloidogyne*. T3=((FT3/FT1)x100)-100, T4=((FT4/FT1)x100)-100, T5=((FT5/FT2)x100)-100,T6=((FT6/FT2)x100)-100.

traitements par la souche PP, ont également donnés des résultats très satisfaisant ; de 90,91% sur la variété Saint-Pierre et de 80,5% sur la variété Marmande

La prolifération des méloidogynes a également été réduite ; 10,42% (Saint-Pierre) et 93,19% (Marmande) pour la souche C7R12 et 68,75% (Saint-Pierre) et 90,91% (Marmande) pour la souche PP.

En examinant les réactions selon les variétés de tomates, nous constatons que l'interaction Marmande/C7R12 s'est révélée être la plus efficace en terme de réduction du taux d'infestation (93,4%) et du taux de prolifération (93,19%).



Figure n°3.1 : Evaluation des paramètres nématologiques (nombre de galles, nombre de femelles). (Photo personnel)

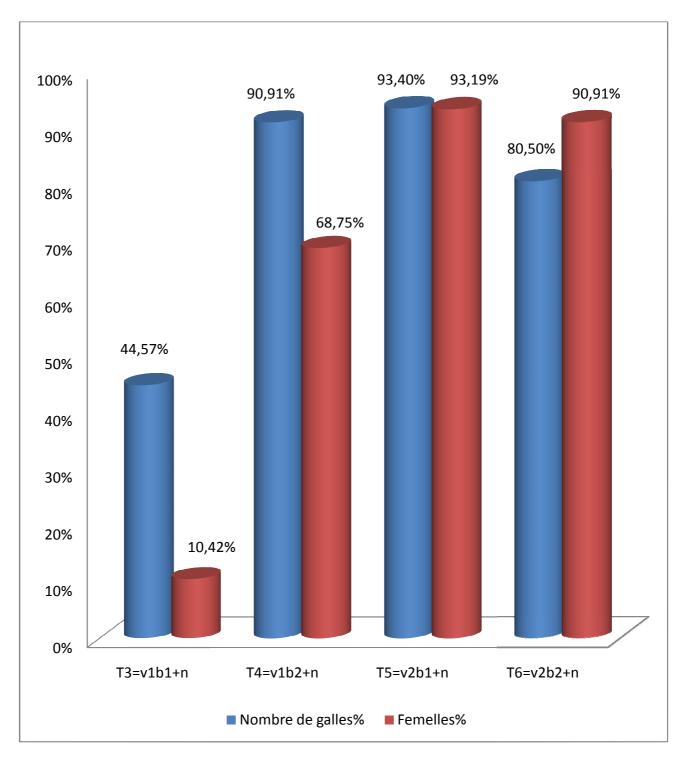


Figure n°3.2 : Taux de réduction du nombre de galles et du nombre de femelles après le traitement.

3.1.2. Développement sur la plante

Les paramètres de croissance des plants de tomates sont évalués 34 jours après la bactérisation (Figure n°3.6).



Figure n°3.3 : Evaluation des paramètres de croissance des plants de tomates

3.1.2.1. Développement de la partie racinaire

Les paramètres de croissances concernant la partie racinaire, que se soit la longueur ou bien le poids des racines, après le dépotement et nettoyage à l'eau courante des racines (Tableau n°3.3).

Tableau n°3.3 : Paramètres de croissance de la partie racinaire

Traitements	Poids des racines(g)	Longueur des racines (cm)
T1=v1+n	6,69±3,1	20,93±3,75
T2=v2+n	5,22±1,47	21,18±5,02
T3=v1b1+n	4,84±1,9	21,18±4,42
T4=v1b2+n	6,62±1,31	20,8±6,06
T5=v2b1+n	5,94±1,62	20,03±5,08
T6=v2b2+n	5,77±1,76	21,28±4,82
T7=v1	6,74±1,49	19,97±4,23
T8=v2	5,46±094	23,71±5,31
T9=v1b1	4,85±1,1	19,13±2,82
T10=v1b2	5,87±1,46	20±24,26
T11=v2b1	4,83±0,95	21,82±3,95
T12=v2b2	4,97±1,04	22±844,59

L'impact de la bactérisation sur le développement de la partie racinaire de la plante n'a pu être observé, du fait que les plants ont été conduits en pots, cette situation a limité le développement racinaire.

3.1.2.2. Développement de la partie aérienne

Les mensurations des hauteurs et poids des tiges, chez les plants bactérisés et chez les témoins, n'ont pas permis de déceler de variations significatives (Tableau n°3.4).

Tableau n° 3.4: Paramètres de croissance de la partie aérienne

Traitements	Poids de la partie aérienne (g)	Longueur de la partie aérienne
T1=v1+n	13,77	33.83
T2=v2+n	12,18	31,22
T3=v1b1+n	12,42	31,35
T4=v1b2+n	13,68	30,35
T5=v2b1+n	10,78	32,58
T6=v2b2+n	10,54	29,15
T7=v1	14,04	31,45
T8=v2	16,63	34,61
T9=v1b1	14,2	35,17
T10=v1b2	14,35	31,92
T11=v2b1	14,22	32,83
T12=v2b2	17,23	33,5

3.1.3. Impact de la bactérisation sur la phytostimulation

3.1.3.1. Partie racinaire

Dans le cas des plants infestés par *Meloidogyne*, nous avons constaté que sur la variété Saint Pierre, la bactérisation n'a pas eu d'effet de phytostimulation, alors que sur la variété Marmande une amélioration dans le poids de la partie racinaire a été observée (Tableau n°3.5).

Tableau n° 3.5 : Effet de la bacterisation sur la phytostimulation de la partie racinaire sur plant infesté.

Traitement	Poids de la partie racinaire*(P)	longueur de la partie racinaire**(L)
Т3	-27,67%	1,19%
Т4	-1,04%	-0,47%
Т5	13,79%	-5,42
Т6	10,53%	0,47

^{*}Gain en poids des racines des plants infestés par *Meloidogyne* et traités par rapport au témoin infesté. T3=((PT3/PT1)x100)-100, T4=((PT4/PT1)x100)-100, T5=((PT5/PT2)x100)-100,T6=((PT6/PT2)x100)-100.

Aucune amélioration du poids ou de la longueur n'a été constatée sur la partie racinaire des plants bactérisés et sain (Tableau n° 3.6).

^{**} Gain en longueur des racines des plants infestés par *Meloidogyne* et traités par rapport au témoin infesté. T3=((LT3/LT1)x100)-100, T4=((LT4/LT1)x100)-100, T5=((LT5/LT2)x100)-100,T6=((LT6/LT2)x100)-100.

Traitement	Poids de la partie racinaire*	longueur de la partie racinaire**
T9=v1b1	-28,04%	-4,20%
T10=v1b2	-12,90%	0,15%
T11=v2b1	-14,36%	-7,97%
T12=v2b2	-11,87%	-7,21%

Tableau n° 3.6. : Phytostimulation de la partie racinaire sur plant sain.

3.1.3.2. Partie aérienne

Les résultats montrent que les plants bactérisés et infesté par le *Meloidogyne* ont un poids et une longueur de la partie aérienne inferieurs aux plants non bactérisés et infestés par le *Meloidogyne*, sauf dans le cas de la variété Marmande traité par la souche C7R12 ou la longueur de la partie aérienne est supérieure aux plants non traités ; Par conséquent, l'effet phytostimulateur des bactéries n'a pas été observé (Tableau n° 3.7). Sur plant sain nous avons observé une meilleur réponse de la variété Saint Pierre à la bactérisation, en effet, une augmentation dans le poids et dans la taille de la partie aérienne a été remarquée sur plants bactérisés, tandis que sur la variété Marmande, nous avons observé une diminution dans le poids et dans la taille de la partie aérienne par rapport aux plants non bactérisés (Tableau n° 3.8).

^{*} Gain en poids des racines des plants bactérisés par rapport au témoin non bactérisés. T9=((PT9/PT7)x100)-100, T10=((PT10/PT7)x100)-100, T11=((PT11/PT8)x100)-100,T12=((PT12/PT8)x100)-100.

^{***} Gain en longueur des racines des plants bactérisés par rapport au témoin non bactérisés. T9=((LT9/LT7)x100)-100, T10=((LT10/LT7)x100)-100, T11=((LT11/LT8)x100)-100,T12= ((LT12/LT8)x100)-100.

Traitement	Poids de la partie aérienne	Longueur de la partie aérienne
Т3	-9,80%	-7,33%
Т4	-0,65%	-10,28%
Т5	-11,49%	4,35%
Т6	-13,46%	-6,63%

Tableau n° 3.7. : Phytostimulation de la partie aérienne sur plant infesté.

^{**} Gain en longueur de la partie aérienne des plants infesté par *Meloidogyneet* et traités par rapport au témoin infesté. T3=((LT3/LT1)x100)-100, T4=((LT4/LT1)x100)-100, T5=((LT5/LT2)x100)-100,T6= ((LT6/LT2)x100)-100.

T		1 1 (1 / 1	1 4 1
I ahidaii n° 3 8 ·	nnytaetimiilatian	de la partie aérienne	cur niant cain
Tableau II 3.0	DITYLOGUITIQUALION	ue la ballie aellellile	oui biant oann.

Traitement	Poids de la partie aérienne	Longueur de la partie aérienne
Т9	1,13%	11,82%
T10	2,20%	1,49%
T11	-14,49%	-5,14%
T12	3,60%	-3,20%

^{*} Gain en poids de la partie aérienne des plants bactérisés par rapport au témoin non bactérisé. T9=((PT9/PT7)x100)-100, T10=((PT10/PT7)x100)-100, T11=((PT11/PT8)x100)-100,T12= ((PT12/PT8)x100)-100.

^{*}Gain en poids de la partie aérienne des plants infesté par *Meloidogyneet* et traités par rapport au témoin infesté. T3=((PT3/PT1)x100)-100, T4=((PT4/PT1)x100)-100, T5=((PT5/PT2)x100)-100,T6=((PT6/PT2)x100)-100.

^{***} Gain en longueur de la partie aérienne des plants bactérisés par rapport au témoin non bactérisé. T9=((LT9/LT7)x100)-100, T10=((LT10/LT7)x100)-100, T11=((LT11/LT8)x100)-100,T12= ((LT12/LT8)x100)-100.

3.2. Discussion

L'étude de deux souches de *Pseudomonas fluorescens*, (C7R12, PP), comme agent de lutte contre le nématode à galles le *Meloidogyne sp.*, nous a permis d'avoir des résultats intéressants ; en effet, les tests du pouvoir régulateur ont démontré une efficacité élevée des souches étudiées. Ces résultats préliminaires confirment le pouvoir biopesticide des bactéries du genre pseudomonas. Des taux de biocontrôle du nématode de 90% ont été observés, ainsi qu'une diminution importante du taux de femelles.

Les souches bactériennes ont été choisies suite à leur capacité à produire *in vitro* une gamme de métabolites secondaires : sidérophores et protéase extracellulaire [97]. La souche C7R12 est connue pour ses compétences rhizosphérique et ses aptitudes de biocontrôle [97], et *Pseudomonas putida* (PP) a été rapporté à la fois comme PGPR et comme souche de biocontrôle des champignons phytopathogènes et des nématodes *Meloidogyne* [98, 99].

La variété Saint-Pierre a montré une sensibilité supérieure à l'attaque du *Meloidogyne* par rapport à la variété Marmande. La bactérisation a eu un effet favorable sur les deux variétés étudiées. En effet, les taux de réduction de l'infestation sont supérieurs à 45% pour les deux variétés. Les actions bénéfiques d'inhibition des activités nématologique, suite à la bactérisation des plantes par les PGPR, ont été rapportées dans de nombreuses études [100, 101, 102, 103, 104, 105, 106].

De nombreux travaux ont démontré que les PGPR sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes [80, 92].

Les mécanismes par lesquels les agents de lutte biologique bactériens peuvent prodiguer leur effet protecteur sont multiples, et peuvent varier pour un microorganisme donné en fonction du pathosystème (couple hôte végétal/pathogène) sur lequel il est appliqué [107]. Même si la monopolisation de

l'espace et des nutriments présents dans le sol et/ou dans les exsudats racinaires intervient dans le phénomène, la protection conférée chez leur hôte par les PGPR est souvent due à un mécanisme d'antibiose, ou d'inhibition de la croissance des agents pathogènes via la sécrétion de composés antibiotiques [15].

Durant les trois dernières décennies, les bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* ont été identifiées comme agents potentiels de biocontrôle, à l'encontre des phytopathogènes. Les *Pseudomonas fluorescens* saprophytes sont les habitants type des sols agricoles et la rhizosphère des plantes, et sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes [108]. Ces bactéries sont considérées comme des composés biologiques du sol agricole, et ont fait l'objet de plusieurs études relatives à leurs aptitudes comme stimulateurs de croissance et comme agents de lutte biologique [7, 15,109,110, 97, 111, 99], tout comme les mécanismes d'action intervenant dans ces processus, en vue de sélectionner les souches les plus performantes et de déterminer les métabolites secondaires intervenant dans la régulation des nématodes[82, 112, 113, 114, 115, 111, 99, 116].

Selon KHAN et al, [99], l'activité nématologique est en grande partie liée à la production de métabolites secondaires tels le DAPG et l'acide cyanhydrique. Plusieurs isolats appartenant à *Pseudomonas sp.* ont été capables de produire de l'acide cyanhydrique *in vitro*, néanmoins l'importance de ces composés en plein champs reste à déterminer. Des résultats variables ont été constatés selon que l'essai soit in vitro ou *in situ* [104]. L'acide cyanhydrique est un métabolite secondaire produit par des bactéries gramme négative qui contribue à la suppression de champignons phytopathogènes [117]. L'acide cyanhydrique produit par *Pseudomonas earuginosa* joue un rôle clés dans la suppression du nématode *Caenorhabditis elegans in vitro* [116]. Le mécanisme exact intervenant dans la régulation des nématodes par l'acide cyanhydrique reste encore à élucider.

La production de protéase chez *Pseudomonas fluorescens*, souche CHA0, a été identifiée comme un facteur important (mais pas unique), contribuant à la lutte biologique contre les nématodes ; des mutants de cette souche déficients dans la production de la protéase ont été incapables de provoquer la mortalité des juvéniles *in vitro*, et par conséquent incapables de supprimer les galles sur les racines des

plants de tomate et de soja [118,119]. Des isolats capables de produire des sidérophores et de l'acide salicylic et incapables de produire du DAPG et du cyanure, n'ont pas réussi à provoquer la mortalité des nématodes (juvéniles) parasites des plantes; ce qui suggère que la concurrence pour le fer chez les bactéries et les nématodes n'est pas un phénomène opérationnel dans la rhizosphère et que les deux organismes occupent des niches différentes [111].

Selon ANITA et SAMIYAPPAN, [120], des plants de riz traités par P. fluorescens, ont montrés une accumulation précoce et importante de phénols et d'enzyme de défense (Peroxydase, polyphénoloxydase, phénylalanine ammoniac lyase et chitinase) sur les tissus des racines traitées, en réponse à l'invasion par M. graminicola, contribuant collectivement à induire une résistance systémique et à la diminution de l'infection par les nématodes. Le traitement des semences de riz par des souches PGPR a augmenté l'activité enzymatique de la chitinase et la teneur en composés phénoliques, ce qui a été corrélé avec une réduction de l'infestation par les nématodes [121]. Les résultats obtenus par ANITA et SAMIYAPPAN, [120] ont révélé que P. fluorescens a amélioré l'accumulation de phénols dans les racines de riz en réponse aux attaques de M. graminicola. La production et la sécrétion de chitinase par des microorganismes non pathogènes peuvent être importantes dans le contrôle biologique des nématodes parasites des plantes, elles dégradent la chitine qui est le principal composant de à la coquille d'œuf. Les chitinases peuvent également jouer une fonction secondaire, comme des molécules de signalisation, provoquant l'induction d'autres protéines ou métabolites liés à la pathogenèse, ceuxci sont impliqués dans les réactions de défense des plantes [122]. ANITA et SAMIYAPPAN, [120] ont démontré une production accrue des chitinases par P. fluorescens, après contamination par les nématodes. L'activité accrue des chitinases pourrait avoir un rôle direct ou indirect dans l'induction de la résistance systémique contre les agents pathogènes [123]. La plupart des souches de P. fluorescens sont connus pour produire des chitinases [124].

CHIN-A-WOENG et *al.* [125] ont observé que la capacité de colonisation racinaire de certains PGPR est liée au mécanisme impliqué dans le bio contrôle. Le mécanisme d'antibiose exige une colonisation appropriée de la souche impliquée, alors que pour le mécanisme de la résistance induite, un petit nombre de cellules

bactériennes pendant une période limitée, peut être suffisant pour obtenir une réponse positive de la plante hôte. La résistance systémique induite (ISR) est une « immunisation » de la plante, ne provoquant pas de symptômes visibles de maladie [126]. L'efficacité de cette immunisation diminue significativement l'impact de maladies causées par des champignons racinaires (*Fusarium oxysporum, Pythium alphanidermatum*) ou aériens (*Botrytis cinerea, Alternaria brassicicola*), par des bactéries (*Pseudomonas syringae, Erwinia amylovora, Xanthomonas campestris*), des virus (virus de la mosaïque du tabac, le virus de la marbrure de tomate) et par certains nématodes (*Globodera pallida, Meloidogyne incognita*) [127]. L'immunisation de la plante découle de la reconnaissance par les cellules racinaires de métabolites particuliers secrétés par le PGPR : les éliciteurs de l'ISR.

De plus en plus de travaux de recherche relatent le potentiel de certaines souches à induire l'ISR chez leur hôte ; dans certains cas, les éliciteurs responsables de l'activité des souches ont été identifiés. Ces molécules, appelées aussi déterminants, sont de natures variées et peuvent être divisées selon trois classes : des composants de surface cellulaire, des métabolites à activité chélatrice du fer et des molécules à activité antibiotique [126,127].

Plusieurs études illustrent le potentiel de certains composés antibiotiques à induire une réponse de type ISR chez les plantes. C'est le cas du 2,4-diacetylphoroglucinol (DAPG), produit par Pseudomonas fluorescens CHA0, qui protège *Arabidopsis thaliana* de *Peronospora parasitica*. Toujours chez Arabidopsis, la rhizobactérie *Pseudomonas fluorescens* Q2-87 est également apte à protéger son hôte contre *Pseudomonas syringae* via l'ISR induite par le DAPG [128]. Enfin, l'action élicitrice de cet antibiotique s'est également avérée efficace contre le nématode *Meloidogyne javanica*, responsable de dégâts sur les racines de tomate [113]. Des travaux ont noté que l'introduction d'une souche productrice de DAPG dans la rhizosphère de la betterave sucrière cause un changement dans la population de *Pseudomonas fluorescens* indigènes. Ce changement se traduit par une augmentation de la population capable d'assimiler le tryptophane, l'érythritol et l'adonitol, alors que ces trois composés ne sont pas assimilés par l'inoculant. Plus encore, ce changement se fait seulement au niveau du rhizoplan et n'affecte pas les proportions relatives des différents groupes phylogénétiques [129]. La mobilité des

juvéniles de *Globodera rostochiensis* a été réduite *in vitro* et dans des microcosmes de sol en présence de la souche *P. fluorescens* F113, par rapport aux témoins sans la bactérie [112]. Un mutant négatif DAPG de la bactérie n'a eu aucun effet sur la mobilité des nématodes, mais la complémentation du mutant avec un plasmide contenant un fragment codant pour la synthèse de DAPG a restauré l'activité nématostatique. L'antibiotique a également été impliqué dans la répression de *Meloidogyne javanica* sur la tomate par *P. fluorescens* souche CHA0 [113].

Contrairement aux réponses mises en place par la plante suite à des attaques par des pathogènes, celles induites par des microorganismes bénéfiques sont moins connues et beaucoup de questions concernant l'ISR restent encore à être élucidées. Néanmoins, l'ISR peut être divisée en trois étapes principales que sont la perception des molécules actives produites par le PGPR ou élicitation, la transmission d'un signal systémique dans la plante et l'expression des mécanismes de défense de l'hôte.

La compétence rhizosphérique constitue un pré requis pour les aptitudes de biocontrôle des agents phytopathogènes et la promotion de la croissance végétale, où elle garantit la propagation et la colonisation rhizosphérique des souches bactériennes, condition préalable pour l'expression génétique de leurs propriétés bénéfiques. La présence et la survie des souches bactériennes dans la rhizosphère sont influencées en partie par le système racinaire des plantes, ce dernier modifie l'environnement biotique et abiotique du sol, en libérant dans la rhizosphère des composés de diverses natures [85]. Ces substrats énergétiques induisent une augmentation des populations microbiennes dans la rhizosphère par rapport à la masse du sol [130,88]. L'abondance d'éléments nutritifs influence la vitesse de division cellulaire et par conséquent la multiplication et la survie bactérienne [89]. La polyvalence nutritionnelle des *Pseudomonas fluorescens* leur permet de s'adapter et de coloniser efficacement la rhizosphère [90,91]. Ajouté à cette polyvalence, la compétition pour les éléments minéraux constitue un autre aspect de la colonisation rhizosphérique [7], où les Pseudomonas fluorescens peuvent solubiliser plusieurs éléments tels que le fer, le phosphore et manganèse et cela grâce à des agents chélateurs [7, 131, 93, 94, 95, 132, 133, 134].

Une fois installé dans la rhizosphère, le microorganisme d'intérêt peut intervenir favorablement, en privant les organismes potentiellement infectieux des ressources nutritives (substrats carbonés, oligoéléments essentiels) et spatiales nécessaires à son développement. Il peut également agir par antagonisme, c'est-à-dire en inhibant directement la croissance des pathogènes par la production d'antibiotiques et/ou d'enzymes lytiques antifongiques. Cette antibiose est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important employé par les agents de biocontrôle pour limiter l'invasion des microbes pathogène dans les tissus végétaux [135]. Quelques souches isolées de certaines cultures particulières montrent une certaine variation dans l'activité de la promotion de croissance, ce qui peut être dû à différents potentiels de colonisation [136], à leur réponse à la composition d'exsudats racinaires, et à la variation des températures saisonnières [137, 138].

Plusieurs facteurs favorisent le développement des populations de ces nématodes phytoparasites; le climat, le système de culture et le sol. Les nématodes étant des animaux édaphiques, les principaux facteurs influençant les conditions de sol agissent également directement ou indirectement sur leur nocivité. Les facteurs les plus importants sont ; la température, l'humidité, la texture du sol, l'aération et enfin les propriétés chimiques du sol.

Afin de lutter efficacement contre le développement des populations de *Meloidogyne*, il est nécessaire de connaître leurs particularités biologiques et écologiques en termes d'adaptation et de développement, pour établir une typologie des risques à l'usage du développement et de la production agricole. [63]. En ce qui concerne les *Meloidogyne* une température assez élevée (~25C°) accélère le cycle, mais au-delà de 40 C°, le cycle est freiné (effet létale, d'ailleurs utilisé lors des désinfections à la vapeur). Les attaques débutent donc autour de Mars et cessent généralement en Octobre [33]. L'éclosion des œufs, la reproduction, la croissance et la survie qui déterminent leur installation, ainsi que le parasitisme, sont influencées par la température.

La fluctuation de l'humidité au sol est le principal facteur influençant la dynamique des populations de nématodes. Les masses d'œufs du *Meloidogyne* constituent une forme de résistance souvent efficace [33].

Des essais ont montré que le facteur sol n'est pas un facteur limitant pour la migration verticale et horizontale des nématodes du genre *Meloidogyne*. Par ailleurs, les sols limono-sableux peuvent fournir aux nématodes toutes les conditions favorables et adéquates pour leur prolifération. Le taux élevé de sable avec la présence d'une macroporosité et d'une microporosité importante, font que le taux d'infestation dans ce sol est plus élevé. La salinité, le pH, les matières organiques, les engrais, les pesticides et les ions présents dans le sol agissent sur l'éclosion, l'activité des nématodes et la survie des larves. La matière organique et la teneur de certains éléments (calcaire, potassium et magnésium) présents dans le sol semblent présenter des avantages considérables sur le développement de nématodes à galles. Concernant le pH, dans la même étude les résultats ont montrés que le long des stades phénologiques de la plante, les sols neutres ou plus ou moins acides favorisent l'éclosion des œufs des nématodes à galles, mais au dessous de 5,2, cette dernière est inhibée [139].

Il est très difficile de se débarrasser des nématodes à galles dans les sites de production maraîchère, les espèces de *Meloidogyne* étant dispersées par le mouvement des résidus de plantes et de terre contaminés (particulièrement au stade des murs), et par adhérence aux chaussures et aux outils agricoles. Elles sont également disséminées par la pluie, l'irrigation et l'eau de ruissellement. Elles peuvent survivre sous forme d'œufs en l'absence temporaire de plantes hôtes. Cela leur permet de rester à l'état dormant pendant plusieurs années, sans aucune réduction de leur capacité à se reproduire, et à attaquer les plantes lorsque les conditions redeviennent favorables [140].

L'utilisation de microorganismes bénéfiques constitue une alternative potentielle aux procédés agricoles basés sur l'utilisation d'engrais et de pesticides. Optimiser cette approche nécessite une meilleure compréhension du fonctionnement des interactions plantes-microorganismes. *Pseudomonas fluorescens* fait partie de cet arsenal de microorganismes bénéfiques aux plantes, il peut être un agent de lutte

à l'encontre de plusieurs phytopathogénes d'origine tellurique, son efficacité étant liée à son activité antagoniste et à sa compétitivité dans la rhizosphère. Ces souches pourraient trouver leurs places dans les applications biotechnologiques visant une amélioration des rendements et la préservation de l'environnement pour un développement durable. De nombreux travaux ont pu mettre en évidence des souches modèles, toutefois il faut garantir la stabilité et la reproductibilité des effets bénéfiques de ces rhizobactéries à l'échelle de pratiques agronomiques. Bien que des biopesticides à base de souches de *Pseudomonas fluorescens* soient déjà commercialisés en Europe et en Amérique, leur application à grande échelle n'est pas encore concrétisée.

Les difficultés de formulation et d'utilisation, des problèmes relatifs à la manutention et principalement le coût de ces microorganismes, sont parmi les obstacles ayant retardé leur vulgarisation. Les applications *in situ* de quelques souches de *Pseudomonas fluorescens* effectuées dans ce travail expérimental, ne sont, certes pas représentatives à l'échelle de production, mais elles ont permis la mise en évidence des effets bénéfiques exercés par ces rhizobactéries sur les plantes par leurs aptitudes de biocontrôle sur le nématode à galles *Meloidogyne sp*.

CONCLUSION

L'application de deux souches rhizobactérienne (C7R12 et PP) de Pseudomonas, en tant qu'agent de lutte contre le nématode à galles Meloidogyne sur plants de tomate, nous a permis de mettre en évidence des potentialités de biocontrôle élevées chez les deux souches étudiées. Une diminution du nombre de galles sur les racines et une inhibition de la prolifération des femelles ont été noté. Des taux de réduction du nombre de galles appréciables ont été enregistrés, dépassant les 80%, ce qui confirme le haut pouvoir antagoniste des deux souches.

Notre expérimentation peut nous permettre d'émettre des hypothèses sur les mécanismes d'action intervenant lors des phénomènes de bio-contrôle et de stimulation de la croissance. En effet, ces bactéries sont connues pour leurs activités antagonistes vis-à-vis des nématodes, liées en grande partie à la production de métabolites secondaires, tel le DAPG (2,4-diacetylphoroglucinol) et l'acide cyanhydrique, ainsi que leur potentiel d'induction de l'ISR.

Il a été constaté que ce pouvoir antagoniste est fluctuant selon la variabilité des variétés et selon la souche antagoniste, Il est fortement souhaitable, donc, d'approfondir les investigations relatives à l'étude des mécanismes d'action associés à l'expression des effets bénéfiques, en s'assurant de leur stabilité et de leur reproductibilité, dans des conditions expérimentales plus élaborées et proches des conditions naturelles. Comme il est nécessaire de s'intéresser de près aux expérimentations de formulation des inocula bactériens, destinés aux applications pratiques, préalables d'approche en termes d'application à grande échelle.

L'identification des mécanismes d'action impliqués dans le bio-contrôle des nématodes par les PGPR reste assez complexe. En effet, il est difficile de se prononcer sur des actions spécifiques et ciblées par rapport aux nématodes. L'action des PGPR doit être évaluée sur la population des nématodes dans le sol comme sur la plante, le nombre de masse d'œufs ainsi que le nombre de femelles sont des paramètres indicateurs de la fertilité et de l'action exercée par les PGPR.

Au terme de cette étude, les résultats prometteurs obtenus appellent des expérimentations de base, réalisées dans des conditions meilleures, permettant réellement l'évaluation des effets bénéfiques de ces souches dans des essais proches des conditions pratiques.

L'utilisation des PGPR comme agents de promotion de la croissance végétale et/ou de bio-contrôle peut permettre de diminuer l'utilisation des pesticides, encourageant ainsi les efforts de recherche dans ce domaine pour approfondir les connaissances nécessaires à une compréhension des interactions entre la plante et la bactérie, ainsi que l'influence exercée par leur environnement biotique et abiotique sur cette interaction. Il est aussi essentiel de mieux comprendre la réaction des plantes avec la présence de ces bactéries introduites.

REFERENCES

- 1. Coyne, D.L. Nicol, J.M., et Claudius-Cole, B., (2010). Les nématodes des plantes: un guide pratique des techniques de terrain et de laboratoire, international institute of tropical agriculture.
- Khan, Z., Park, S.D., Shin, S.Y., Bae,S.G., Yeon, I.K., Seo, Y.J., (2004).
 Management of meloidogyne incognita on tomato by Root-dip treatment in culture filtrate of the blue-green alga, Microcoleus vaginatus. Bioresource technology 96 (2005) 1338–1341. Seongju fruit–vegetable experiment station, gyongbuk provincial ata, 719-861, republic of korea.
- 3. Lamberti, F., Greco, N., et Zaouchi, H., (1975) Eeude sur les nématodes chez le palmier dattier et autres cultures importantes d'Algérie. Bull. phytosanitaire de la F.A.O. pp. 156-160.
- Mokabli, A., (1988) principaux facteurs qui déterminent l'importance et l'agressivité des *Méloidoyne* sous abri serre en Algérie. Thèse Mag. Inst. Nat. Agro. El Harach. 69p.
- 5. El Kebiri, L. (1993). Contribution à l'étude de l'état d'infestation des cultures maraîchères sous serre par les *Meloidogyne* dans quelques régions du littoral algérois. Etude de la répartition géographique des *Meloidogyne sp.* Mém. Ing. Agro., Inst. Nat. Agro. De Blida, 51 p.
- Amari, K., contribution à l'étude du précédent cultural sur le comportement de quelque culture maraîchère vis-à-vis de *Méloidoyne spp* sous abri serre.
 Thèse Ing. Inst. Nat. Agro. El Harach. 46p.
- 7. Selamis., M., Eddoud A., et Benseghir H., (1999). Distribution et plantes hôtes associees aux meloidogyne sous abris plastiques en Algérie. Institut national agronomique, el harrach alger-algerie, universite ferhat abbes, institut de biologie. Setif-algerie. Nematolmedit. (1999).
- Missonnier, J., (1985) La lutte intégrée contre les nématodes: Avenir de l'utilisation des variétés résistantes. Cr. Acad Agri. De France, T. 71, N°7, pp. 793-803.
- 9. Cayrol, J.C., Djian-Caporalino, C. et Panchaud-M attie, E., (1992) La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites. le courrier de la cellule environnement n°17, aout 1992.

- 10. Tabula, T.K., Madoungou, P., et Bayonne, L., (2005). effets de l'iboga (*tabernanthe iboga* baillon) sur les Nématodes à galles (*meloidogyne*sp.) Parasites de tomate ; tropicultura, 2005, pp 6-10
- 11. Adam, A., (2008). Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la Lipoxygenase par des rhizobacteries non-pathogènes. Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences. Janvier 2008. Université de liège, Belgique.
- 12. Siddiqui, Z.A., Mahmood, I., (1998). Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes" A review, india; bioresource technology 69 (1999), pp167-179
- 13. Lemanceau, (1992). Effets bénéfiques de rhizobacteries sur les plantes : Exemple des *Pseudomonas spp fluorescents*. Inra, laboratoire de recherches sur la flore pathogène et la faune du sol. Relations plantes microorganismes (synthèse).
- 14. Jourdan, E., (2008). Dialogue moléculaire entre les rhizobactéries et leur hôte végétal : deux nouveaux éliciteurs impliqués dans l'induction de résistance aux pathogènes. Thèse Présentée pour l'obtention du titre de Docteur en sciences. Universite de liège, Belgique.
- 15. Mercado-Blanco, J. and Bakker, P.A.H.M. (2007). Interactions between plants and beneficial Pseudomonas spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. Antonie Van Leeuwenhoek 92: 367-389.
- 16. Ravichandra N G, (2008) PLANT NEMATOLOGY. I K International Publishing Hous Pvt. Ltd.
- 17.G. De Guiran, G., et Netscher, C., (1970). Les Nématodes Du Genre Meloidogyne, Parasites De Cultures Tropicales. Cab.O.R.S.T.O.M .sér Biot. N° 11 avril 1970.
- 18. Eisenback J et Hunt D, (2009). General Morphology, in: PERRY R N, MOENSM, STARR J L: root knot nematodes. CABI Publishing.
- 19. Bridge, J., et Starr, J. L., (2007). Plant Nematodes of Agricultural Importance: A Color Handbook. Academic press an imprint of Elsevier.152 pp.
- 20. Hunt, D. J., Luc, M. et Manzanilla_lopez, R. M., (2005). Identification, Morphology and Biology of Plant Parasitic Nematodes. In LUC M, SIKORA R A and BRIDGE J, 2005: Plant parasiticnematodes in subtropical and tropical agriculture. CABI publishing 2nd cd.

- 21. Noir, S., (2002). Diversité Des Gènes De Résistance Au Sein Du Génome Des Caféiers (coffea I.) Analyse génétique de la résistance au nématode à galles, *Meloidogyne exigua* chez c. Arabica. Thèse Présentée pour l'obtention du titre de Docteur en sciences de l'université Montpellier Formation doctorale.
- 22. Wyss, U. (1997). Root parasitic nematodes: an overview. In Cellular and molecular aspects of plant-nematode interactions: FENOLL C., GRUNDLER F. M. W., ET OHL S., EDS. Kluwer AcademicPublishers, Dordrecht, pp. 5-22.
- 23. Moens, M., Perry, R. N., Starr, J. L., (2009). Meloidogyne species, a diverse group of novel and important plant, in: PERRY R N, MOENS M, STARR J L: root knot nematodes. CABI Publishing.
- 24. Riedel, M., Millers A. et ROWER, C., (2008). Root Knot Nematode. Ohio State Universityat: ohioline.osu.edu.
- 25. Djian-Caporalino, C., Vedie, E., et Arrufat, A., (2009). gestion des nematodes a galles: lutte conventionnelle et luttes alternatives. L'atout des plantes pieges. Phytoma, septembre 2009.
- 26. Messiaen C.M., blancard D., rouxel F., et lafon R., (1991). les maladies des plantes maraicheres. Du terrain au labo. Inra, 1991.
- 27. Luc M, Sikora R.A et Bridge J., (2005). Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture, second edition. CABI publishing.
- 28. Karssen G, (2002). The Plant-Parasitic Nematode Genus *Meloidogyne* Göldi, 1892 (Tylenchida) in Europe. Ed Brill
- 29. Jatala P, (1987). nématodes parasites de la pomme de terre. La pomme de terre bulletins d'information technique. Centre international de la pomme de terre (CIP). Pp 49-56
- 30. Abad P, Gouzy J, Aury JM, Castagnone-Sereno P, Danchin EG, (2008). Genome sequence of the metazoan plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. Nat Biotechnol. 2008 Aug; 26(8):909-15. Epub 2008 Jul 27.
- 31. Castagnone-Sereno P., Djian-Caporalino C., (2011). Lutte contre les nématodes à galles en cultures maraîchères : des recherches pour promouvoir la durabilité des résistances variétales. Innovations Agronomiques 15 (2011), 55-64
- 32.Z. X. Chen,s. Y. Chen,donald ward dickson,2004: nematology: nematode management and utilization. Volume 2 of cabipublishing series.1234 pages. Pp 665.

- 33. Bertrand, C., (2001) Lutter contre les nématodes à galles en agriculture biologique. Fiche technique GRAB, p4.
- 34. Nadji S., (1991) Enquête sur l'état d'infestation des cultures maraîchères par les Meloidogyne (Nematoda, Meloidogynidae) dans les régions d'Adrar et Ouargla. Thèse Ing. Agro. Inst. Tech. Agro. Sah Ouargla, 47 pp.
- 35. De Guiran G., (1983) Les nématodes parasites des cultures en pays tempérés, pp. 1-42. In: nématodes les ennemis invisibles. Ed la littoralle S A Beziers.
- 36. Scotto La Massese C., (1986) Influence des caractéristiques bioécologiques des milieux sur la distribution des nématodes telluriques. Bull. Rech. Agro. Gembloux, 21: 255-272.
- 37. Taylor A. L. and Sasser J. N., (1978). Biology identification and control of root-knot nematode (Meloidogyne species). A cooperative publication United States Agency for International development. North Caroline State University Graphics, Raleigh, U.S.A., pp. 111.
- 38. Duval, J., (1993) Les plantes nematicides. ecological agriculture projet. nematol.1(2) pp. 1-28
- 39. Netscher, C. et Sikora, R.A. (1990) Nematode parasites of vegetables. In plant nematodes in subtropical and tropical agriculture. Edited by luc m.; Sikora r. a. and bridge j. ed. cab. **International. Pp 273-283.**
- 40. Minaud, J., (1972) elements pratiques conditionnant le choix d'une methode de lutte contre les nemathodes. rev. phytoma, def. des cultures n°240, pp13-
- 41. Appert, J., Deuse, J., (1982) les ravageurs de cultures vivrières et maraichères sous les tropiques. Ed. Maissoneux G.P. et Larousse, paris, 240p
- 42. Bodiane. Y., (1984) tolérance et résistance de quelques solanacées au nématode meloidogyne incognita : influence sur le développement de l'hôte. d. e. a. agro. antibes. 37p.
- 43. Taylor, L., (1968) Introduction a la recherche sur les nématodes phytoparasites. Manuel F.A.O. Rome, 135p. Thèse Ing. Agro. Inst. Nat. Agro. El Harrach, 61p
- 44. Dalamasso, A. et Missonier, J., (1986) La lutte intégrée contre les nématodes des cultures. Intérêt des variétés résistantes. Rev. Phytoma. Défense des cultures, n°378, pp.13-16

- 45. Singh, S.P., Veena, P., Khan, A.M., et Saxena, S.K., (1983) Changes in the phenolic contents, related rhizosphere mycoflora and nematode population in tomato inoculated with *Meloidogyne incognita* as a result of soil amendment with organic matter. Indian journal of nematology, 15(2):197-201.
- 46. Singh, S.P., Pant, V., Khan, A.M., et Saxena, S.K., (1986) Effect of sawdust with different nitrogen sources on the growth of tomato and on rhizosphere population of nematodes and fungi. Indian Phytopathology 36 (3). Pp 417-421.
- 47. Spiegel, Y., E.Cohn et I. Chet. 1986. Use of chitin for controlling plant parasitic nematodes. I.Direct effects on nematode reproduction and plant performance. Plant and Soil, 95:87-95.
- 48. Verma, R.R. (1986) Efficacy of organic amendments against *Meloidogyne incognita* infesting tomato. Indian journal of nematology, 16(1). Pp 105-106.
- 49. Haq, S., Singh, R.P. et Saxena, S.K. 1985. Control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato with soft fly coal ash. International Nematology Network Newsletter, 2(3). Pp 4-6.
- 50. Esmanjaud, D., Minot, J.C., and Voisin, R., (1996) Effect of durable inocumlum presence and high temperature on root galling nematodes numbers and survival of myrobolun gentyps, highly resistant to meloidogyne. Fundamental and applied nematology, 19(1). pp 85-90
- 51. Holtzman, O.V., (1965) Effect of soil temperature one resistance of tomato to root-knot nematodes (meloidogyne incognita). phytopatho.,vol 55,pp. 990-992
- 52. Dropkin, V.H., (1969) the necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to meloidogyne: reversal by temperature phtophatology, paris-grigno, 57 p
- 53. Zacheo, G.; Pricolo, G. and Bleve Zacheo, T., (1984) Influence of temperature on resistance and biochemical changes in tomato inoculated with meloidogyne incognita. Rev. Nemato. Medit. Vol. 16, pp. 107-112.
- 54. Luc, M. et Reversat, G, (1985) Possibilitees et limites des solutions genetiques aux affections provoquees par les nematodes sur culture tropivales. cr. acad. agri. de France, vol. 17, n°7, pp. 781-791.
- 55. Cayrol, J.C., Djian-Caporalino, C. et Panchaud-M attie, E., (1992) La lutte biologique contre les nématodes phytoparasites. le courrier de la cellule environnement n°17, aout 1992.

- 56. Cuany, A., (1971) Les methodes physique de lutte.in « les nématodes de cultures maraichères » Ed. A.C.T.A, Paris, pp 595-606.
- 57. B'chir, M.M., (1989) compte rendu de l'étude de l'expérimentation de l'activité nématicide de l'ethoprofos (mocap).i.n.a. Tunis, Tunisie ;i.n.p.v., El-Harrach, Algérie ;rhone poulenc agrochimie, France, 58p
- 58. Stephan, Z., A., (1989) Control of root-knot nematode on egg plant nematicids. Int. nematol. Network. Newsl. 6(3). Pp 25-26.
- 59. Stephan, Z., A., (1995) The efficacy of nematicids and horse manure in controlling root-knot nematodes on tomato ant egg plant. Nematol. Medit. 23: pp 29-30.
- 60. Thakore, Y., (2006). The biopesticide market for global agricultural use. Ind. Biotechnol. 2: 194-208.
- 61. Cayrol, J.C. et Frankowski, J.P., (1979) Une méthode de lutte biologique contre les nematodes a galles des racines appartenant au genre meloidogyne. P.M.H, rev. Horticole, n°273, pp. 15-23.
- 62. Hooper, D. J. et Evans, K., (1993) extraction, identification and control of plant parasitic nematodes in plant parasitic nematodes on temperate agriculture. Ed. C.A.B. International, Wallingford, London. 647p.
- 63. Blancard D, Laterrot H, Marchoux G et Candresse T, (2009). les maladies de la tomate, identifier, connaître et maitriser. Edition quæ.
- 64. Cayrol, J.C. et, Djian, C., (1991) assolement avec des plantes nématicides : lutte contre les nématodes. rev. nemato., 6. pp. 265-2734
- 65. Besri, M. (2012) Lutte biologique et génétique contre les parasites telluriques des plantes cultivées. Bulletin d'Information de l'Académie Hassan II des Sciences et Techniques. n°12.
- 66. Jaffee, B.A., (2000). Augmentation of soil with the nematophagous fungi Hirsutella rhossiliensis and Arthrobotrys haptotyla. Phytopathology 90, 498–504.
- 67. Kacimi, A., (1989) Essai de lutte biologique contre *Meloidogyne* au moyen d'un champignon prédateur *Arthrobotrys irigularis* sous abri serre à l'Institut National Agronomique (El-Harrach). Thése Ing. Agro. Inst. Nat. Agro. El Harrach, 61 p.

- 68. Hammache, M., (1994) Etude préliminaire de quelques aspects de la lutte biologique contre les *Meloidogyne* sous serre en Algérie. Thése Mag. Agro. Inst. Nat. Agro. El Harrach, 66 p.
- 69. Yezli, M., (1995) Etude de l'agressivité des souches *Arthrobotrys irigularis* (souches Algériennes) vis-à-vis des larves de *Meloidogyne incognita*. Recherche des milieux de culture pour une production massive. Thése Ing. Agro. Inst. Nat. Agro. El Harrach, 57 p.
- 70. Kiewnick, S., Sikora, R.A. (2006) Biological control of the root-knot nematode Meloidogyne incognita by Paecilomyces lilacinus strain 251. Biological Control 38. Pp 179–187.
- 71. Duval, J., (1991). Les nématodes de la tomate ecological agriculture projects. Canada agro-bio, pp 320 01.
- 72. De Waele, D., et Davide R.G., (1998) NÉMATODES À GALLE DES BANANIERS ET PLANTAINS. Parasites et ravageurs des *Musa* : fiche technique n° 3. 4p.
- 73. Mankau, R., 1975. Prokaryote affinities of *Duboscqia pentrans* Throne. Journal of Protozoology 21, 31-34.
- 74. Mankau, R., 1975. *Bacillus penetrans* n. Comb. causing a virulent disease of plant parasitic nematodes. Journal of Invertebrate Pathology 26, 333-339.
- 75. Brown, S.M., Kepner, J.L., Smart, G.C., 1985. Increased crop yields following application of *Bacillus penetrans* to field plots infested with *Meloidogyne incognita*. Soil Biology and Biochemistry 17, 483-486.
- 76. Garabedian, S. et Van Gundy, S.D. (1983) Nematode control with avermectins. Journal of Nematology. Pp 503-510.
- 77. Siddiqui, Z.A., Mahmood, I., (1999) Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes" A review. Bioresource Technology 69. Pp 167-179.
- 78. Ashoub, A. H., Amara, M. T., (2010) Biocontrol Activity of Some Bacterial Genera Against Root-Knot nematode, Meloidogyne incognita. Journal of American Science 6(10).
- 79. Zouioueche, Z., (1993) Essai de lutte biologique contre *Meloidogyne* (*Nematoda-Meloidogynidae*) sous serres. Thése Ing. Agro. Inst. Nat. Agro. El Harrach, 95 p.
- 80. Yang J, Kloepper JW et Ryu CM, (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Plant Science Vol.14 No.1. Pp 1-4

- 81. Dilantha, F. G., Nakkeerans, et Zhang, Y., (2005). Biosynthesis Of Antibiotics By PGPR and Its Relation In Biocontrol Of plant Disease, in Siddiqui, Z.A., : PGPR: Biocontrol and Biofertilization. (ed.), Springer. Printed in the Netherlands. Pp67-109.
- 82. Siddiqui, I.A., Shaukat, S.S., et Khan, A., (2004). Differential impact of some Aspergillus species on Meloidogyne javanica biocontrol by Pseudomonas fluorescens strain CHA0. The Society for Applied Microbiology 2004, 39. Pp74–83.
- 83. Benhamou, N., et Picard, K., (2000). La résistance induite : une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes. Phytoprotection, vol. 80, n° 3, 1999, p. 137-168
- 84. Antoun, H., et Prévost, D., (2005). Ecology Of Plant Growth promoting rhizobacteria, in Siddiqui ZA: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. (ed.), Springer. Printed in the Netherlands.pp1–38.
- 85. Lynch, J.M, The rhizosphere, John Wiley et Sons Ltd., Chichester, 1990, p.458.
- 86. Cleyet-Marel JC et Hinsinger P, 2000 : Le sol milieu vivant, un territoire qui reste à découvrir et à valoriser. Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 7, Numéro 6, 490-3, Novembre Décembre 2000, Dossier : "Agriculture, recherche et territoire"
- 87. Dilantha, F. G., Nakkeerans, et Zhang, Y., (2005). Biosynthesis Of Antibiotics By PGPR and Its Relation In Biocontrol Of plant Disease, in Siddiqui, Z.A., : PGPR: Biocontrol and Biofertilization. (ed.), Springer. Printed in the Netherlands. Pp67-109
- 88. Bending, G.D, (2003). The rhizosphere and its microorganisms. In: Thomas B, Murphy DJ, Murray BG, eds. Encyclopaedia of applied plant sciences, London: Academic Press, 2003, pp.1123–1129.
- 89. Loper, J.E, Haak, C, Schroth, M.N, Population dynamics of soil *Pseudomonads* in the rhizosphere of potato (Solanum tuberosum L). Appl Environ .Microbiol N°49, 1985, pp. 416-422.
- 90. Misko, A.L. and Germida, J.J, Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola, FEMS Microbiol. Ecol, N° 42, 2002, pp. 399 407.

- 91. Pacheco, C.C, Passos, J.F, Moradas-Ferreira, P and De Marco. P, Strain PM2, a novel methylotrophic fluorescent Pseudomonas sp, FEMS Microbiol. Lett, N° 227, 2003, pp. 279 285.
- 92. Bais, H., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R.M., et Vivanco, J.M., (2004). How plants communicate using the underground information superhighway. TRENDS in Plant Science Vol.9 No.1. Pp 26-32.
- 93. Rokade, S.M and Patil, P, «Phosphate solubilizing microorganisms: a review», In: «Journal of Maharashtra», Agricultural Universities, vol. 18, N° 1, 1993, pp. 93 101.
- 94. Whitelaw, M. A, «Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi», Advances in Agronomy. vol. 69, 2000, pp. 99 151.
- 95. Rahman, K.M, and Majid-Khan. S, «Effects of root-dip treatment with certain phosphate solubilizing microorganisms on the fusarial wilt of tomato», Bioresource Technology, vol. 85, 2002, pp. 213-215.
- 96. Saharan, B.S., et Nehra, V., (2011). Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A CriticalReview. Life Sciences and MedicineResearch, Volume 2011: LSMR-21. Pp 1-
- 97. Mirleau, P., Philippot, L., Corberand, T., Lemanceau, P., (2001). Involvement of Nitrate Reductase and Pyoverdine in Competitiveness of Pseudomonas fluorescens Strain C7R12 in Soil. Applied And Environmental Microbiology, Vol. 67, No. 6, p. 2627–2635.
- 98. Sowmya, D.S., Rao, M.S., Manoj Kumar, R., Gavaskar, J., and Priti, K., (2012) Bio-Management Of *Meloidogyne incognita* and *Erwinia carotovora* in carrot (*Daucus carota L.*) using *Pseudomonas putida* and *Paecilomyces lilacinus*. Nematol. medit. (2012), 40: 189-194
- 99. Anwar-ul-Haq, M., Anwar, A., S., Shahid, M., Javed, N., Khan S.A., and Mehamood K., (2011). Management of Root Knot Nematode Meloidogyne incognita by Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Tomato. Pakistan J. Zool., vol. 43(6), pp. 1027-1031.
- 100.Kloepper, J.W., Rodrguez-Kbana, R., Mcinroy, J.A. and Collins, D.J., (1991). Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms in rhizospheres of plants with antagonistic properties to phytopathogenic nematodes. Pl. Soil, 136:95–102.

- 101.Kokalis-Burelle, N. and Dickson, D.W., (2003). Effects of soil fumigants and bioyieldtm on root knot nematode incidence and yield of tomato. Proc. Int. Res. Conf. Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions, 50: 1–50.3.
- 102. Kloepper, J.W., Rodriguez-Kabana, R., Kenney, D.S., Reddy, M.S., Martinez-Ochoa, N., Kokalis-Burelle, N. and Arthur, K., (1999). Development of an integrated biological approach to develop transplants suppressive to various plant diseases. Phytopathology, 89:S40.
- 103. Siddiqui, I.A., Ehetshamul-Haque, S. and Shaukat, S.S., (2001). Use of rhizobacteria in the control of root knot disease complex of mungbean. J. Phytopathol., 149:337–346.
- 104. Ali, N.I., I.A. Siddiqui, S.S. Shaukat and M.J. Zaki, 2002. Nematicidal activity of some strains of Pseudomonas spp. Soil Biology and Biochemistry, 34: 1051-1058.
- 105. Siddiqui, I. A. and Shaukat, S. S., 2002. Resistance against damping-off fungus Rhizoctonia solani systematically induced by the plant-growth-promoting rhizobacteria Pseudomonas aeruginosa (1E-6S (+)) and fluorescens (CHAO). J. Phytopathol., 150:500-506.
- 106.Li, W., Roberts, D.P., Dery, P.D., Meyer, S.L.F., Lohrke, S., Lumsden, R.D. and Hebbar, K.P., (2002). Broad spectrum anti-biotic activity and disease suppression by the potential biocontrol agent Burkholderia ambifaria BC-F. Crop Prot., 21:129–
- 107.Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. and Barka, E.A. (2005) Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl. Environ. Microbiol. 71: 4951-4959.
- 108. Schroth, M.N., Hildebrand, D.C. and Panopoulos, N., 1992. Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated pseudomonads. In: *The Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, pp. 3104-3131.
- 109. Dardanelli MS, Carletti SM, Paulucci Ns, Madeot DB, Rodriguez Caceres EA, Vita FA, Bueno M, Fumero MV And Garcia MB, (2010). Benefits of plant growth-promoting rhizobctaria and rhizobia in agriculture. Pp: 1-2
- 110. Kloepper J. W., Lifshitz, R., Schroth, M. N., (1988). Pseudomonas Inoculants to Benefit Plant Production. ISI ATLAS OF SCIENCE 0894-3761.pp 60-64

- 111.Khan, A., Shaukat, S.S., Islam, S., and Khan A., (2012). Evaluation of Fluorescent Pseudomonad Isolates for Their Activity Against Some Plant-Parasitic Nematodes. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 12 (11). pp1496-1506,
- 112.Cronin, D., MoenneLoccoz, Y., Fenton, A., Dunne, C., Dowling, D. N., and Ogara, F., (1997). Role of 2,4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode Globodera rostochiensis. Applied and Environmental Microbiology 63:1357–1361.
- 113. Siddiqui, I. A., and Shaukat, S. S. (2003). Suppression of root-knot disease by Pseudomonas fluorescens CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylpholoroglucinol. Soil Biology & Biochemistry 35:1615–1623.
- 114. Swarnakumari, N., Lakshmanan, P.L., 1999. Effect of organic amendments and *Pseudomonas fluorescens* on rice root nematode, Hirschmanniella oryzae. International Seminar on Integrated Pest Management. held at Hyderabad, India, p. 101.
- 115. Spiegel, Y., Cohn, E., Galper, S., Sharon, E., Chet, I., (1991). Evaluation of a newly isolated bacterium, Pseudomonas chitinolytica sp. nov., for controlling the root-knot nematode Meloidogyne javanica. Biocontrol Sci. Technol. 1, 115}125.
- 116.Gallagher, L.A., and Manoil, C., (2001). *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 kills *Caenorhabditis elegans* by cyanide poisoning. Journal of Bacteriology, 183: pp 6207-6214.
- 117. Voisard, C., Keel, C., Haas D., and Défago, G., (1989). Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. EMBO. Journal, 8: 351-358.
- 118. Siddiqui, I.A., D. Hass and S. Heeb, (2005). Extracellular protease of Pseudomonas fluorescens CHAO, a biocontrol factor with activity against root-knot nematode, Meloidogyne incognita, Applied and Environmental Microbiology, 71: 5646-5649.
- 119. Siddiqui, I.A., S.S. Shaukat and S. Dutt, (2005). Expolysaccharide over producing variant of Pseudomonas fluorescens strain CHAO enhances tolerance to various environmental stresses in vitro but does not improve

- Meloidogyne javanica biocontrol in tomato. International Journal of Biology and Biotechnology, 2: 729-736.
- 120. Anita, B., and Samiyappan, R., (2012). Induction of systemic resistance in rice by Pseudomonas fluorescens against rice root knot nematode Meloidogyne graminicola. Management of nematode using bacteria, JBiopest, 5 (Supplementary): 53-59
- 121. Swarnakumari, N. (1996). Effect of chitin amendments and Pseudomonas fluorescens (Migula) on rice-root nematode. Hirschmanniella oryzae (Van Breda de hann, 1902) Luc and Goodey, 1963 in rice cv. ADT 38 (Oryza sativa L.) M.Sc.(Agric.) Thesis, TNAU, Coimbatore, India. 99P.
- 122. Rahimi, S., Wright, D. J., and Perry, R. N. (1998). Identification and localization of chitinase induced in the roots of potato plants infected with the potato cyst nematode Globodera pallida. Fundamental and Applied Nematology, 21: 705-713.
- 123. Dalisay, R. F., and Kuc, J. A., (1995). Persistence of reduced penetration by Colletotrichum lagenarium into cucumber leaves with induced systemic resistance and its relation to enhanced peroxidase and chitinase activity. Physiological and Molecular Plant Pathology, 47: 329-338.
- 124. Velazhahan, R., Samiyappan, R. and Vidhyasekaran, P. (1999). Relationship between antagonistic activity of Pseudomonas fluorescens isolates against Rhizoctonia solani and their production of lytic enzymes. Journal of Plant Disease Protection, 106: 244-250.
- 125.Chin-A-Woeng. T. F, Bloemberg. G. V, and Lugtenberg. B. J, «Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria». New. Phyto. N° 157, 2003, pp.503-523.
- 126. Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M. (2005) Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. In PGPR: biocontrol and biofertilization. Siddiqui, Z.A. (ed.) Dordrecht, The Netherlands: Springer Science, pp. 39-66.
- 127. Ongena, M. and Thonart, P. (2006) Resistance induced in plants by non-pathogenic microorganisms: elicitation and defense responses. In Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues (1st edition). Teixeira da Silva, J.A. (ed.) Japan: Global Science Books, pp. 447-463.

- 128.Weller, D.M., Van Pelt, J.A., Mavrodi, D.V., Pieterse, C.M.J., Bakker, P.A.H.M. and Van Loon, L.C. (2004) Induced systemic resistance (ISR) in Arabidopsis against Pseudomonas syringae pv. tomato by 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing Pseudomonas fluorescens. Phytopathology 94: S108.
- 129.Moenne-Loccoz, Y., Tichy, H.V., O'Donnell, A., Simon, R., and O'Gara, F., Impact of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* F113 on intraspecific diversity of resident culturable fluorescent pseudomonads associated with the roots of field-grown sugar beet seedlings». Appl Environ Microbiol, N° 67, 2001, pp. 3418-3425.
- 130. Briat, J.F et Vert. G, (2004). Acquisition et gestion du fer par les plantes, Cahier d'agriculture, vol.13, N° 2, 2004, pp. 183 201.
- 131.Crowley, E, Reid, C.P.P, Szaniszlo, P.J, Microbial siderophores as iron sources for plants, Mon transport in microbes plants and animals, Winkelmann, G., Van der Helm, D., Neilands, J.B, eds, Weinheim, 1987, pp. 375-385.
- 132. Marschner, H, «Mineral nutrition of higher plants», London: Academic Press, 1997, pp. 889.
- 133. Welle, D.M, Raaijmakers. J.M, Gardener. M, and Thomashow. L.S, «Microhial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens», Annu Rev Phytopathol, vol. 40, 2002, pp. 309-348.
- 134. Grimes. H.D and Mout. M.S, «Influence of Pseudomonas putida on nodulation of Phaseolus vulgaris», Soil Biol Biochem, N° 6, 1987, pp. 27 30.
- 135. Raaijmakers, J.M., Vlami, M. and De Souza, J.T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. Antonie Van Leeuwenhoek 81: 537-547.
- 136. Anderson. A.J, Habibzadegah-Tari. P and Tepper. C.S, «Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida». Appl. Environ. Microbiol,* N° 54, 1988, pp. 375–380
- 137. Phillips. D.A, Streit. W.R, «Applying plant-microbe signaling concepts to alfalfa: roles for secondary metabolites». In: Mckersie. B.D, Brown. D.C.W. (Eds), «Biotechnology and Improvement of Forage Legumes». CAB International, University Press, Cambridge, 1997, pp. 319–342.
- 138. Seong. K.Y, Hofte. M, Boelens. J and Verstraete. W, «Growth, survival and root colonization of plant growth beneficial *Pseudomonas fluorescens* ANP15

- and *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 at different temperatures». *Soil Biol. Biochem,* N° 23, 1991, pp. 423–428.
- 139. Hammache, M., (2010) Influence de quelques types de sols Algeriens sur le développement des nématodes a galles ; *Meloidogyne incognita, M. javanica* et *M. arenaria* (*TYLENCHIDA, MELOIDOGYNIDAE*). Lebanese Science Journal, Vol. 11, No. 2, 2010. Pp 47-61.
- 140. James, B., Atcha-Ahowe, C., Godonou, I., Baimey, H., Goergen, G., Sikirou, R., et Toko, M., (2010). Gestion intégrée des nuisibles en production maraîchère: guide pour les agents de vulgarisation en Afrique de l'ouest. ED: institut international d'agriculturetropicale, Nigeria, IITA. Pp 43.