

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

UNIVERSITE DE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention
Du diplôme de Master II en science de la nature et de la vie
Spécialité : Biologie des interactions Plantes-Microorganismes (BIPM)

Thème :

ESSAIS DE BIOCONTROLE DE LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU PETIT
POIS VIS-A-VIS DE *FUSARIUM OXYSPORUM*

Présente par :

M^{elle}. AOUF zohra et M^{elle}. EL MELALI kawther

Soutenu devant le jury :

M ^{me} AMMAD F.	M.C.B	USDB ₁	Président de jury.
M ^r . BENCHABANE M.	Pr	USDB ₁	Promoteur.
M ^{me} BENOUSSAID N.	M.A.A	USDB ₁	Co-promotrice.
M ^{me} BENSALIM F.	M.A.A	USDB ₁	Examinatrice.
Mme BRAHIMI L.	M.A.B	USDB ₁	Examinatrice.

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2014/2015

REMERCIEMENT

Tout d'abord nous remercions le bon **Dieu** tout puissant de la bonne santé, la volonté et la patience qu'il nous a donné tout le long de la période de nos études.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances et gratitude à toutes les personnes qui ont apporté leur aimable contribution à ce travail par leurs remarques, leurs conseils, leurs encouragements et leurs compétences et en particulier :

Mr **BENCHABANE Messaoud**, notre encadreur, non seulement pour l'aide très précieuse qu'il nous a apporté, mais aussi pour son enthousiasme communicatif, sa patience et sa totale disponibilité pour l'encadrement de ce travail.

Mlle **BENOUSSAID N**, Co- promoteur de ce travail, pour nos avoir guidées et soutenues.

Mr **AMAD F** pour l'honneur qu'il nous a fait en président ce jury

Melle **BENSAID F et BRAHIMI L** pour avoir accepté l'évaluation de ce mémoire et d'en être l'examinatrice.

Je remercie tous les travailleurs de laboratoire pédagogique de Mycologie et Virologie du département des biotechnologies sans exception et surtout Mm **DJAMILA**.

Enfin je remercie toutes les personnes qui m'ont aidé, de près ou de loin.

DEDICACE

Je dédie l'apanage de cet écrit : Aux plus chères à mon cœur et lumière de mon âme, mes parents, que je profite pour les remercier pour tout : **Ma mère** et **Mon père**

A mes chers grands parents.

A mes frères **Abdenour, Rabie, Abderahmen** et **Mehdi**.

A mon unique sœur **Hafssa**.

A mes chères cousines **Aicha** et **Meriem**.

A mes oncles et ma tante

A mon binôme et mon amie : **El melali kawter**

A mes amies : **Dalila, Meriem, Imen, Mounia**.

A tous les étudiants de **mon promo** de « **BIPM** ».

A tous ceux que j'aime.

Zahra

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

- ❖ Aux personnes les plus proches à mon cœur, qui n'ont jamais cessé de m'encourager et de me pousser vers la réussite :

Ma mère et mon père

- A ma très chère sœur : **Ikram.**
- A mes chers cousins et mes chères cousines.
- A toute ma famille.
- A mon binôme et mon amie : **Aouf zohra**
- A tous les étudiants de mon promo de **BIPM**
- A tous ceux que j'aime.

LISTE DES ABRÉVEATIONS

AUDPC	Area Under the Disease Proress Curve
f.sp.	Forme special
FAO	Food and Agriculture Organization of United Nations
Fop	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.pisi
G	Grossissement
min	Minute
ml	Mililitre
rpm	Rotation par minute
ssp	Sous espèce
VIS	Visual Index of Severity
°C	Degré celsius

LISTE DE TABLEAUX

Tableau 1 : Les micro-organismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA).....	5
Tableau 2 : principales molécules toxiques synthétisées par certaines souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> et <i>Pseudomonas putida</i>	13
Tableau 3 : Exemples de rhizobactéries induisant l'ISR dans divers pathosystèmes.....	14
Tableau 4 : Les Traitement avec les trois génotypes étudiés.	33
Tableau 6 : Taux d'infection du génotype messire.....	46
Tableau 7 : Le taux d'infection du génotype sefrou.....	47
Tableau 8 : Le taux d'infection du génotype kelvedon.....	49
Tableau 9 : La sévérité du génotype messire.....	50
Tableau 10 : La sévérité du génotype sefrou.....	52
Tableau 11 : La sévérité du génotype kelvedon.	53
Tableau 12: poids frais du trois génotype de petits pois en interaction avec les souches BB10 et F21.....	57

LISTE DE FIGURES

Figure 1 : Le marché mondial des biopesticides et des pesticides synthétiques, 2003-2010.....	7
Figure 2 : Le marché mondial des biopesticides microbiens en 2005.....	7
Figure 3 : caractères microscopiques de <i>F. oxysporum</i>	20
Figure 4 : Composition de la production mondiale de légumineuses à grains en.....	28
Figure 5 : Actions de production de pois secs pour les dix premiers pays producteurs dans le monde en 2013.....	29
Figure 6 : Les étapes de l'inoculation bactérienne.....	32
Figure 7 : Procédure d'inoculation avec la suspension fongique.....	32
Figure 8 : L'échelle de suivie du développement de la maladie.....	35
Figure 9 : Essai en plein champ au niveau de la station expérimentale.....	37
Figure 10 : Expression symptomatologique sur le génotype messire en interaction avec la souche Fop R2F42.	39
Figure 11 : Expression symptomatologique sur le génotype messire en interaction avec la souche Fop Arg1.....	40
Figure 12 : Expression symptomatologique sur le génotype sefrou en interaction avec la souche Fop R2F42.....	41
Figure 13 : Expression symptomatologique sur le génotype sefrou en interaction avec la souche Fop R2F42.....	42
Figure 14 : Expression symptomatologique sur le génotype kelvedon en interaction avec la souche Fop R2F42.....	43
Figure 15 : Expression symptomatologique sur le génotype kelvedon en interaction avec la souche Fop R2F42.....	44
Figure 16 : Expression symptomatologique interne de génotype messire avec la souche R2F42.....	45
Figure 17 : Taux d'infection du génotype messire.....	46
Figure 18 : Le taux d'infection du génotype sefrou.....	48
Figure 19 : Le taux d'infection du génotype kelvedon.....	49

Figure 20 : Valeur de VIS de géotype Messire 31 jours après l'inoculation avec les deux souches fongiques (Fop R2F42, Fop Arg1) et les deux souches bactériennes (BB10, F21).....	51
Figure 21: Valeur de VIS de géotype Séfrou 31 jours après l'inoculation avec les deux souches fongique (Fop R2F42, Fop Arg1) et les deux souches bactériennes (BB10, F21).....	52
Figure 21 : Valeur de VIS de géotype kelvedon 31 jours après l'inoculation avec les deux souches fongiques (Fop R2F42, Fop Arg1) et les deux souches bactériennes (BB10, F21).....	53
Figure 22 : L'AUDPC du trois géotype du petit pois.....	54

Essais de biocontrôle de la fusariose vasculaire du petit pois vis-a-vis de *Fusarium oxysporum*

Résumé

Fusarium oxysporum est un champignon d'origine tellurique très ubiquiste, qui présente une très grande diversité génétique et écologique et qui a la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales cultivées d'intérêt économique.

Notre travail a pour but d'expérimenter les potentialités antagonistes *in situ* sous serre de deux souches rhizobactérienne du genre *Pseudomonas* en interaction avec *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi. Les essais de biocontrôle ont été conduits avec trois génotypes (messir,sefrou et kelvedon). Le taux d'infection, le VIS (Visuel Index of Severity) et l'AUDPC (Area Under Disease Progress Curve), sont les paramètres utilisés pour évaluer le développement et la progression de la maladie.

Les réponses des 3 génotypes ont été différentielles selon les souches du *Pseudomonas* et de *Fop* utilisées. Suivant les valeurs du taux d'infection, de VIS et l'AUDPC, nous avons pu remarquer que la souche antagoniste BB10 a une forte activité antagoniste et elle est plus efficace à réduire la maladie par rapport à la souche antagoniste F21. En parallèle, un autre essai de comportement de ces mêmes génotypes a été mené en plein champ en conditions naturelles. Les réponses des 3 génotypes ont été différentielles selon les souches du *Pseudomonas* et de *Fop* utilisées. Nous avons pu remarquer que les deux souches antagonistes a un effet de phytostimulation sur les différentes parties du plante.

Mots clés : Biocontrôle, *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi, *Pseudomonas spp. Fluorescents*, PGPR.

Biocontrol tests in fusarium wilt of pea toward the *Fusarium oxysporum*

Abstract

Fusarium oxysporum is a very land-ubiquitous fungus, which has very high genetic and ecological diversity and has the ability to cause disease in many crop plants of economic interest.

Our work is in order to test in situ the potential antagonists in a greenhouse of two rhizobacterial strains of the genus *Pseudomonas* in interaction with *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi. Biocontrol tests were conducted with three genotypes (messir, sefrou and kelvedon). The rate of infection, VIS (Visual Index of Severity) and the AUDPC (Area Under Disease Progress Curve), are the parameters used to evaluate the development and progression of the disease.

The responses of the three genotypes were differential according to the strains of *Pseudomonas* and Fop used. According to the values of the rate infection and VIS and the AUDPC, we noticed that the BB10 antagonist strain has a strong antagonistic activity and it is effective in reducing the disease compared with the F21 antagonistic strain. In parallel, another performance test of these same genotypes was conducted in the field under natural conditions. The responses of the three genotypes were differential according to the strains of *Pseudomonas* and Fop used. We noticed that the two antagonist strain has a phytostimulation effect on the different part of plant.

Keywords: Biocontrol, *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi, *Pseudomonas* spp. *Fluorescents*, PGPR.

المكافحة الطبيعية ضد الذبول الفوزاري للباذلاء بالتفاعل مع *Fusarium oxysporum*

ملخص

الفوزاريوم اوكسيبوروم هو نوع من الفطريات البرية، والتي لديها تنوع وراثي وبيئي عالي جدا ولديه القدرة على تسبب المرض في كثير من النباتات ذات الاهمية الاقتصادية.

يهدف عملنا الى معرفة شدة مكافحة سلالتين من البكتريا من نوع البسودوموناز ضد الذبول الفوزاري لثلاثة (ميسير، كلفيدون ، سفرو). نسبة الاصابة ، شدة المرض، منحى تطور المرض ، هم المقاييس المستعملة لتقييم تطورو تقدم المرض . استجابات الثلاث انماط الوراثة كانت متباينة حسب سلالة الفطر والبكتريا . وفقا لقيم المقاييس المستعملة، استطعنا انا نستنتج ان النمط الوراثي للسلالة بيبي 10 تخفيض شدة المرض من السلالة الثاني.

موازاة مع ذلك، قمنا بتجربة نفس الانماط الوراثة للباذلاء في الميدان تحت ظروف طبيعية (). قوة تاثر سلالتي البكتيريا كانت مختلفة في تحفيز النمو في مختلف اعضاء النبتة.

الكلمات المفتاحية : *Pseudomona ssp fluorescents, PGPR , Fusarium oxysporum f.sp pisi,*

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

Partie I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. BIOPESTICIDES MICROBIENS.....	3
1.1. Généralités.....	3
1.2. Marché mondial des biopesticides.....	4
2. LES PGPR DANS LE BIOCONTROLE.....	6
2.1. Généralités.....	6
2.2. Effets bénéfiques sur les plantes.....	8
2.2.1. Effets directe.....	8
2.2.1.1. Fixation d'azote	8
2.2.1.2. Solubilisation des phosphates.....	9
2.2.1.3. Production des sidérophores.....	9
2.2.1.4. Production des régulateurs de la croissance végétale.....	9
2.2.1.5. Production d'acide 1- Aminocyclopropane -1- carboxylique désaminase (ACC- désaminase).....	10
2.2.1.6. Résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance).....	10
2.2.2. Effets indirects.....	10
2.2.2.1. Compétition pour l'espace et les nutriments.....	10
2.2.2.2. Antibiose.....	11
3. LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU PETIT POIS.....	17
3.1. Historique.....	17

3.2. Agent causal.....	18
3.2.1. <i>Fusarium oxysporum</i>.....	18
3.2.1.1. Taxonomie et écologie.....	18
3.2.1.2. Caractéristiques morphologiques.....	19
3.2.1.3. Caractéristiques pathogénique.....	20
3.2.1.4. Processus d'infection.....	21
3.2.2. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.<i>pisi</i> « Fop ».....	22
3.2.2.1. Symptômes.....	22
3.2.2.2. Épidémiologie et le contrôle de la maladie.....	23
3.3. Plante hôte.....	25
3.3.1. Origine.....	25
3.3.2. Définition, Classification et Taxonomie.....	26
3.3.3. Production mondiale et utilisation.....	27

Partie II. MATERIELS ET METHODES

1. Matériel biologique.....	30
1.1. Matériel végétal.....	30
1.2. Souches pathogènes.....	30
1.3. Souches antagonistes.....	30
2. Essais de biocontrôle en conditions semi-contrôlées.....	30
2.1. Préparation et stérilisation des graines.....	30

2.2. Purification et préparation de la suspension bactérienne.....	31
2.3. Purification et préparation de la suspension fongique.....	31
2.4. Procédure d'inoculation.....	31
2.5. Dispositif expérimental.....	31
2.6. Paramètres étudiés.....	33
2.6.1. Caractérisation des symptômes externe.....	33
2.6.1.1. Description des symptômes.....	33
2.6.1.2. Taux d'infection.....	34
2.6.1.3. Sévérité.....	34
2.6.1.4. Courbe des aires de propagation de la maladie (AUDPC).....	35
2.6.2. Caractérisation des symptômes interne.....	35
3. Essai de comportement en plein champ.....	36
3.1. Inoculation bactérienne des graines.....	37
3.2. Semis des graines.....	37

Partie III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. ESSAI SOUS SERRE.....	38
1.1. Expression symptomatologique.....	38
1.1.1. Symptômes externes.....	38
1.1.2. Symptômes internes.....	38
1.2. Taux d'infection.....	45

1.2.1. Génotype messire.....	45
1.2.2. Génotype sefrou.....	46
1.2.3. Génotype kelvedon.....	48
1.3. Sévérité.....	49
1.3.1. Génotype messire.....	49
1.3.2. Génotype sefrou.....	51
1.3.3. Génotype kelvedon.....	52
1.4. L’AUDPC.....	54
1.4.1. Génotype messire.....	55
1.4.2. Génotype sefrou.....	55
1.4.2. Génotype kelvedon.....	56
2. ESSAI EN PLEIN CHAMP.....	57
3. DISCUSSION.....	58

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

INTRODUCTION

Les micro-organismes bénéfiques de la rhizosphère incluent aussi bien les Symbiotiques (rhizobium, certaines actinomycètes, et les champignons mychorizae), ainsi que les saprophytes qui augmentent la disponibilité des nutriments ou les substances nécessaires (Schippers et *al.*, 1987) à la croissance des plantes, ou encore la suppression des parasites et des pathogènes non parasites. Ces micro-organismes sont dits PGPR (plant growth promoting rhizobacteria)(Schippers et *al.*, 1987, Thomashow et Weller, 1993).

L'Effet des PGPR sur la croissance s'exerce sur l'inhibition des agents phytopathogènes (Schippers et *al.*, 1987) ou par l'action de stimulation directe sur la plante (Thomashow et Weller, 1993). En effet, certains sols sont connus pour leur suppression naturelle vis-à-vis des *Fusariums* ; c'est la microflore du sol qui est responsable de cette suppression (Lemanceau et *al.*, 1992).

Plusieurs genres de champignons telluriques sont capables d'infecter les racines de plantes, sauvages ou cultivées, et de causer des dégâts importants, notamment *Rhizoctonia*, *Verticilium* et *Fusarium*. L'ensemble de ces microorganismes provoque des maladies dites de pourriture racinaire, ou de flétrissement, dû à l'obstruction des vaisseaux conducteurs (Agrios, 2005). Les espèces de *Fusarium* provoquent des maladies qui entraînent des pertes économiquement importantes, comme le flétrissement vasculaire ou la pourriture racinaire et du collet chez des plantes cultivées au champ et sous serre (Fravel et al, 2003).

Fusarium oxysporum Schlecht. (Snyder et Hansen, 1940) est l'espèce la plus répandue, c'est un champignon du sol capable de survivre longtemps sous forme de chlamydospores (Agrios, 2005). Il peut infecter un grand nombre de plantes, souvent de façon très spécifique. Plus de 120 forma spéciales et races ont été ainsi identifiées, basées sur leur spécificité avec les hôtes (Van Loon, 2007). La forme spéciale *Fusarium oxysporum f.sp.pisi* est connue par son action vasculaire provoquant le flétrissement fusarien du petit pois. Cette maladie comme les autres tracheomycoses reste très difficile et même impossible à contrôler par les méthodes de lutte chimique.

Durant le dernier siècle, une somme considérable de recherche a maintes fois démontré que plusieurs microorganismes de diverses origines phylogénétiques sont capables d'inhiber différents agents pathogènes. Les interactions plante - microorganismes sont complexes et celles menant au biocontrôle peuvent inclure l'antibiose, la compétition, l'induction des mécanismes de défense de la plante et la prédation (Benizri et *al.*, 2001). Au niveau de la rhizosphère et du contrôle des agents pathogènes telluriques, la lutte se fait principalement via des bactéries appartenant aux genres *Streptomyces*, *Bacillus*, *Agrobacterium* et *Pseudomonas* et des champignons des genres *Ampelomyces*, *Candida*, *Coniothyrium* et *Trichoderma*. La majorité des études montrent que de 1 à 10% des isolats du sol peuvent avoir un certain pouvoir antagoniste *in vitro*, mais de ce nombre, très peu ont la capacité de supprimer les agents phytopathogènes dans divers sols et conditions de croissance et encore un plus petit nombre encore est capable d'inhiber un large spectre d'espèces pathogènes (McSpadden Gardener and Fravel, 2002).

L'objectif de ce travail est d'expérimenter les potentialités antagonistes *in situ* sous serre de deux souches rhizobactérienne, du genre *Pseudomonas* en interaction avec *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi. Les essais de biocontrôle ont été conduits avec trois génotypes (messir,sefrou et kelvedon). Un autre essai de comportement de ces mêmes génotypes a été mené en plein champ en conditions naturelles au niveau de la station expérimentale de l'université de Blida1.

Partie I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Biopesticides microbiens

1.1. Généralités

Les agents biotiques (ravageurs et parasites) sont responsables, chaque année, de la perte de 20 à 40% du rendement des cultures avant récolte, et entre 1 et 20% après récolte aux USA (Wojcieh et Lise, 2002). Actuellement, ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont utilisés pour lutter contre ces agents ravageurs. Ces produits chimiques sont considérés comme l'arme la plus efficace pour faire face à ces problèmes, mais ces substances ont des conséquences néfastes (Kouassi 2001; Thakore, 2006) sur :

- l'environnement : comme l'accumulation de résidus et la pollution des sols.
- l'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les pathogènes.

Le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème. Au regard de ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre les phytopathogènes tout en diminuant l'emploi de produits chimiques. Celles-ci peuvent faire appel à la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie...), à l'utilisation de variétés végétales résistantes (croisements sélectifs, insertion de gènes...) ou au développement des biopesticides. Ces biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux, phéromones, etc... (Thakore, 2006).

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore

endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (IPM) (Fravel, 2005; Thakore, 2006). Par exemple, l'intégration du contrôle biologique avec des fongicides, les pratiques culturales, et d'autres mesures peuvent contribuer au contrôle de la rouille sur la tomate (Lourenco Junior et *al.*, 2006).

Les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique, mais peuvent aussi être utilisés dans des situations pour lesquelles aucune solution de contrôle utilisant des produits de synthèse n'est actuellement disponible. Ces agents microbiens sont utilisés à travers le monde dans les champs et dans les serres (Ji et *al.* 2006; Lee et *al.*, 2006; Minuto et *al.*, 2006; Saravanakumar et *al.*, 2007), pour combattre un grand nombre de maladies causées par des pathogènes du sol, foliaires ou de post-récoltes (Tableau 1). Ces produits ont été développés pour contrôler de multiples maladies sur diverses céréales, légumes, fruits et fleurs (Paulitz et Bélanger 2001; Fravel, 2005).

1.2. Marché mondial des biopesticides

Le marché des pesticides synthétiques avait diminué au cours des 5 dernières années grâce au développement des biopesticides et des récoltes génétiquement modifiées. Les biopesticides représentent 2.5% (672 millions \$ en 2005) des ventes de produits phytosanitaires (26 milliards \$) (Figure 1), alors qu'il était seulement de 0.2% en 2000. En dépit de sa petite taille comparée aux pesticides synthétiques, le marché des biopesticides se développe donc et on prédit qu'il atteindra plus d'un milliard de dollars en 2010 (Thakore, 2006).

Actuellement, l'Amérique du nord et l'Europe consomment environ 40% et 20% respectivement de la production mondiale de biopesticides. On s'attend à ce que le marché des biopesticides aux USA monte de 205 millions à 300 millions US\$, et le marché européen d'environ 135 millions jusqu'à 270 millions \$ vers la fin de la décennie. Parmi les biopesticides microbiens, les produits à base de bactéries représentent 74% du marché mondial (Figure 2). Plus de vingt-cinq produits microbiens

Tableau 1 : Les micro-organismes inscrits en tant que biopesticides à l'agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) (Favel, 2005).

Agent de biocontrôle	Année d'enregistrement	organisme ou maladie ciblée	Cultures concernées
<i>Agrobacterium radiobacter</i> strain K84	1979	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Plantes ornementales, fruits, noix
<i>Agrobacterium radiobacter</i> Strain K1026	1999	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> and <i>A. rhizogenes</i>	Plantes ornementales, fruits, noix
<i>Ampelomyces quisqualis</i> isolate M-10	1994	Powdery mildew	Fruits, légumes et plantes ornementales
<i>Aspergillus flavus</i> strain AF36	2003	<i>Aspergillus flavus</i>	Coton
<i>Aspergillus flavus</i> NRRL 21,882	2004	<i>Aspergillus flavus</i>	Cacahuète
<i>Bacillus licheniformis</i> Strain SB3086	2003	Les pathogènes et rouilles foliaires	plantes ornementales et gazon ornemental
<i>Bacillus pumilus</i> Strain GB 34	2002	<i>Rhizocotonia, Fusarium</i>	Soja
<i>Basillus subtilis</i> GBO3	1992	<i>Rhizocotonia, Fusarium Aspergillus</i> et d'autres	Coton, arachides, soja, blé, orge, pois et haricots
<i>Basillus subtilis</i> MBI 600	1994	<i>Rhizocotonia, Fusarium, Alternaria</i> et <i>Aspergillus</i>	Coton, haricot, orge, blé, corn, pois, arachides et soja
<i>Bacillus subtilis</i> Strain QST 713	2000	Pathogènes, pourriture et rouilles foliaires	Cerises, courges, raisins, légumes foliaires, poivres, pommes de terre, tomates et noix
<i>Bacillus subtilis</i> var. <i>amylolique-faciens</i> strain FZB24	2000	<i>Rhizocotonia</i> et <i>Fusarium</i>	arbres d'ombre et des forêts, plantes ornementales et arbustes
<i>Candida oleophila</i> isolate I-182		Maladies après la récolte	Divers fruits, légumes, fleurs, plantes ornementales et d'autres
<i>Coniothyrium minitans</i> CON/M/91-08	2001	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> et <i>Sclerotinia minor</i>	Sol agricole
<i>Gliocadium catenulaum</i> strains JI446	1998	Pathogènes du sol	Légumes, herbes, épices, gazon, arbres et arbustes
<i>Gliocadium virens</i> GL-21	1990	Pathogènes du sol	Plantes ornementales, légumes, coton
Killed <i>Myrothecium verrucaria</i> : fermentation solids and solubles	1996	Nématodes parasite de la plante	Plantes alimentaires, plantes à fibres et plantes ornementales
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> strain 63-28	2001	<i>Pythium, Rhizocotonia solani, Fusarium oxysporum</i>	Légumes et plantes ornementales en serre

(13 bactéries et 12 champignons) sont actuellement inscrits à l'EPA (Fravel, 2005), et parmi eux, 36% ont été enregistrés dans les cinq dernières années. *Bacillus thuringiensis* ou *Bt* est considérée comme la bactérie la plus importante et la plus largement répandue, elle domine le marché des biopesticides microbiens (70%) (Thakore, 2006). Ces souches produisent un mélange de différentes protéines (- endotoxines), et tue spécifiquement une ou quelque espèces de larves d'insecte.

Malgré les avantages de ces agents biologiques, le marché des biopesticides reste toujours limité à cause de certaines contraintes :

- L'effet protecteur est parfois insuffisant par rapport aux produits chimiques (Shishkoff et McGrath, 2002) ou n'est parfois pas constant, dépendant notamment des conditions du milieu (la température, sol, humidité, la plante hôte, pH, etc...) (Larkin et Fravel, 2002; Mendoza Garcia et al., 2003).
- Le coût et le délai sont très élevés pour l'enregistrement en Europe, de même que le coût de la production est élevé pour la plupart des agents de biocontrôle (Fravel et al., 1999).
- Troisièmement, le conditionnement et la formulation sont très difficiles pour des espèces non sporulantes et même parfois pour les espèces sporulantes (Hjeljord et al., 2000; Collins et Jacobsen, 2003).
- D'autre part, les pesticides chimiques peuvent offrir rapidement une activité beaucoup plus efficace, tandis que les biopesticides peuvent avoir besoin de temps après leur application pour commencer à agir.

2. Les PGPR dans le biocontrôle

2.1. Généralités

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol. Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu des substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones... Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, 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. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas*. (Haas et Defago, 2005).

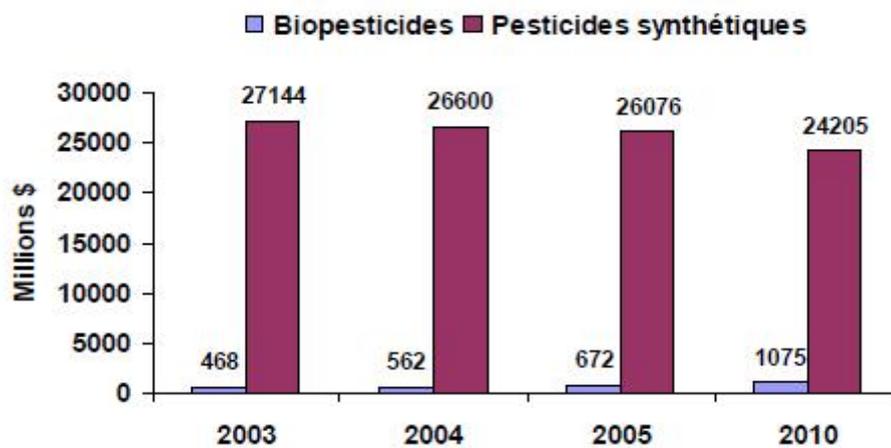


Figure 1 : Le marché mondial des biopesticides et des pesticides synthétiques, 2003-2010 (Thakore, 2006).

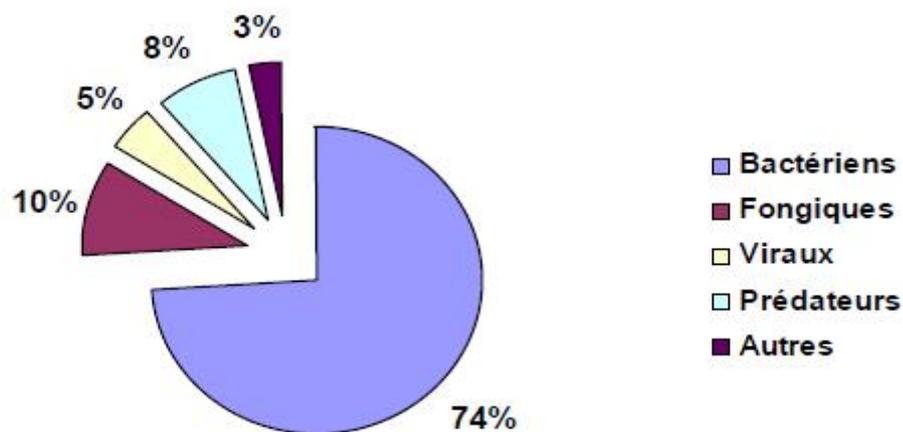


Figure 2 : Le marché mondial des biopesticides microbiens en 2005 (Thakore, 2006).

Beaucoup de recherches se sont concentrées sur ces deux derniers types de bactéries parce qu'ils sont des habitants communs de la rhizosphère et possèdent une grande activité dans le contrôle biologique de maladies liées au sol. Ils ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques, et ils sont faciles à cultiver *in vitro* ou à manipuler en laboratoire. De plus, les bacilles offrent un avantage par rapport aux autres bactéries en raison de leur capacité à former des endospores résistantes au changement des conditions du milieu avantage aussi pour la formulation du produit (Raaijmakers et al., 2002; Cavaglieri et al., 2005).

2.2. Effets bénéfiques sur les plantes

2.2.1. Effets directs

2.2.1.1. Fixation d'azote

Parmi les éléments nutritifs nécessaires, celui qui est le plus souvent limitant pour la croissance des plantes est l'azote. La majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux (N₂) inaccessible aux animaux et aux plantes (Pujic et Normand, 2009). La fixation biologique de d'azote relève uniquement du domaine des procaryotes grâce à la nitrogénase, une enzyme catalysant la réduction d'azote atmosphérique en ammoniac (Weyens et al., 2010). Quelques bactéries fixatrices d'azote sont libres dans la rhizosphère (e.g. *Achromobacter*, *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Azomonas*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Derxia*, *Enterobacter*, *Herba spirillum*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas* et *Xanthobacter*) (Tilak et al., 2005). En revanche d'autres fixatrices d'azote sont symbiotiques et fixent l'azote seulement en association avec certaines plantes. Il s'agit des *Rhizobia* (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*) (Tilak et al., 2005 ; Gray et Smith, 2005) associées aux légumineuses et des souches de *Frankia*, bactéries filamenteuses sporulantes associées à des plantes dites actinorhiziennes (Gray et Smith, 2005).

2.2.1.2. Solubilisation des phosphates

Après l'azote, le phosphore est l'élément le plus limitant pour les plantes qui sont capables seulement d'absorber ses formes solubles mono- et dibasiques (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) (Ramos Solano et al., 2008b ; Keneni et al., 2010). *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus spp.*, *Bradyrhizobium spp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Pseudomonas putida* et *Rhizobium spp.* sont des exemples de bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate inorganique en produisant de l'acide gluconique et l'acide 2- céto gluconique (Khan et al., 2009). Elles sont aussi capables de minéraliser le phosphate organique par l'excrétion des enzymes extracellulaires telles les phosphatases, les phytases et C-P lyases (Kim et al., 1998 in Weyens et al., 2010).

2.2.1.3. Production des sidérophores

Le fer est un élément capital aussi bien pour les bactéries que les champignons et les plantes. Il est abondant dans le sol et se présente sous forme d'oxydes de fer (Fe^{3+}) (Compant et al., 2005), mais il demeure souvent un facteur limitant pour la croissance des bactéries et des plantes. La plupart des microorganismes ont donc développé un mécanisme hautement spécifique afin de l'assimiler via la production de sidérophores. Ce sont des substances de faible poids moléculaire et servant de transporteur de l'ion ferrique Fe^{3+} à l'intérieur de la cellule microbienne (Jacques et al., 1993). *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et de nombreux champignons sont capables de produire ces composés chélateurs de fer (Zahir et al., 2004). Les sidérophores de bactéries rhizosphériques peuvent influencer directement l'alimentation de la plante en fer, comme ils peuvent le rendre ainsi non disponible pour les champignons pathogènes (O'sullivan et O'gara, 1992). Ils jouent également le rôle de chélateurs de métaux rhizosphériques ayant une faible disponibilité pour les plantes tels le Zn et Pb (Dimkpa et al., 2009).

2.2.1.4. Production des régulateurs de la croissance végétale

Il existe cinq catégories des régulateurs de la croissance végétale : les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et l'acide abscissique (Zahir et al., 2004). L'acide indole-3-acétique est la phytohormone la plus répandue, il joue un rôle très

important dans l'élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants (Spaepen et al., 2007). Il est produit par un grand nombre de bactéries tels *Azospirillum brasilense*, *Pseudomonas*, *Xantomonas*, *Rhizobium*, *Enterobacter cloacae* (Karnwal, 2009) *Aeromonas veronii*, *Alcaligenes piechaudii*, *Rhizobium leguminosarum*, *Bradyrhizobium spp.*, *Agrobacterium spp.*, et *Comamonas acidovoransspp.* (Weyens et al., 2010). Les cytokinines et les gibbérellines sont impliquées dans la modification de la morphologie des plantes et dans la stimulation de développement de la partie aérienne (van Loon, 2007).

2.2.1.5. Production d'acide 1- Aminocyclopropane -1- carboxylique désaminase (ACC- désaminase)

L'éthylène est une phytohormone capable de lever la dormance des graines. Elle favorise également la maturation des fruits et déclenche l'abscission des feuilles (Bleecker et Kende, 2000). Cependant, l'élévation de sa concentration (> à 25ug/l) en état de stress causé par les métaux lourds (Belimov et al., 2005), les pathogènes (Wang et al., 2000), la sécheresse (Mayak et al., 2004a), la salinité (Mayak et al., 2004b) et les contaminants organiques (Reed et Glick, 2005) se traduit par une inhibition de la formation des poils et l'élongation racinaire et par conséquent une réduction de la croissance végétale. La diminution de la teneur élevée de l'éthylène peut être réalisée en dégradant son précurseur direct, l'acide 1- Aminocyclopropane -1- carboxylique (ACC), à l'aide de l'ACC-désaminase. Cette enzyme est exprimée chez plusieurs rhizobactéries (e.g. *Alcaligenes spp.*, *Bacillus pumilus*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Methylobacterium fujisawaense*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas spp.*, et *Variovorax paradoxus*). Celles-ci peuvent dégrader l'ACC en - ketobutyrate et en ammonium (Glick et al., 2007).

2.2.1.6. Résistance systémique induite ou ISR (Induced Systemic Resistance)

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-à-vis d'une attaque par un organisme pathogène (van Loon, 2007). Cette « immunisation » de la plante est appelée résistance systémique induite (ISR) (van Loon et al., 2005 ; Jourdan et al., 2008). Ce phénomène d'induction de résistance systémique par les rhizobactéries

est considéré comme une stratégie prometteuse dans la lutte biologique contre les maladies des cultures (Ramos Solano et *al.*, 2008a). L'ISR peut être induite par des microorganismes variés incluent des bactéries à Gram positif comme *Bacillus pumilus*, ou des bactéries à Gram négatif appartiennent au genre *Pseudomonas* (*fluorescens*, *putida*, *aeruginosa*), et aux entérobactéries comme *Serratia* (*marcesens*, *plymuthica*) ou *Pantoea agglomerans* (Tableau 3) (Jourdan et *al.*, 2008).

2.2.2. Effets indirects

2.2.2.1. Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance (Piano et *al.*, 1997; Reyes et *al.*, 2004). Cependant, cette corrélation entre l'importance de la population de PGPR sur les racines et la protection observée n'est dans certains cas pas vérifiée et ne peut donc pas être considérée comme une règle générale.

On a beaucoup discuté l'idée qu'une rhizobactérie à croissance rapide pourrait éliminer les pathogènes fongiques par la compétition pour le carbone et les sources d'énergie. Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant le potentiel colonisateur d'une souche sont la mobilité (présence d'un flagelle) (Jofre et *al.*, 2004), les lipopolysaccharides (LPS), la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Une illustration de l'effet de la compétition pour l'espace concerne la lutte biologique contre le pathogène *Ceratocytis paradoxa* qui est responsable de la maladie de la pourriture noire sur les fruits d'ananas. On a observé que cette maladie a seulement été réduite dans les fruits prétraités avec l'eau de lavage de fruits d'ananas contenant la levure *Pichia guilliermondii*. Ce traitement permet de réduire la germination des spores, la longueur des germes et le poids sec du pathogène *C. paradoxa* et les résultats montrent que le mode d'action de *P. guilliermondii* serait basé sur la compétition pour l'espace et les nutriments parce qu'on n'a observé aucun effet

antagonisme de cette levure lorsqu'elle est appliquée après l'inoculation du pathogène (Reyes et al., 2004).

2.2.2.2. 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. Les souches de *B. subtilis* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants, par exemple : la zwittermycine-A, la kanosamine (Peypoux et al., 1999), des lipopeptides des familles de la surfactine, de l'iturine et de la fengycine (Peypoux et al., 1999; Bonmatin et al., 2003; Lin et al., 2005; Rahman et al., 2007). Certaines souches de PGPR ont la capacité à dégrader les parois cellulaires fongiques à travers la production d'enzymes hydrolytiques tels -1,3-gluconase, exo- et endo-polygalacturonases, pectinolyases, cellulases et chitinases (Whippes, 2001). On a récemment montré un rôle de ces lipopeptides dans l'effet protecteur par une souche particulière de *B. subtilis* contre la fonte des semis des plantes d'haricot provoquées par *Pythium ultimum* (Ongena et al., 2005b), et contre la moisissure grise de la pomme après la récolte (Touré et al., 2004). Les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants impliqués dans le biocontrôle, par exemple l'acide cyanhydrique (HCN), la viscosamide, la pyolutéorine, le 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), la pyrrolnitrine, les phénazines, les butyrolactones, les tensines et les tropolones (Defago, 1993 ; de Souza et al., 2003 ; Haas et Defago, 2005).

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. Ces PGPR montrent non seulement un large spectre de diversité dans le type mais également dans le nombre d'antibiotiques produits (Raaijmakers et al., 2002; McGowan et al., 2005). Par exemple, certaines souches de PGPR ont la capacité d'excréter des métabolites qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénicité comme les toxines. Ainsi, la capacité de certaines bactéries à parasiter et à dégrader les spores des pathogènes à travers la

production d'enzymes détruisant la barrière cellulaire a été démontrée (Whipps, 2001). Une étude récente a démontré que l'espèce de la plante hôte a une influence significative sur la dynamique, la composition et l'activité des espèces antagonistes indigènes spécifiques de *Pseudomonas spp.* (Bergsma-Vlami et al., 2005).

Tableau 2 : principales molécules toxiques synthétisées par certaines souches de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida* (Nadiya. A, 2013).

Les molécules	Les auteurs
Pyrrrolnitrine	Howell et Stipanovic (1979), Ligon <i>et al.</i> (2000)
Pyolutéorine	Ramette <i>et al.</i> 2011 Howell et Stipanovic (1979) Keel <i>et al.</i> (1992)
Phénazines	Weller (1983), Raio <i>et al.</i> (2011) Thomashow et Weller (1988), Pierson et Thomashow (1992) Chin-A-Woeng <i>et al.</i> (1998)
Oomycine A	Howie <i>et al.</i> (1988), Howie et Suslow 1986 Gutterson <i>et al.</i> (1986)
2,4-Diacetylphloroglucinol (DAPG)	Zhou <i>et al.</i> (2012) Ramette <i>et al.</i> (2011) Haas D, Defago G. (2005) Raaijmakers et Weller (2001) Keel <i>et al.</i> (1992) Vincent <i>et al.</i> (1991) Howell et Stipanovic (1979)
Sulfure d'hydrogène	Loper et Schroth (1986), Loper (1988)
Ethylène	Keel <i>et al.</i> (1992)
Acide cyanhydrique (HCN)	Michelsen et Stougaard (2012). Benizri <i>et al.</i> (1995) Digat (1993)
Viscosinamide	Nielsen <i>et al.</i> (1999)
2-heptyl-5-hexylfuran-3-carboxylic acid (HHCA)	Wang <i>et al.</i> (2011)
Butyrolactones	Gamard <i>et al.</i> (1997)
Furanone	Paulitz <i>et al.</i> (2000)

Tableau 3 : Exemples de rhizobactéries induisant l'ISR dans divers pathosystèmes (adapté de Ongena et Thonart, 2006)

genre	souche	Pathosystème (plante hôte/pathogène)	Référence
Gram négatives			
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	89-B-61	Tomate/ <i>Phytophthora infestans</i>	(Yan <i>et al.</i> 2002)
		Tomate/cucumber mosaic virus	(Raupach <i>et al.</i> 1996)
		Tabac/ <i>Peronospora tabacina</i>	(Zhang <i>et al.</i> 2002)
		Arabidopsis/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Ryu <i>et al.</i> 2003)
		Concombre/ Scarabée du concombre	(Zehnder <i>et al.</i> 2001)
<i>P. fluorescens</i>	63-28	Concombre/ <i>P. aphanidermatum</i>	(Chen 1999; 2000)
<i>P. fluorescens</i>	CHAO	Arabidopsis/ <i>Peronospora parasitica</i>	(Iavicoli <i>et al.</i> 2003)
		Tabac/Tobacco necrosis virus	(Maurhofer <i>et al.</i> 1994; 1998)
<i>P. fluorescens</i>	WCS417r	Tomate/ <i>Meloidogyne javanica</i>	(Siddiqui et Shaikat 2003)
		Oeillet/ <i>F. oxysporum</i>	(Van Peer <i>et al.</i> 1991; Van Peer et Schippers 1992)
			(Steijl <i>et al.</i> 1999)
		Arabidopsis/ <i>F. oxysporum</i>	(Pieterse <i>et al.</i> 1996)
		Arabidopsis/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Van Wees <i>et al.</i> 1997; Pieterse <i>et al.</i> 1998; Ton <i>et al.</i> 2002a)
		Tomate/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Duijff <i>et al.</i> 1997)
		Radis/ <i>Alternaria brassicicola</i>	(Hoffland <i>et al.</i> 1996)
		Radis/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Hoffland <i>et al.</i> 1996; Leeman <i>et al.</i> 1996)
		Radis/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Hoffland <i>et al.</i> 1996)
<i>P. fluorescens</i>	WCS374r	Radis/ <i>F. oxysporum</i>	(Leeman <i>et al.</i> 1995a; 1995b; 1996)
		Arabidopsis/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Hase <i>et al.</i> 2003)
<i>P. fluorescens</i>	C15	Concombre/ <i>P. aphanidermatum</i>	(Zhou et Paulitz 1994)
<i>P. fluorescens</i>	S97	Haricot/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Alström 1991)
<i>P. fluorescens</i>	EP 1	Canne à sucre/ <i>Colletotrichum falcatum</i>	(Viswanathan et Samiyappan 2002a; 2002b)
<i>P. fluorescens</i>	PF1	Riz/ <i>Rhizoctonia solani</i>	(Nandakumar <i>et al.</i> 2001)
		Canne à sucre/ <i>Colletotrichum falcatum</i>	(Viswanathan et Samiyappan 2002a; 2002b)
		Thé/ <i>Exobasidium vexans</i>	(Saravanakumar <i>et al.</i> 2007)
<i>P. fluorescens</i>	7-14	Riz/ <i>Magnaporthe grisea</i>	(Krishnamurthy et Gnanamanickam 1998)
<i>P. fluorescens</i>	WR8-3, WR9	Pastèque/ <i>Didymella byroniae</i>	(Lee <i>et al.</i> 2001)
<i>P. fluorescens</i>	A506	Pomme/ <i>Erwinia amylovora</i>	(Momol <i>et al.</i> 1999)
<i>P. fluorescens</i>	sp.	Betterave/ <i>Heterodera schachtii</i>	(Oostendorp et Sikora 1990)
<i>P. fluorescens</i>	sp.	Tomate/ <i>Meloidogyne incognita</i>	(Santhi et Sivakumar 1995)
<i>P. putida</i>	BTP1	Concombre/ <i>P. aphanidermatum</i>	(Ongena <i>et al.</i> 1999; 2000)
		Concombre/ <i>C. lagenarium</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2007b)
		Haricot/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2004; 2005c)

Tableau 3 : (suite 1)

genre	souche	Pathosystème (plante hôte/pathogène)	Référence
<i>P. putida</i>	WCS358	Arabidopsis/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Van Wees <i>et al.</i> 1997; Meziane <i>et al.</i> 2005)
		Arabidopsis/ <i>F. oxysporum</i>	(Van Wees <i>et al.</i> 1997; Meziane <i>et al.</i> 2005)
		Haricot/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Meziane <i>et al.</i> 2005)
	KKM1	Tomate/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Meziane <i>et al.</i> 2005)
		Canne à sucre/ <i>Colletotrichum falcatum</i>	(Viswanathan et Samiyappan 2002a; 2002b)
	89-B-27	Concombre/ <i>C. orbiculare</i>	(Wei <i>et al.</i> 1991)
		Concombre / <i>Pseudomonas syringae</i>	(Liu <i>et al.</i> 1995a)
WR9-16 V14i	Concombre / <i>Fusarium oxysporum</i>	(Liu <i>et al.</i> 1995b)	
	Pastèque/ <i>Didymella byroniae</i>	(Lee <i>et al.</i> 2001)	
<i>P. aeruginosa</i>	7NSK2	Riz/ <i>Magnaporthe grisea</i>	(Krishnamurthy et Gnanamanickam 1998)
		Haricot/ <i>Botrytis cinerea</i>	(De Meyer et Höfte 1997; De Meyer <i>et al.</i> 1999b)
		Haricot/ <i>C. lindemuthianum</i>	(Bigirimana et Höfte 2002)
		Tabac/Tobacco mosaic virus	(De Meyer <i>et al.</i> 1999a)
		Tomate/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Audenaert <i>et al.</i> 2002)
<i>Serratia marcescens</i>	90-166	Riz/ <i>Magnaporthe grisea</i>	(De Vleeschauwer <i>et al.</i> 2006)
		Concombre/ <i>Colletotrichum orbiculare</i>	(Press <i>et al.</i> 2001)
		Concombre/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Press <i>et al.</i> 1997)
		Concombre/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Liu <i>et al.</i> 1995b)
		Tabac/ <i>Peronospora tabacina</i>	(Zhang <i>et al.</i> 2002)
		Arabidopsis/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Ryu <i>et al.</i> 2003)
		Concombre/ Scarabée de concombre	(Zehnder <i>et al.</i> 2001)
<i>Serratia plymuthica</i>	RIGC4	Loblolly pine/ <i>Cronartium quercum</i>	(Enebak et Carey 2000)
		Tomate/cucumber mosaic virus	(Raupach <i>et al.</i> 1996)
		Tomate/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Benhamou et Bélanger 1998)
<i>Pantoea agglomerans</i>	2-67	Concombre/ <i>C. orbiculare</i>	(Wei <i>et al.</i> 1991)
	E278Ar	Radis/ <i>Xanthomonas campestris</i>	(Han <i>et al.</i> 2000)
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	C9-1	Pomme/ <i>Erwinia amylovora</i>	(Momol <i>et al.</i> 1999)
	DN 114	Tomate/Cucumber mosaic cucumovirus	(Zehnder <i>et al.</i> 2000)
<i>Flavomonas oryzaeblans</i>	DNR-5	Concombre/ Scarabée de concombre	(Zehnder <i>et al.</i> 2001)
<i>Rhizobium elti</i>	G12	Pomme de terre/Potato cyst nematode	(Reitz <i>et al.</i> 2002)
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	G12	Pomme de terre/Potato cyst nematode	(Hasky-Günther <i>et al.</i> 1998)
Gram-positives			
<i>Bacillus</i> spp.		Radis/ <i>Xanthomonas campestris</i>	(Krause <i>et al.</i> 2003)
		Tomate/cucumber mosaic virus	(Murphy <i>et al.</i> 2003)

Tableau 3 : (suite 2)

<i>B. subtilis</i>	Bs2500	Tomate/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2007)	
	Bs2508	Tomate/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2007)	
	sp.	Coton/ <i>Meloidogyne incognita</i>	(Sikora 1992)	
	FZB-G	Tomate/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Gupta 2003)	
	GBO3	Concombre/ <i>Erwinia tracheiphila</i> - Scarabée de concombre	(Raupach et Kloeppe 2000)	
		<i>Arabidopsis</i> / <i>Erwinia carotovora</i>	(Ryu <i>et al.</i> 2004)	
	IN937b	Tomate/Cucumber mosaic cucumovirus	(Zehnder <i>et al.</i> 2000)	
		Tomate/tomato mottle virus	(Zehnder <i>et al.</i> 2000)	
	M4 (S499)	Concombre/ <i>Colletotrichum lagenarium</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2005a)	
		Tomate/ <i>Pythium aphanidermatum</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2005a)	
<i>Bacillus pumilus</i>	SE34	Haricot/ <i>Botrytis cinerea</i>	(Ongena <i>et al.</i> 2005b)	
		Tabac/ <i>Peronospora tabacina</i>	(Zhang <i>et al.</i> 2002)	
		<i>Arabidopsis</i> / <i>Pseudomonas syringae</i>	(Ryu <i>et al.</i> 2003)	
		Concombre/Cucumber beetle	(Zehnder <i>et al.</i> 2001)	
		Tomate/Cucumber mosaic cucumovirus	(Zehnder <i>et al.</i> 2000)	
		Tomate/tomato mottle virus	(Murphy <i>et al.</i> 2003)	
		Loblolly pine/ <i>Cronartium quercum</i>	(Enebak et Carey 2000)	
		Petit pois/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Benhamou <i>et al.</i> 1996)	
		Tomate/ <i>Fusarium oxysporum</i>	(Benhamou et Bélanger 1998)	
			Tomate/ <i>Phytophthora infestans</i>	(Yan <i>et al.</i> 2002)
T4	Tabac/ <i>Pseudomonas syringae</i>	(Park et Kloeppe 2000)		
	<i>Arabidopsis</i> / <i>Pseudomonas syringae</i>	(Ryu <i>et al.</i> 2003)		
	Loblolly pine/ <i>Cronartium quercum</i> f	(Enebak et Carey 2000)		
INR-7	Concombre/ Scarabée de concombre	(Zehnder <i>et al.</i> 1997; Zehnder <i>et al.</i> 2001)		
		(Bargabus <i>et al.</i> 2004)		
<i>B. amyloliquifaciens</i>	203-6, 203-7	Betterave/ <i>Cercospora beticola</i>	(Bargabus <i>et al.</i> 2004)	
	IN937	Tomate/Cucumber mosaic cucumovirus	(Zehnder <i>et al.</i> 2000)	
		Tomate/tomato mottle virus	(Murphy <i>et al.</i> 2000)	
		Concombre/ Scarabée de concombre	(Raupach et Kloeppe 2000)	
		<i>Arabidopsis</i> / <i>Erwinia carotovora</i>	(Ryu <i>et al.</i> 2004)	
	EXTN-1	Tabac/pepper mild mottle virus	(Ahn <i>et al.</i> 2002)	
		Concombre/ <i>C. orbiculare</i>	(Jeun <i>et al.</i> 2001)	
		<i>Arabidopsis</i> /pepper mild mottle virus	(Ahn <i>et al.</i> 2002)	
	<i>Bacillus thuringiensis</i>	Berliner	Café/ <i>Hemiteia vastatrix</i>	(Guzzo et Martins 1996)
<i>B. mycoides</i>	BacJ	Betterave/ <i>Cercospora beticola</i>	(Bargabus <i>et al.</i> 2002)	
<i>B. pasteurii</i>	C-9	Tabac/ <i>Peronospora tabacina</i>	(Zhang <i>et al.</i> 2002)	
<i>Bacillus sphaericus</i>	B43	Pomme de terre/Potato cyst nematode	(Hasky-Günther <i>et al.</i> 1998)	
<i>Bacillus cereus</i>	B1	Trèfle blanc/Clover cyst nematode	(Kempster <i>et al.</i> 2001)	
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	B2	<i>Arabidopsis</i> / <i>Erwinia carotovora</i>	(Timmusk et Wagner 1999)	

3. la fusariose vasculaire du petit pois

3.1. Historique

Cette maladie a été décrite pour la première et distinguée de la pourriture des racines par Jones et Linford (1925), qui l'ont nommé la maladie du flétrissement indécrit. A cette époque, la maladie a été trouvée dans 50 champs dans le Wisconsin, et a causé des pertes considérables dans certains domaines que ceux rapportés pour la pourriture des racines. L'agent causal a été initialement nommé *Fusarium othoceras* App et WR var pisi (Linford, 1928). Le pathogène a été nommé plus tard première (1ère) race de *F oxysporum* Schlechtf.sp. pisi (van Hall) Snyder et Hans (Goth et Webb, 1981).

La résistance à cette race a été rapidement trouvée et introduite dans les cultivars de pois menant à la création de variétés résistantes au flétrissement. Wade (1929) a déterminé que la résistance à la race 1 a été attribuée à un seul gène dominant. Avec l'émergence des cultivars résistants, le problème causé par cette race 1 de *Fop* a été résolu aux États-Unis jusqu'en 1972 (Kraft et al., 1974). Depuis lors, les problèmes causés par *Fop* race 1 ne sont pas éliminés, mais la maladie est sous contrôle grâce à la culture de cultivars résistants.

En 1933, Snyder décrit une nouvelle race de *Fusarium oxysporum*, race 2, qui a été capable de flétrir les plantes résistantes à la race 1 (Hagedorn, 1984). Les plantes infectées par la race 2 sont le plus souvent dispersées à travers le terrain plutôt que d'être concentrées dans des zones spécifiques comme la race 1. En outre, la race 2 est la plus répandue dans les sols à texture grossière lorsque les températures du sol sont près de 25 ° C, car les symptômes causés par le pathogène de la race 2 ne se produisent généralement qu'à maturité de la plante, le risque de transmission par les semences est fortement augmentée. Hare et al. (1949) ont déterminé que la résistance à la race 2 a également été contrôlée par un seul gène dominant séparé et pas liée avec le gène de résistance à la race 1. Delwiche Commando a été le premier cultivar développé possédant des gènes de résistance pour les races 1 et 2 (Goth and Webb, 1981).

Les races 3 et 4 ont été décrites dans les Pays-Bas et au Canada, respectivement (Schreuder, 1951; Bolton et al., 1966). Cependant, les races 3 et 4 ont été plus tard considérées comme différents isolats de la race 2 de *Fop* variant seulement dans les niveaux de virulence. Les isolats des races 3 et 4 étant généralement plus virulents que

les isolats de la race 2 (Huebbeling, 1974; Kraft and Haglund, 1978; William et *al.*, 1979; Kraft and Pflieger, 2001).

En 1970, la race 5 a été décrite dans le nord-ouest de Washington (Haglund et Kraft, 1970), où tous les cultivars commerciaux résistant aux races 1 et 2 étaient sensibles. En raison des courtes rotations de cultures et le climat favorable dans cette zone pour le développement du flétrissement. La race 5 se propage rapidement et affecte environ 4 000 à 12 000 ha de pois semés chaque année. La résistance à la race 5 a également été attribuée à un seul facteur de gène dominant dans l'hôte.

En 1979, une nouvelle race de flétrissement a de nouveau été décrite à l'ouest de Washington, pathogène sur les cultivars et lignées résistantes aux races 1, 2 et 5, et a été nommée la race 6 (Haglund and Kraft, 1979). Le pathogène a été observé pour la première fois en 1971, et en 1977 et a été signalée dans environ 175 à 640 champs examinés. L'agent pathogène a été généralisé et les tests de pathogénicité indiquant la présence d'une nouvelle race depuis les différents cultivars possédant le gène de résistance à dominance unique aux races 1, 2 et 5 étaient tous sensibles. Dans les études génétiques, la résistance a été de nouveau attribuée à un seul gène dominant (Kraft, 1994).

Les races 1 et 2 peuvent être économiquement importantes dans la plupart des régions cultivant les pois dans le monde, tandis que les races 5 et 6 peuvent causer des pertes économiques pour les cultures de pois primaire dans les Etat Nord-Ouest de Washington et la Colombie-Britannique (Haglund and Kraft, 1979).

3.2. Agent causal

3.2.1. *Fusarium oxysporum*

3.2.1.1. Taxonomie et écologie

Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois en 1809 .Il regroupe des espèces cosmopolites et peuvent coloniser le sol, l'air et les substances organiques. Les espèces pathogènes aux plantes peuvent infecter aussi bien les parties aériennes que les parties souterraines. Les *Fusariums* sont réponsus dans les zones tropicales, les régions tempérées, les zones désertiques, montagneuses et même arctiques. Le mot *Fusarium* dérive du terme grec « Fusiforme » signifiant enflé au centre et rétréci vers les extrémités correspondant à la forme typique de ces spores (Nelson et *al.*, 1983). Ce genre a été étudié profondément par Snyder et Hansen qui ont suggéré neuf espèces

(Snyder et Hansen, 1945), dont l'espèce *Fusarium oxysporum* est la plus répondeuse à l'échelle mondiale. Les phytopathologistes s'intéressent plus à cette espèce, à cause des dégâts provoqués par les souches pathogènes sur de nombreuses plantes cultivées.

Fusarium oxysporum, est un champignon du sol à reproduction asexuée, classé au sein des champignons imparfaits « Deutéromycètes », appartient à l'ordre des Moniliales, famille de Tuberculariacées. Il se rencontre pratiquement dans la quasi-totalité des sols agricoles (Kistler, 2001). Il regroupe des souches pathogènes et des souches non pathogènes (Nelson et al., 1983; Gordon et Okamoto, 1992).

3.2.1.2. Caractéristiques morphologiques

Sur le plan morphologique, *Fusarium oxysporum*, présente un polymorphisme remarquable du thalle. En se basant sur ce critère, Snyder et Hansen (1940) ont signalé que certains clones et sous clones de la même souche pourraient être classés dans des espèces et même des sections différentes. Ce polymorphisme a été confirmé dans de nombreux travaux (Abawi et Lorbeer, 1965; Awuah et lorbeer, 1988; Dossa, 1993; Henni et al, 1994; Leslie et Summerell, 2006).

En se basant sur les variations culturelles chez cette espèce, Nelson et al (1983), Booth (1985), Djerbi (2003) et Leslie et Summerell (2006), ont défini plusieurs morphotypes: duveteux, fin et frisé; floconneux, cotonneux, ras, muqueux, sporodochial et sclérotial. Cependant, ils ont noté également une variabilité de couleur des talles (rose saumon clair, violète, blanchâtre, brunâtre... etc). Les mêmes auteurs ont montré qu'il n'y a pas de stabilité de ces caractéristiques dans la descendance d'un clone.

Les caractères microscopiques montrent que les spores (microconidies, macroconidies et chlamydospores) impliqués dans la reproduction asexuée (Figure 3), sont des caractères morphologiques stables et spécifiques de l'espèce *Fusarium oxysporum*, permettant l'identification de ses souches (Djerbi, 2003; Leslie et Summerell, 2006; FusKey, 1996):

- Les microconidies sont nombreuses, hyalines, de formes et dimensions très variables (7 -12 x 2-4µ), elles sont unicellulaires ou bicellulaires, globuleuses ou arrondies. Ainsi ils se rassemblent en fausses têtes à partir de monophialides courtes, dressées et perpendiculaires aux filaments.

- Les macroconidies sont rares, elles sont formées de 2 à 3 cloisons, rarement plus, leur taille est variable ($20 - 35 \times 3 - 5 \mu$), caractérisée par une cellule apical de forme effilée et courbée, quelquefois avec un crochet léger.
- Les chlamydospores, sont des formes de résistance, de couleur hyaline, arrondies ou légèrement ovoïdes et de dimension variables ($9- 17 \times 8 - 12 \mu$) ; elles sont formées isolément ou par deux, rarement plus.

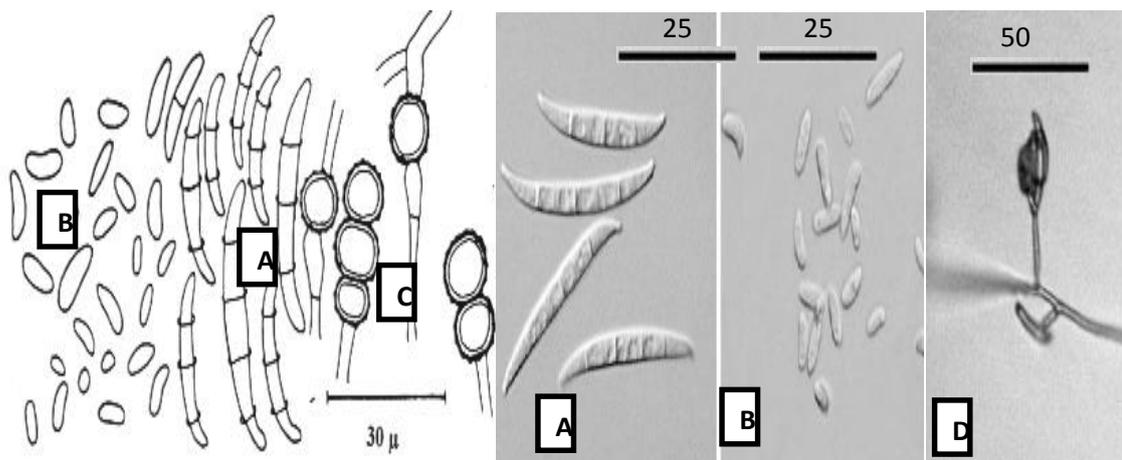


Figure 3 : caractères microscopiques de *F. oxysporum* (A: Macroconidies, B: Microconidies, C: Chlamydospores, D : fausses têtes).(Pereau Leroy, 1958 ; Leslie et Summerell, 2006).

3.2.1.3. Caractéristiques pathogénique

Les formes phytopathogènes ont été étudiées durant plus de cent ans et parasitent plus de 100 espèces de plantes, y compris les angiospermes et les gymnospermes, où chaque forme pathogène a une gamme d'hôte bien déterminée (Armstrong et Armstrong, 1981). Ces formes phytopathogènes sont dénommées formes spéciales (f. sp) « forma spéciale». La forme spéciale est définie comme étant l'ensemble des souches attaquant une même espèce végétale, ou une même gamme d'espèces d'un même genre (Snyder et Hansen, 1940). On compte 122 formes spéciales chez cette espèce selon la liste la plus récente décrite par Armstrong et Armstrong en 1981, à titre d'exemple toutes les souches attaquant le palmier dattier appartiennent à la forme spéciale *albedinis*.

A l'intérieur de chaque forme spéciale, la variation de la virulence est catégorisée par le classement des pathotypes en races pathogénique ou physiologique. Les races sont définies par leur interaction différentielle avec des génotypes de l'hôte, de même ces variétés portent un ou plusieurs gènes majeurs de résistance (Armstrong et Armstrong, 1975). Malgré qu'il existe plusieurs formes spéciales caractérisées en races physiologique tel que, *Fo f.sp. lycopersici, lini, meloni* ...ect, le nombre de races caractérisées pour l'espèce *Fusarium oxysporum* n'est pas large, comparativement avec d'autres pathogènes tel que *Puccinia graminis* et *Phytophthora infestans* (Gordon et Martyn, 1997).

3.2.1.4. Processus d'infection

Dans le pathosystème « plante hôte – pathogène », le champignon dispose de toute une gamme de mécanismes physico-chimiques capables de surmonter les mécanismes de défense du palmier dattier dans la plus part des cas. Le processus d'infection du *Fusarium oxysporum* est constitué de différentes étapes:

- **Germination et adhésion des spores:** Les spores de *F. oxysporum* germent en réponse des exsudats stimulants libérés par les racines de l'hôte, suivi d'un adhérent des tubes germinatifs sur la surface racinaires (Di Pietro et al, 2001).

- **Pénétration :** Les tubes germinatifs se différencient en hyphes d'infection (Mendgen et al, 1996). Ces derniers pénètrent directement dans les membranes épidermiques (Rodriguez- Gálvez and Mendgen, 1995). Di Pietro et al (2001), suggèrent que la cascade de signalisation MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase signaling cascades) est impliquée dans l'adhérence des spores à la surface des racines, la pénétration des hyphes, la croissance invasive et la production de pectates lyases, qui sont nécessaires pour la pénétration dans la paroi cellulaire et de la colonisation de la plante par *F. oxysporum*.

- **Perception et transduction du signal par la plante:** Les communications moléculaires entre l'agent pathogène et la plante hôte commence presque immédiatement après contact de l'agent pathogène avec la surface de la plante. L'induction de l'activité du PAL (phenylalanine ammonia-lyase) chez la plante hôte est liée à l'éliciteur « hydrate de carbone » de la paroi cellulaire de *F. oxysporum*. Les glycosphingolipides produites par *Fusarium oxysporum* sont considérés comme éliciteurs des mécanismes de défense de la plante hôte (Umemura et al, 2004).

La plante peut aussi produire des composés (éliciteur endogènes) inducteurs de la réaction de défense vis-à-vis des agents pathogènes. Plusieurs travaux montrent l'implication de l'acide jasmonique et l'éthylène dans l'induction de la résistance au *Fusarium oxysporum* (Creelman et Mullet, 1995).

Ces événements se déroulent dans les deux types d'interactions compatible et incompatible, probablement avec différentes vitesses et intensités. Les pathogènes produisent également des molécules suppresseurs empêchant l'action des éliciteurs, ce qui résulte la sensibilité de la plante hôte (Di Pietro et *al*, 2001).

• **Dégradation de la paroi cellulaire par le pathogène:** La pénétration de la paroi cellulaire semble être la première exigence de la pathogenèse des champignons pathogènes. Pour ce faire les ces derniers sont capables de produire une variante d'enzymes de dégradation de la paroi végétale « CWDE » (cellwall-degrading enzymes), pour faciliter la pénétration et la colonisation de leurs hôtes (El Modafar et *al*, 2000, Umemura et *al*, 2004).

• **Production des toxines :** L'acide fusarique (AF) est la principale toxine trouvée dans les filtrats des souches agressives du *Foa*. Il peut être impliqué dans des étapes précoces de la relation hôte-pathogène et induire des modifications sur la perméabilité et le potentiel membranaire cellulaire. L'AF peut inhiber aussi les enzymes de défense produites par la plante (Bouizgarne et *al*, 2004). Il participe aussi dans le colmatage des vaisseaux conducteurs et par conséquent le dessèchement de la plante (Fernandez et *al*, 1995). L'étude histologique révèle une concentration fusarique particulièrement importante dans le cylindre central par comparaison à l'écorce, en provoquant la disparition des tubes criblés du phloème (El Hadrami et *al*, 1998).

3.2.2. *Fusarium oxysporum f.sp.pisi* « Fop »

3.2.2.1. Symptômes

Symptômes dus à Fop races 1, 5 et 6 comprennent l'enroulement vers le bas des feuilles et stipules, épaissement basal des entre nœud, les feuilles et les tiges de plus en plus deviennent fragiles et rigides, le jaunissement des feuilles et la nécrose. Bien que le système racinaire externe apparaisse normal, le tissu vasculaire de la racine et la tige peut virer du jaune à l'orange. Cette décoloration vasculaire étend souvent à la tige supérieure. Le développement de la maladie correspond à la progression du jaunissement des feuilles inférieures à l'apex de la tige. La Fusariose se développe

rapidement entraînant la mort de la plante. Dans les champs où les races 1, 5, et 6 sont répandues, les symptômes se produisent généralement dans les petites et les grandes parcelles (Hagedorn, 1984; Kraft, 1994; Kraft and al, 1998; Kraft and Pflieger, 2001).

Les symptômes de la race 2 sur les plantes individuelles sont semblables aux symptômes d'autres races du Fop. Cependant, sur terrain sont les plantes présentent des symptômes occasionnels sauf si le niveau d'inoculum est extrêmement élevée. Les symptômes de la race 2 apparaissent habituellement plus tard dans la saison de croissance, souvent à la floraison, d'où le nom près de flétrissement a été donné à ces symptômes. La décoloration vasculaire causée par la race 2 est généralement plus intense que les autres races allant de l'orange au rouge foncé (Kraft, 1994; Kraft and al, 1998; Kraft and Pflieger, 2001).

3.2.2.2. Épidémiologie et le contrôle de la maladie

Les champignons appartenant à l'espèce *Fop* peuvent survivre dans le sol pendant plus de 10 ans en l'absence de plante hôte, sous forme de chlamydospores à paroi épaisse. La survie est liée à l'association du champignon avec les racines des cultures non-hôtes. Le champignon est également capable d'infecter les graines. En outre, *F. oxysporum* peut être transporté d'un champ à l'autre sur le matériel agricole, les déchets du pois et il peut également être dispersé par le vent ou l'eau courante. Une fois introduit dans un nouveau domaine, le champignon doit d'abord augmenter le nombre conduisant à une période de latence de quelques années avant l'apparition de la maladie (Hagedorn, 1984; Kraft, 1994; Kraft and al., 1998; Kraft and Pflieger, 2001). Une température du sol de 21 ° à 25 ° C est généralement la condition la plus favorable pour Fop bien que Fop race 5 peut infecter les plantes hôtes à des températures inférieures (Hagedorn, 1984; Kraft and Pflieger, 2001).

Le contrôle de l'agent pathogène est principalement basé sur trois stratégies, y compris des pratiques agricoles, l'application de produits agrochimiques et de l'utilisation des variétés résistantes (Guimaraes et al., 2007). La rotation des cultures est la meilleure pratique agricole qui peut contribuer à réduire les dommages causée par l'agent pathogène fongique. Cependant, la rotation des cultures a seulement un effet mineur pour résoudre le problème de la fusariose vasculaire du pois non seulement parce que les chlamydospores du Fop survivent pendant très longtemps dans le sol, mais

aussi parce que l'inoculum peuvent se multiplier sur les racines des plantes porteuses moins de symptômes (asymptomatiques).

La fumigation du sol avec un fongicide à large spectre est une autre méthode de contrôle potentiel qui offre un bon contrôle initial (Keiko et Nagisa, 2005), bien que le sol recolonisé par *Fop* se produit très rapidement. En outre, la fumigation des sols est trop cher pour l'application sur le terrain et en raison de l'impact négatif des produits chimiques sur les organismes non visés et le potentiel de risque pour l'environnement et la santé, la gamme et le taux de fongicides utilisée a été progressivement limitée et certains d'entre eux ont été éliminés. Par exemple, le bromure de méthyle identifié comme classe I substance appauvrissant la couche d'ozone stratosphérique, utilisé comme fumigant de sol préinstallé pour plus de 40 ans, est éliminée dans le monde jusqu'en 2015 (Duniway, 2002).

Dans les dernières années, le contrôle biologique de la fusariose a donné des résultats encourageants. Le contrôle peut utiliser les antagonistes comme les champignons tels que des souches non-pathogènes de *F. oxysporum*, *Trichoderma* et *Gliocladium*, des bactéries telle que *Pseudomonas fluorescens* et *Burkholderia cepacia*, et d'autres (Pal and McSpadden-Gardener, 2006). Bien que prometteuse, aucun de ces organismes ont été utilisées pour contrôler la fusariose dans la pratique jusqu'à présent.

Bien que ces méthodes de contrôle aient un effet modéré, l'utilisation des variétés de pois résistantes a été la seule mesure pratique et économique pour contrôler la maladie sur le terrain. Comme indiqué précédemment, la résistance aux quatre races est transportée par des gènes dominants d'héritage simple. La résistance horizontale a été observée, mais elle n'est pas complète, lorsque le potentiel de la maladie est élevé. Les cultivars meurent ou mûrissent plus tôt que les plantes exemptes de maladies provoquant une perte de rendement ainsi que la diminution de la qualité de congélation ou de la mise en conserve du pois (Hagedorn, 1984; Kraft and Pflieger, 2001).

A ce jour, seul le gène dominant unique pour la résistance à *Fop* a été utilisé dans le développement des cultivars commerciaux. Cependant, les programmes de sélection basée seulement sur quelques gènes dominants courent un grave danger de répartition de la résistance. Cette répartition de la résistance auparavant efficace, bien que pas aussi rapide que l'expérience avec l'agent pathogène, est le cauchemar des éleveurs, et les oblige à chercher sans cesse de nouvelles sources de résistance au sein de la collection de matériel génétique de pois y compris aussi des parents de pois sauvages.

3.3. Plante hôte

3.3.1. Origine

Le pois est une plante très anciennement cultivée dans l'Ancien monde, puisque sa culture a vraisemblablement commencé il y a environ 8 000 ans dans la région du Croissant fertile, dans le même processus que certaines céréales (blé, orge) et d'autres légumineuses (vesce, lentille). Des restes de pois ont été retrouvés notamment dans des habitats lacustres du début de l'âge du bronze en Suisse et en France (lac du Bourget). Le pois était cultivé dans l'Antiquité par les Grecs et les Romains. (Antoine Jacobson et Dominique Michel, 2001).

Les pois secs, faciles à conserver, constituent tout au long du Moyen Âge l'une des principales ressources alimentaires des classes pauvres. L'introduction du pois dans le Nouveau Monde a été faite pour la première fois à Saint-Domingue par Christophe Colomb lors de son premier voyage en Amérique. (Antoine Jacobson et Dominique Michel, 2001).

La consommation des gousses entières (pois mangetout ou pois gourmand) est attestée depuis le XVI^{ème} siècle aux Pays-Bas et en France. La consommation du petit pois (grain vert frais) s'est développée en France à l'époque de Louis XIV. C'est le 18 janvier 1660 que le sieur Audiger (ou Audiguier), officier de bouche de la comtesse de Soissons, présenta à la cour du roi Louis XIV, des pois verts en gousse rapportés d'Italie. Au cours du XIX^{ème} siècle, la vogue des petits pois se répandit en France et le nombre de variétés s'accrut. (Emmanuel Auger, 2007). Vers la fin du XIX^{ème} siècle, se développe la production des pois cassés, pois secs dont le tégument, relativement indigeste, a été retiré par abrasion. Depuis le début du XX^{ème} siècle, la production des petits pois s'industrialise dans les pays occidentaux (Europe, Amérique du Nord) grâce au développement de l'appertisation en bocal ou boîte de conserve et de la surgélation. Ce mouvement s'accompagne de la culture en plein champ qui se mécanise rapidement. (Jean-Marie Polese et Nathalie Dupuy, 2006). Dans les années 1920, un inventeur américain, Clarence Birdseye, fondateur de la société General Seafood, produit les premiers petits pois surgelés. (Emmanuel Auger, 2007).

3.3.2. Définition, Classification et Taxonomie

Le pois cultivé (*Pisum sativum* L.) est une espèce de plante annuelle de la famille des légumineuses (*Fabacées*), largement cultivée pour ses graines, consommée comme légume ou utilisée comme aliment du bétail. Le terme désigne aussi la graine elle-même, riche en énergie (amidon) et en protéines (de 16 à 40 %)1. Les pois secs se présentent souvent sous la forme de « pois cassés ». Les pois frais sont plus couramment appelés « petits pois » (Auger, 2007).

Leur classification selon FAOSTAT (2013) :

Régne :	Plantae
Sous-régne :	Tracheobionta
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida
Sous-classe :	Rosidae
Ordre :	Fabales
Famille :	<i>Leguminosae</i>
Sous-famille :	<i>Faboideae</i>
Genre :	<i>Pisum</i>
Espèce :	<i>Pisum sativum</i>

Le pois (*P. sativum*) est une culture importante de légumineuses à grains qui a été largement cultivée comme source de protéines pour la nutrition animale et humaine (Rubiales et al., 2012). En commun avec d'autres légumineuses à grains, le pois joue un rôle essentiel dans la rotation des cultures et il peut être utilisé comme fourrage ou engrais vert (Redden et al., 2005; Nemecek et al., 2008).

Le pois a également été largement utilisé pour des études génétiques et physiologiques en raison de sa grande diversité génétique et morphologiques.

Le petit pois est caractérisé par des fleurs et des graines de couleur pigmentées (Redden et al., 2005).

Le pois est une espèce annuelle avec aucune habitude vivace connue et est traditionnellement produite comme une culture annuelle de printemps. Le pois d'automne ou d'hiver est semé à la fin de Septembre à la mi-octobre dans les latitudes nord, son stade de la rosette atteint 5 à 7 cm de hauteur avant d'entrer dans une période

de dormance hivernale. Comme les températures augmentent au printemps, les pauses de dormance en supposant une rosette modèle de croissance végétative et suivie d'une période de reproduction et de remplissage des graines. La maturité des cultures est généralement de 2 à 3 semaines avant le printemps (McPhee, 2007).

Les premiers nœuds, dont certains donnent lieu à des branches, sont végétatifs. En général, deux fleurs, à partir de lesquelles se développent les gousses, sont présents à chaque nœud de reproduction (Cousin, 1997). La fleur de pois est typique de la famille des papilionacées. La corolle contient cinq pétales. Le pois est cléistogame et doit être considéré comme une espèce strictement auto-fertile (Cousin, 1997). Les espèces sauvages sont souvent longues (plus de 2 mètres), des tiges mince et ramifiée, des fleurs pourpres ou roses et des petites gousses produire une petite quantité de graines avec le manteau de couleur.

3.3.3. Production mondiale et utilisation

Le pois est une importante légumineuse produite dans le monde, principalement dans les régions tempérées (Rubiales et *al.*, 2012).le Pois sec occupe le troisième rang dans la production entre les grains légumineux après les haricots et les pois chiches. Sa production totale est de 10,97 millions de tonnes produit dans plus de 6,38 millions d'hectares dans le monde en 2013 (Figure 4).

Le rendement mondial moyen par hectare a été de 1,72 tonnes / ha (FAOSTAT, 2013). Les petits pois sec sont cultivées et commercialisés dans près de 100 pays, mais la production est concentrée au Canada, Fédération de Russie, et la Chine. Conjointement, ces trois pays produisent plus de la moitié du monde du pois secs (Figure 5). L'Espagne est le dixième producteur mondial de pois secs, sa production et de 177 700 tonnes à 122 000 hectares avec un rendement de 1,46 tonnes / ha (FAOSTAT, 2013).

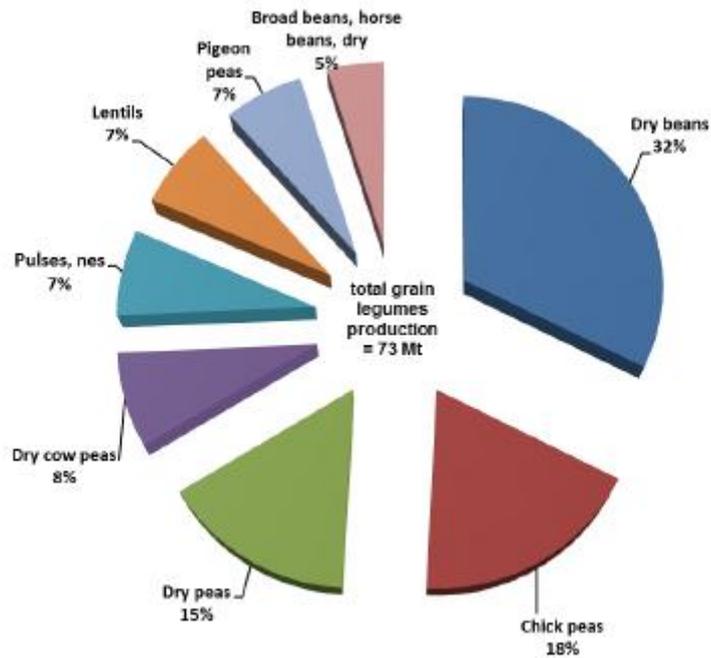


Figure 4 : Composition de la production mondiale de légumineuses à grains en 2013 (FAOSTAT, 2013).

L'agriculture européenne repose largement sur les engrais azotés, chimique pesticides et manque de diversité. Il est donc très important de réintroduire des cultures légumineuses dans les systèmes agricoles et accroître leur visibilité à travers la révision de la politique de l'agriculture (Rubiales et *al.*, 2012).

La culture du pois est récolté pour les graines séchées ou à l'état immature comme les pois frais (pois verts) pour la mise en conserve et la congélation. Les graines sèches matures sont utilisées dans un large éventail de formes. Environ la moitié de la production de pois secs du monde à nourrir le bétail alors que la moitié restante est utilisée pour l'alimentation humaine, principalement dans les pays en développement (Rubiales *al.*, 2012). Les grainessèches matures sont utilisées pour des diverses spécialités alimentaires, mais peuvent aussi être transformés industriellement pour produire de l'amidon et de protéines concentrés. les petits pois frais produits pour l'industrie de la conservation et la congélation comprend la récolte des gousses entières pour utiliser dans les préparations orientales et pois mange-tout, qui peuvent être consommés frais ou congelé (Rubiales et *al.*, 2012). Le pois est également cultivé pour le fourrage ou comme engrais vert dans l'Est Europe et au Canada (Redden et *al.*, 2005).

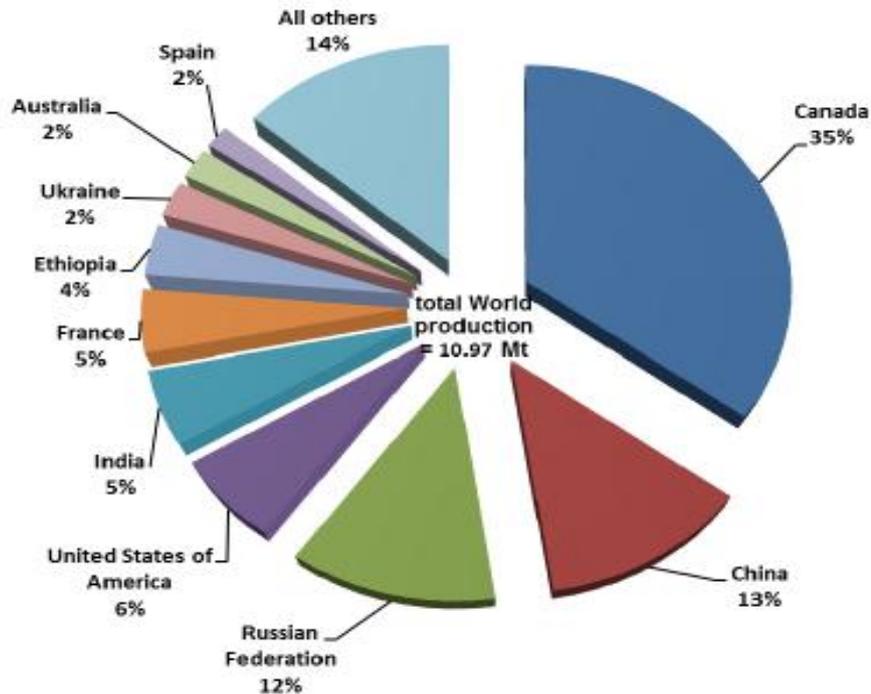


Figure 5 : Actions de production de pois secs pour les dix premiers pays producteurs dans le monde en 2013 (FAOSTAT, 2013).

Le pois sec est nutritionnellement riche, contenant 18 à 33% de protéine, 4 à 7% de fibres, et 37 à 50% d'amidon, et est consommée comme une source de protéine de base dans nombreux pays en développement. (McPhee, 2007;. Rubiales et *al*, 2012). Les Protéines de graines de pois sont déficientes en acides aminés soufrés, mais contiennent des niveaux relativement élevés de lysine, rendant un bon pois un complément alimentaire pour les céréales. Aucun facteur anti nutritionnel majeur n'est présent chez le pois. La Couleur, l'apparence, la saveur et convenances alimentaires sont des critères importants pour les pois destinés à la consommation humaine (Rubiales et *al.*, 2012).

Partie II. MATERIELS ET METHODES**1. Matériel biologique****1.1. Matériel végétal**

Trois génotypes de petit pois *Pisum sativum L* ont été utilisés dans cette étude : Messire, Sefrou (les deux sont des génotypes sensibles) et Kelvedon (génotype résistant). Les graines de Messire ont été fournies par l'Institut de l'Agriculture Soutenable de Cordoue (Institute of Sustainable Agriculture, Cordoba, Spain). Les graines des génotypes Sefrou et Kelvedon Wonder ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Culture de Sétif (ITGC, Sétif).

1.2. Souches pathogènes

Deux souches de *Fusarium oxysporum f.sp. pisi* (*Fop*) race 2 ont été utilisées : la souche *Fop* R2F42 et la souche *Fop* Arg1. Les deux souches ont été issues de l'Institut de l'Agriculture Soutenable de Cordoue (Institute of sustainable Agriculture, Cordoba, Spain).

1.3. Souches antagonistes

Deux souches bactériennes de PGPR d'une espèce fluorescente du genre *Pseudomonas* ont été utilisées. Les souches bactériennes F21 et BB10 font partie de la collection des souches PGPR du laboratoire de Phytopathologie du département des Biotechnologies de l'Université de Blida 1.

2. Essais de biocontrôle en conditions semi-contrôlées**2.1. Préparation et stérilisation des graines**

Les graines de petits pois ont été stérilisées superficiellement dans une solution à 1% d'hypochlorite de sodium concentré pendant 30 minutes à température ambiante. Puis, elles ont été rincées abondamment deux fois dans de l'eau distillée stérile pendant 20 minutes pour chaque rinçage. Les graines sont enveloppées par la suite dans un papier humide placé dans des boîtes de Pétri. Les boîtes ont été couvertes avec du papier aluminium. Les boîtes sont par la suite placées au réfrigérateur à 4°C pendant 4 jours pour stratifier les graines et synchroniser la germination. Après stratification, les boîtes ont

été mises à environ 20 °C pendant 2 jour. Les graines germées ont été transférées dans des pots de perlites stériles.

2.2. Purification et préparation de la suspension bactérienne

La purification des souches bactériennes a été réalisée par repiquage successif sur milieu King B puis incubé pendant 24 heures, jusqu'à l'apparition des colonies bien caractérisées et distinctes.

Pour la préparation de la suspension bactérienne, la crème bactérienne pure a été raclée à l'aide d'une anse d'ensemencement stérile et mise dans 200 ml d'eau distillé stérile. L'inoculum a été ajusté à une concentration de 5×10^6 CFU/ml, dont la densité optique a été calculée par spectrophotomètre ($D.O \approx 0.8$).

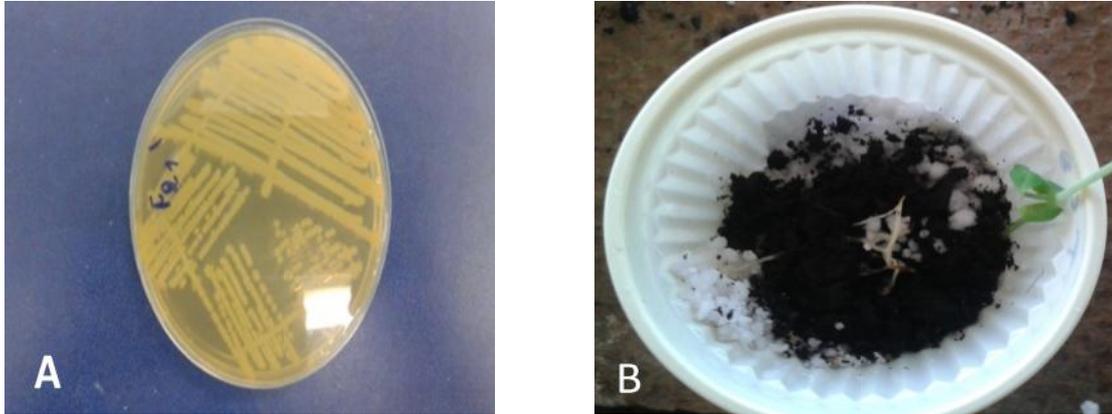
2.3. Purification et préparation de la suspension fongique

La purification des deux souches de *Fop* a été réalisée sur le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) par la transplantation successive des disques mycéliens puis incubées pendant 7 jours à 25 °C. La préparation des suspensions fongiques a été effectuée par le transfert des disques mycélien dans des flacons contenant le milieu PDB (Potato Dextrose Broth) et incubés pendant 4 jours à température ambiante sous agitation (170 rpm). La suspension a été par la suite filtrée à l'aide d'un Entonnoir contenant une compresse stérile puis ajustée à une concentration approximative de 5×10^6 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez.

2.4. Procédure d'inoculation

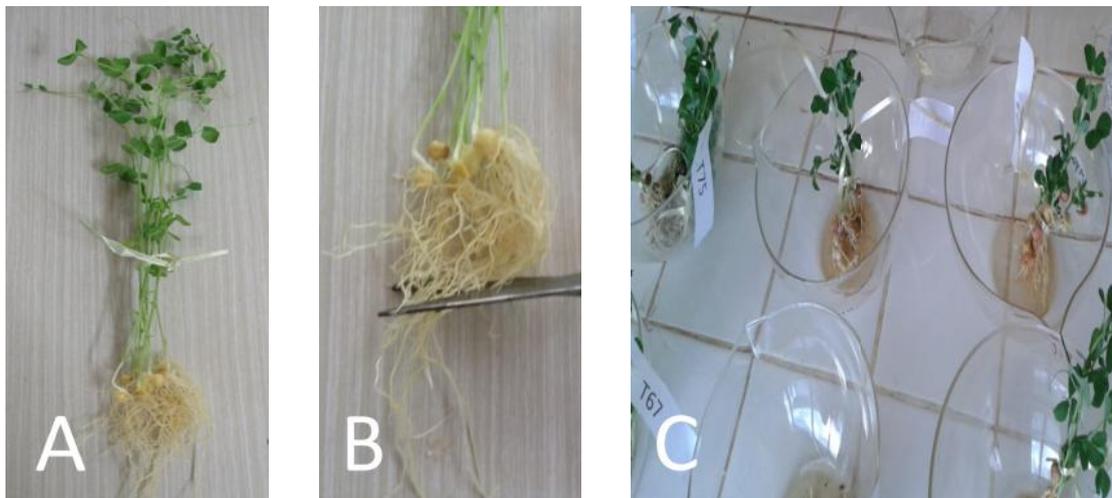
L'inoculation des plantes a été réalisée au stade 2 à 3 feuilles en mélangeant la suspension bactérienne avec la tourbe et le mélange a été déposée par la suite dans les pots (figure1). Après 48 h d'inoculation bactérienne, nous avons retiré les plantes de la perlite, lavé délicatement les racines sous l'eau du robinet pour enlever les restes de perlite, nous avons par la suite coupé environ le 1/3 de système racinaire pour assurer une bonne inoculation et enfin nous avons submergé les racines des plantes dans la solution de spores de *Fop* pendant 5 minutes à température ambiante (figure 2). Une fois l'inoculation fongique est réalisée, chaque plantule a été transplantée dans un pot de perlite stérile (pot de 250ml ou supérieur) et placée sous serre à environ $26 \pm 2^\circ\text{C}$ et

arrosée avec de l'eau selon le besoin. C'est l'incubation dans des conditions semi-contrôlées sous serre.



A : Crème bactérienne. B : Inoculation bactérienne sous un lit de tourbe

Figure 6 : Les étapes de l'inoculation bactérienne.



A : Arrachage des plantules et rinçage des racines. B : Coupe d'un 1/3 des racines.
C : Immersion des racines dans la suspension de spores de *Fop*.

Figure 7 : Procédure d'inoculation avec la suspension fongique.

2.5. Dispositif expérimental

Notre expérimentation a été réalisée durant l'année 2015 au niveau du laboratoire de Mycologie et de la serre en verre du département de biotechnologie de l'université de Blida 1. Les conteneurs utilisés sont des pots en plastiques de 10 cm de hauteur et de 6.5 cm de diamètre d'une contenance approximative de 200g de perlite.

Chaque variété subit 7 traitements, chaque traitement est répété 06 fois, (le nombre total des plantes est de 126 pots) (unités expérimentales) effectués en deux Blocs Aléatoires Complets (2 bloc). (Tableau 4)

Notre essai est composé d'une combinaison de deux facteurs :

Facteur 1 : la bactérisation représenté par deux souches bactériennes BB10 et F21 de *Pseudomonas spp.fluorescents*.

Facteur 2 : L'inoculation représentée par deux souches cryptogamiques Arg1 et R2F42 de *Fusarium oxysporum f.sp.pisi*.

Au total, notre expérimentation s'intéresse au biocontrôle par l'interaction de ces deux facteurs, représentée par sept traitements.

Tableau 4 : Les Traitement avec les trois génotypes étudiés.

	C0	C2	C3	C2B1	C3B1	C2B2	C3B2
G2 Messire	T2	T18	T26	T74	T90	T82	T98
G6 Séfrou	T6	T22	T30	T78	T94	T86	T102
G7 Kelvedon	T7	T23	T31	T79	T95	T87	T103

▪ Selon 7 inoculations :

- **C0** = Eau distillée stérile
- **C2** = *Fop R2 F42*
- **C3** = *Fop Arg1* (race2)
- **C2 X B1** = *Fop R2 F42 X BB10*
- **C3 X B1** = *Fop Arg1 X BB10*
- **C2 X B2** = *Fop R2 F42 X F21*
- **C3 X B2** = *Fop Arg1 X F21*

2.6. Paramètres étudiés

2.6.1. Caractérisation des symptômes externe

2.6.1.1. Description des symptômes

Les symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire apparaissent comme un résultat d'un stress hydrique qui se traduit par un flétrissement et un jaunissement des feuilles suivis d'un dessèchement puis la mort de la plante (Di Pietro *et al.*, 2003).

La progression de la maladie a été évaluée tout au long de l'expérience et ce a commencé 7 à 15 jours après l'inoculation par les suspensions bactériennes et fongiques et se fera tous les deux jours jusqu'au jour 31 après l'inoculation en marquant chaque feuille de chaque plante avec une échelle de cinq classes représentant des symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire (c'est le VIS : Visuel Index of Severity). Et en mesurant :

2.6.1.2. Taux d'infection

Le taux d'infection représente le pourcentage de feuilles porteuses de symptôme sur le nombre des feuilles totales de chaque plante selon l'équation suivante :

$$\text{Taux d'infection (\%)} = \frac{\text{Nombre de feuilles symptomatiques}}{\text{Nombre total des feuilles}} \times 100$$

Les génotypes présentant une valeur de taux d'infection inférieure ou égale à 50% sont considérés comme résistants alors que les génotypes présentant des taux d'infection entre 50 et 70% sont classés comme partiellement résistant et les génotypes avec des valeurs de taux d'infection dépassant 70% sont considérés comme sensible (McPhee *et al.*, 1999).

2.6.1.3. Sévérité

La propagation de la maladie a été estimée au cours de toute l'expérimentation. L'évaluation de chaque feuille de chaque traitement a été effectuée selon une échelle visuelle de 5 niveaux, afin de calculer l'indice de la sévérité VIS (Visuel Index of Severity) (Bani *et al.*, 2012) (figure 8) :

Niveau 1 : feuille verte saine.

Niveau 2 : 2 l'initiation de jaunissement et flétrissement ou l'enroulement de la feuille.

Niveau 3 : jaunissement ou flétrissement de plus de 50% de la feuille.

Niveau 4 : jaunissement ou flétrissement total de la feuille.

Niveau 5 : feuille totalement morte.

L'indice final pour chaque plante est représenté par la moyenne des valeurs VIS de toutes les feuilles.

$$\text{VIS} = \frac{\text{Somme de toutes les valeurs VIS des feuilles de même plante}}{\text{Nombre total des feuilles}}$$



Figure 8: L'échelle de suivi du développement de la maladie (Bani et *al.*, 2012).

Les génotypes qui présentent des valeurs de VIS entre 0 et 3 sont considéré comme résistant, tandis que les génotypes qui présentent des valeurs entre 3 et 4 sont classés comme partiellement résistants et les valeurs dépassent le niveau 4 sont considérés comme susceptible (Neumann et Xue., 2003).

2.6.1.4. Courbe des aires de propagation de la maladie (AUDPC)

Pour comparer la réaction de résistance ou de susceptibilité des génotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire, les valeurs des taux d'infection de la maladie ont été utilisées pour calculer la courbe des aires de propagation des symptômes (AUDPC : Area Under the Disease Progress Curve). L'AUDPC a été calculé par l'équation suivante :

$$\text{AUDPC} = [(x_i + x_{i+1}) / 2] * (t_{i+1} - t_i)$$

Avec :

x_i : Taux d'infection estimé à la date i .

x_{i+1} : Taux d'infection estimé à la date $i + 1$.

$t_{i+1} - t_i$: Nombre de jours entre les dates de notation i et $i + 1$.

2.6.2. Caractérisation des symptômes interne

L'observation des symptômes internes a été déterminée en réalisant des coupes longitudinales au niveau de la tige des plantes atteintes dans la partie ligneuse et adjacente au cortex vert. Les symptômes sont représentés par une coloration brune sombre des tissus conducteurs (Jarvis et Shoemaker, 1978). Pour observer ces symptômes internes, nous avons réalisé des coupes des plantes malades sous une loupe binoculaire (Gr x 8). Pour cela les plantes ont été récoltées 30 jours après l'inoculation puis lavées clairement sous l'eau du robinet. Les coupes longitudinales ont été réalisées au niveau de la tige et la partie supérieure du système racinaire à l'aide d'un scalpel ensuite observées sous la loupe binoculaire.

3. Essai de comportement en plein champ

Notre essai en plein champ a été réalisé durant l'année 2015 au niveau de la station expérimentale du département de biotechnologie de l'université de Blida 1 (Figure 9).

3.1. Inoculation bactérienne des graines

Au moment du semis, la bactérisation a été appliquée avec les deux souches bactériennes (F21 et BB10) pour chaque géotypes de petit pois où 60 ml de suspension bactérienne (F21 et BB10) a été versée sur le lit de tourbe.

3.2. Semis des graines

Pour chaque géotype, 5 à 6 graines de chaque variété testées ont été semis directement dans un sillon d'un mètre de longueur. Les sillons ont été séparés d'une distance de 70 cm et entre chaque ligne par une distance de 50 à 70 cm. Un cultivar local susceptible à *Fop* « sefrou » a été cultivé dans tout le périmètre expérimental et entre chaque géotype test. Le champ a été organisé en 3 blocs aléatoires complets où chaque géotype est testé 3 fois (3 répétitions) en 3 traitements (sans bactéries, avec la bactérie BB10 et avec la bactérie F21).

Le suivi de la fusariose vasculaire a été réalisé par l'observation de l'apparition de symptômes typique de la maladie.

Suite à l'absence des symptômes de la fusariose vasculaire, le pois frais et sec de la partie aérienne et la partie souterraine de chaque plante ont été mesurés à la fin de l'expérience en plein champ afin de déterminer l'effet phytostimulateurs des souches de *Pseudomonas spp. fluorescents* sur les différents géotypes du petits pois étudiés (Figure 9).



Figure 9 : Essai en plein champ au niveau de la station expérimentale du département de biotechnologie de l'université de Blida 1.

Partie III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Essai sous serre

1.1. Expression symptomatologique

1.1.1. Symptômes externes

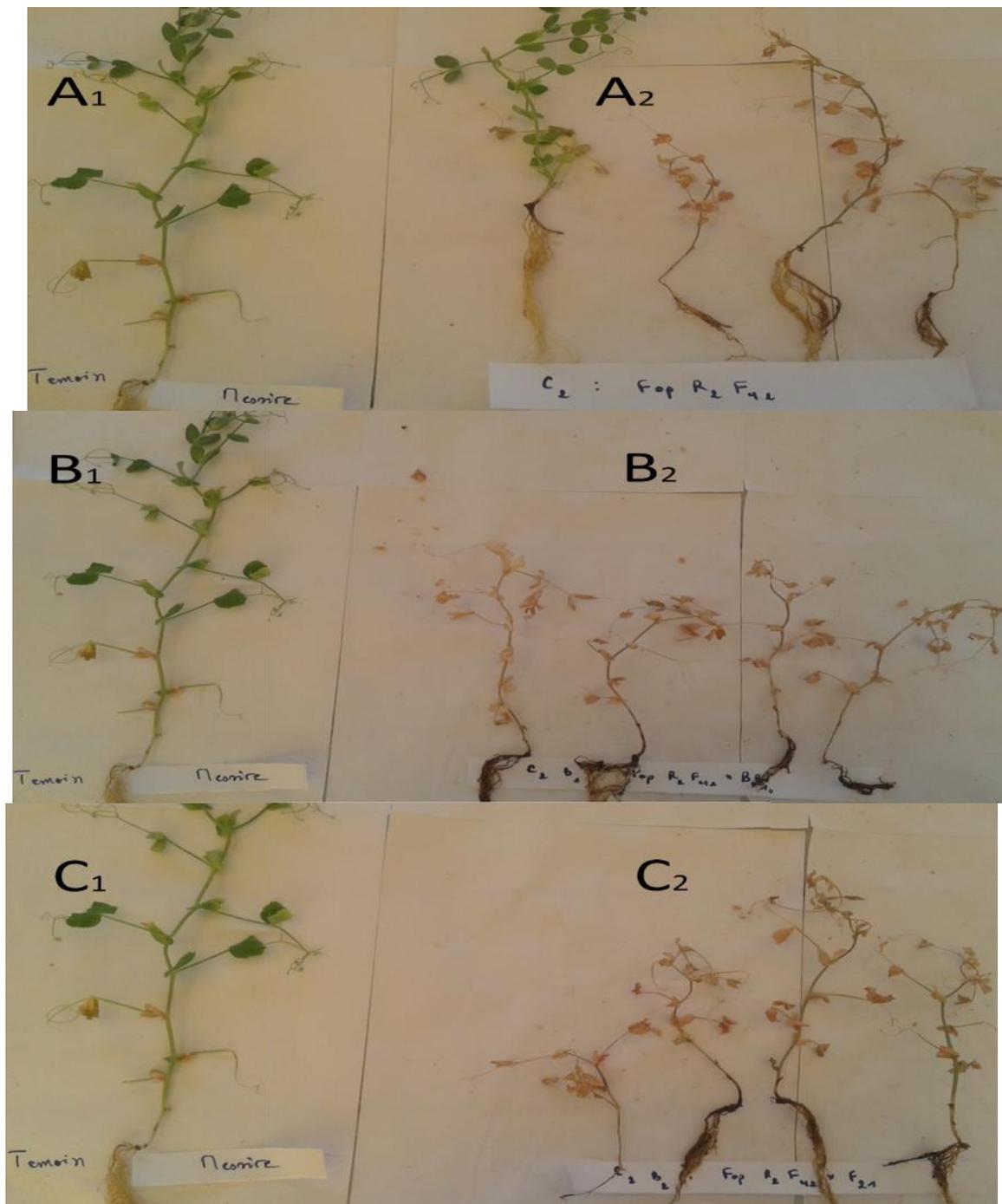
D'après les résultats illustrés par les figures 10, 11, 12, 13, 14, 15, Fop provoquent les mêmes symptômes sur les trois génotypes étudiés. Il a été constaté que la souche R2F42 est plus virulente que la souche Arg 1.

L'utilisation des deux souches antagonistes a conduit à la réduction des symptômes de la fusariose vasculaire au cours du développement de la maladie. Il a été constaté que la souche BB10 a une forte activité antagoniste que la souche F21.

Les premiers symptômes de la fusariose vasculaire sont apparus sur certains génotypes 7 à 10 jours après l'inoculation. Les symptômes de la maladie apparaissent sur les premières feuilles et atteignent progressivement les jeunes feuilles jusqu'au dessèchement et la mort de la plante entière.

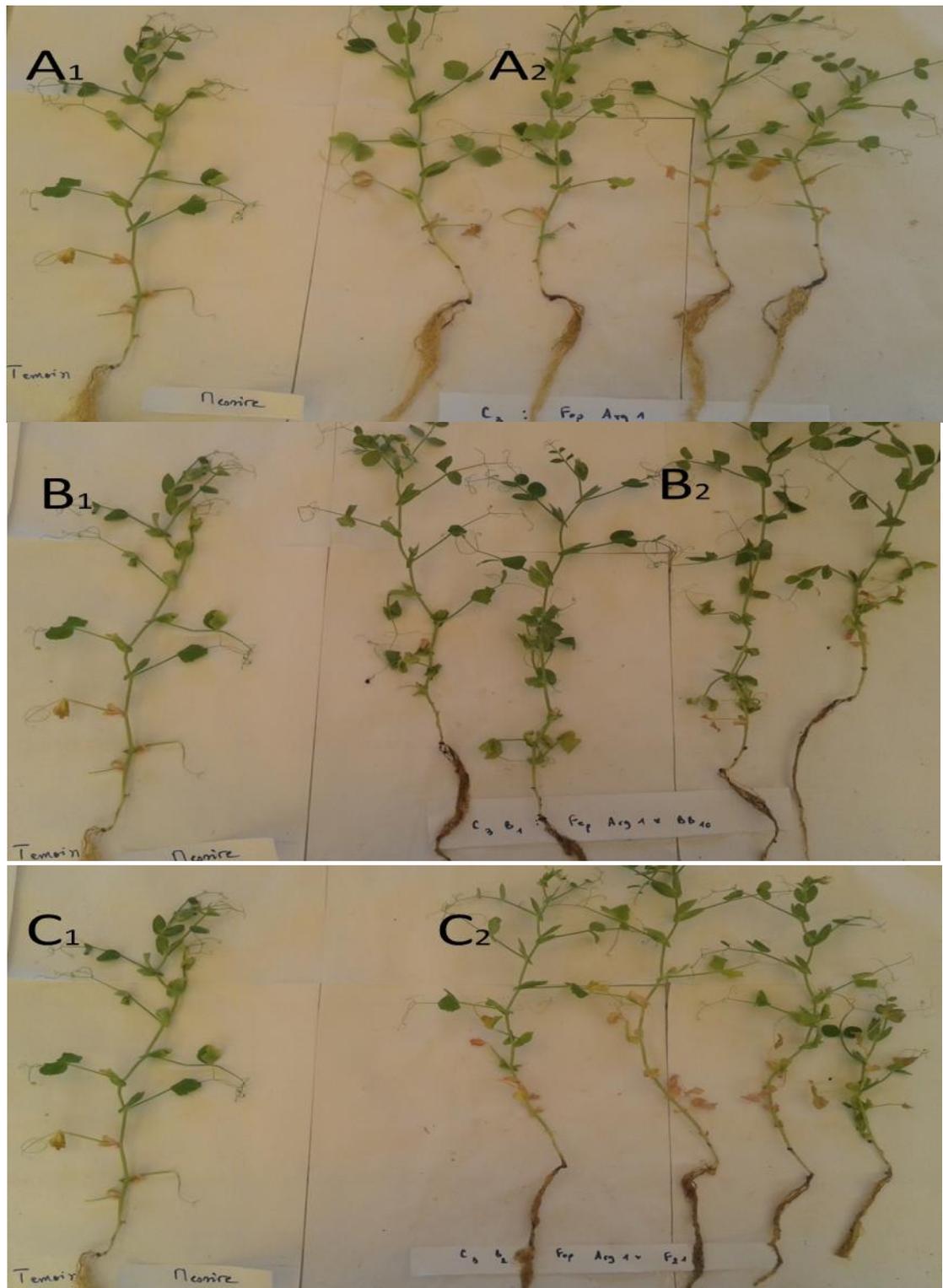
1.1.2. Symptômes internes

Une coupe longitudinale fraîche sur la racine et le collet d'un génotype messire a été réalisée. L'observation de cette coupe sous loupe binoculaire (G : x 8), nous a montré une coloration rouge foncée du système vasculaire de ce génotype inoculé avec la souche R2F42 (Figure 16).



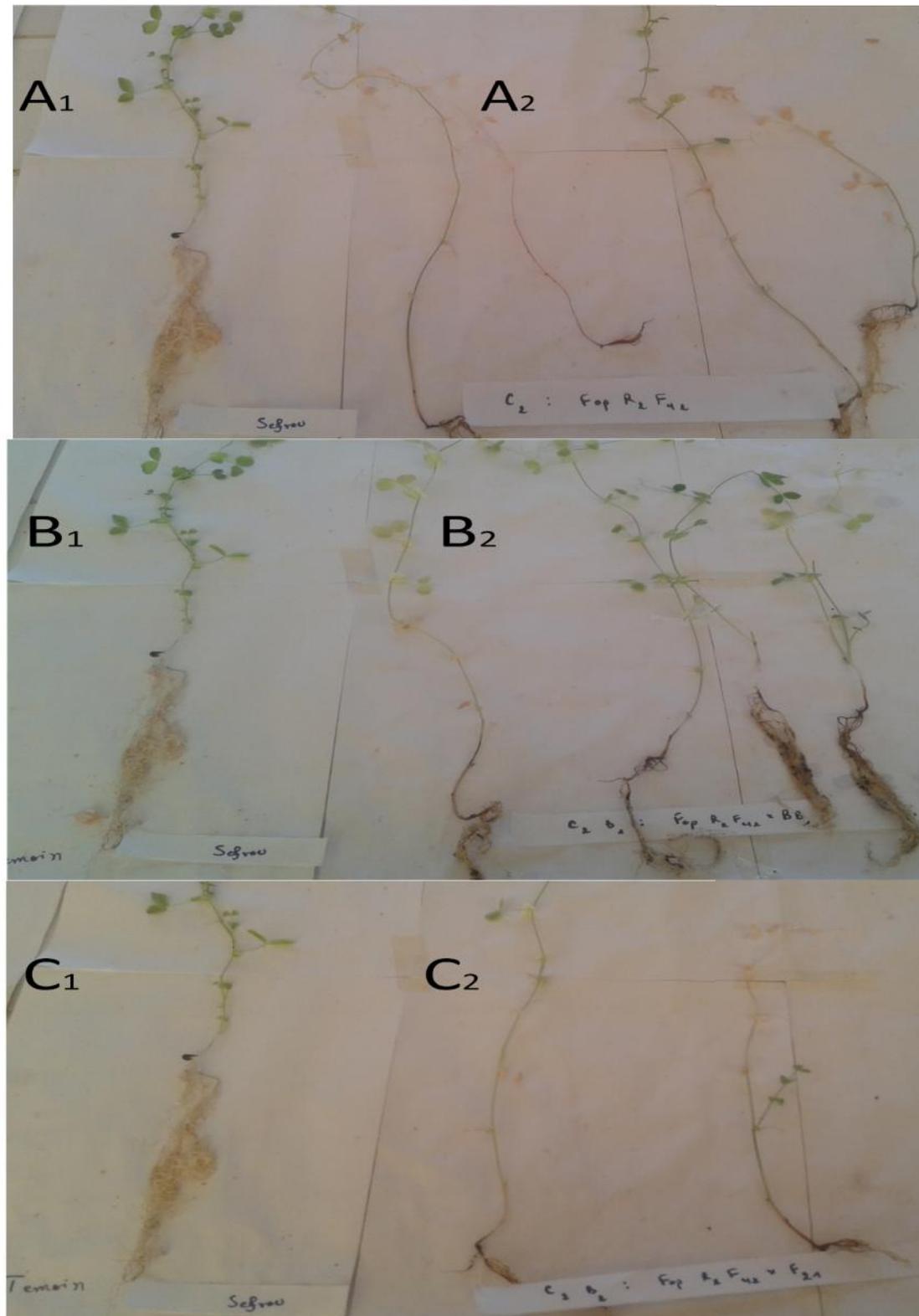
A1, B1, C1 : Témoin (-). A2 : Témoin (+). B1 : Les plantes inoculées par Fop R2F42 et la souche BB10. C2 : Les plantes inoculées par Fop R2F42 et la souche F21.

Figure 10 : Expression symptomatologique sur le génotype messire en interaction avec la souche Fop R2F42.



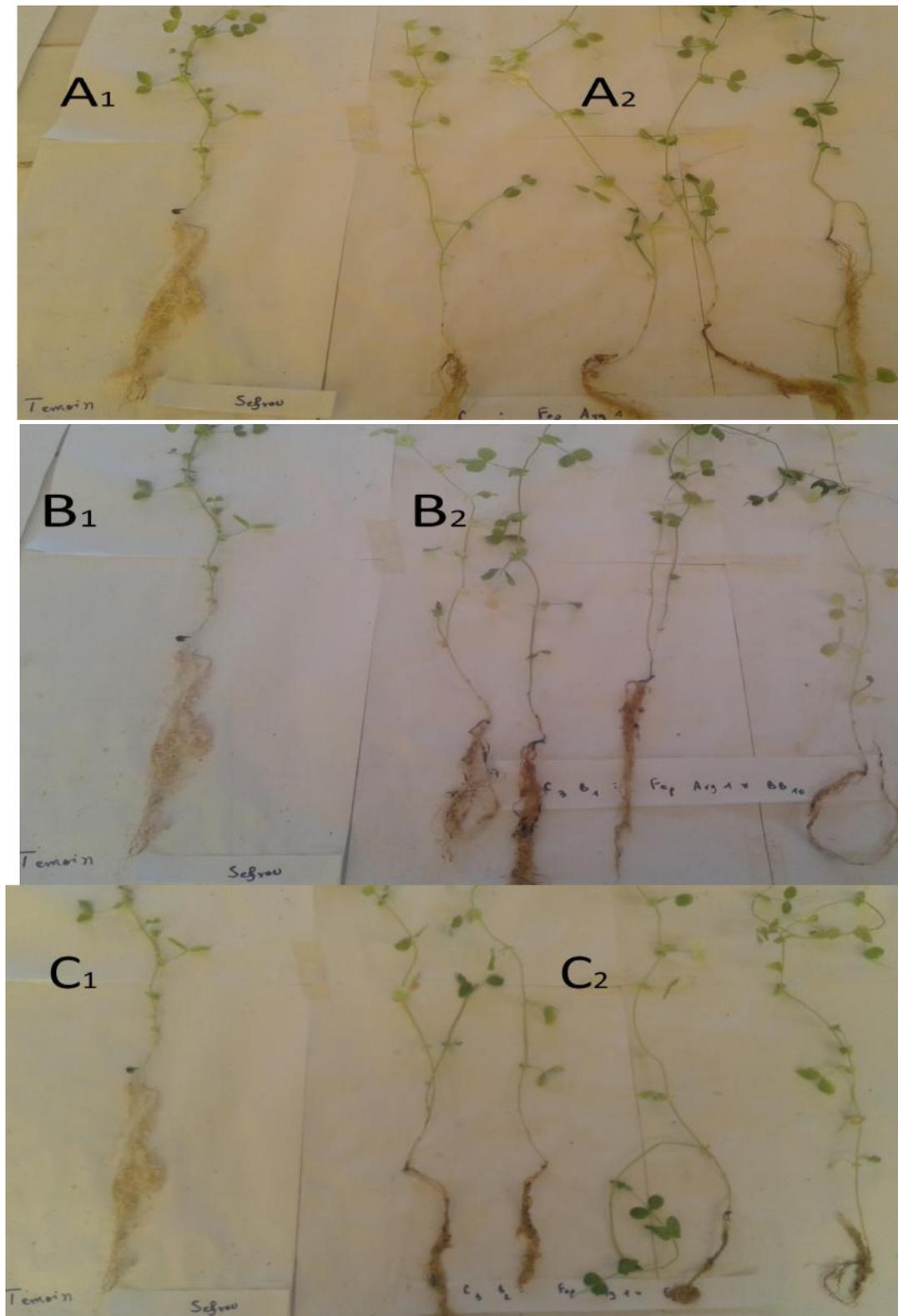
A1, B1, C1 : Témoin (-). A2 : Témoin (+). B1: Les plantes inoculées par Fop Arg1 et la souche BB10. C2 : Fop Arg1 en interaction avec la souche F21.

Figure 11 : Expression symptomatologique sur le génotype messire en interaction avec la souche Fop Arg1.



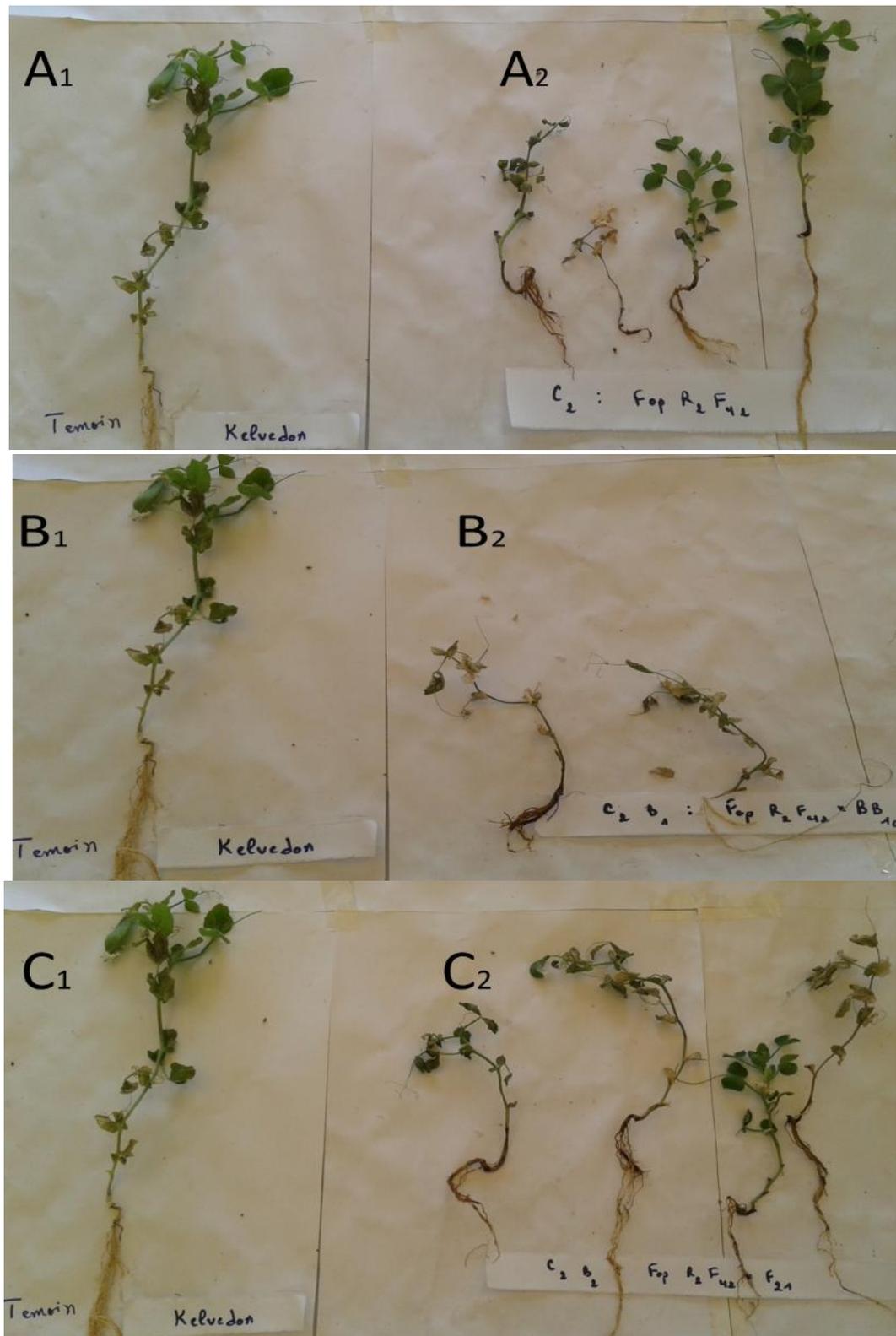
A1, B1, C1 : Témoin (-). A2 : Témoin (+). B1 : Les plantes inoculées par Fop R2F42 et la souche BB10. C2 : Les plantes inoculées par Fop R2F42 et la souche F21.

Figure 12 : Expression symptomatologique sur le génotype sefrou en interaction avec la souche Fop R2F42.



A1, B1, C1 : Témoin (-). A2 : Témoin (+). B1: Les plantes inoculées par Fop Arg1 et la souche BB10. C2 : Les plantes inoculées par Fop Arg1 et la souche F21.

Figure 13 : Expression symptomatologique sur le génotype sefrou en interaction avec la souche Fop R2F42.



A1, B1, C1 : Témoin (-). A2 : Témoin (+). B1 : Les plantes inoculées par Fop R2F42 et la souche BB10. C2 : Fop R2F42 en interaction avec la souche F21.

Figure 14 : Expression symptomatologique sur le génotype kelvedon en interaction avec la souche Fop R2F42.



A1, B1, C1 : Témoin (-). A2 : Témoin (+). B1: Les plantes inoculées par Fop Arg1 et la souche BB10. C2 : Les plantes inoculées par Fop Arg1 et la souche F21.

Figure 15 : Expression symptomatique sur le génotype kelvedon en interaction avec la souche Fop R2F42.



Figure 16 : Expression symptomatologique interne de génotype messire avec la souche R2F42.

1.2. Taux d'infection

1.2.1. Génotype messire

D'après les résultats mentionnés dans le Tableau (6) et Figure (17), nous constatons que l'infection débute avec des taux de 33,33% et 41,66% enregistrés respectivement avec les souches BB10 et F21, pour atteindre leur maximum au cours de la dernière observation (88,79%, 98,15%). En comparant avec le témoin positif (Fop R2 F42), l'évolution d'infection a débuté par un indice de 60% dès la première observation pour dépasser le seuil de 82,14% au cours de la cinquième observation et atteindre un maximum de 87,73% vers la fin de l'expérimentation.

Concernant l'interaction avec la deuxième souche fongique Arg 1, nous remarquons que l'infection débute avec un taux de 23,33% enregistré par la souche F21 pour atteindre un taux supérieur au témoin vers la fin de l'expérimentation (61,66%). Dans le cas de la bactérisation avec la souche BB10, nous enregistrons une faible évolution de l'infection en commençant avec un taux de 18,89% pour atteindre le

maximum de 35,55% en comparant au témoin positif qui a marqué un indice de l'ordre de 24,44% dès la première observation pour atteindre le maximum de 46,91% durant les dernières observations (Tableau 6, Figure 17).

Tableau 6 : Taux d'infection du génotype messire.

	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
Messire+témoin	9,16	47,22	43,17	42,06	50	53,54	55,14	64,75	68,59
Messire+Fop R2F42	60	70	75	70	82,14	84,82	85,37	87,5	87,73
Messire+ Fop R2F42 +BB10	33,33	43,09	53,17	57,86	69,84	76,78	82,64	95,77	88,79
Messire+ Fop R2F42 +F21	41,66	55	54,05	64,6	78,17	89,45	95,53	98,15	98,15
Messire+Fop Arg1	24,44	32,14	38,61	37,42	39,68	37,38	55,92	56,39	46,91
Messire+ Fop Arg1 +BB10	18,89	26,35	30,08	32,72	44,345	38,61	43,89	46,48	35,55
Messire+ Fop Arg1 +F21	23,33	31,38	26,9	41,86	46,51	48,36	54,73	65,63	61,66

J : jours après inoculation.

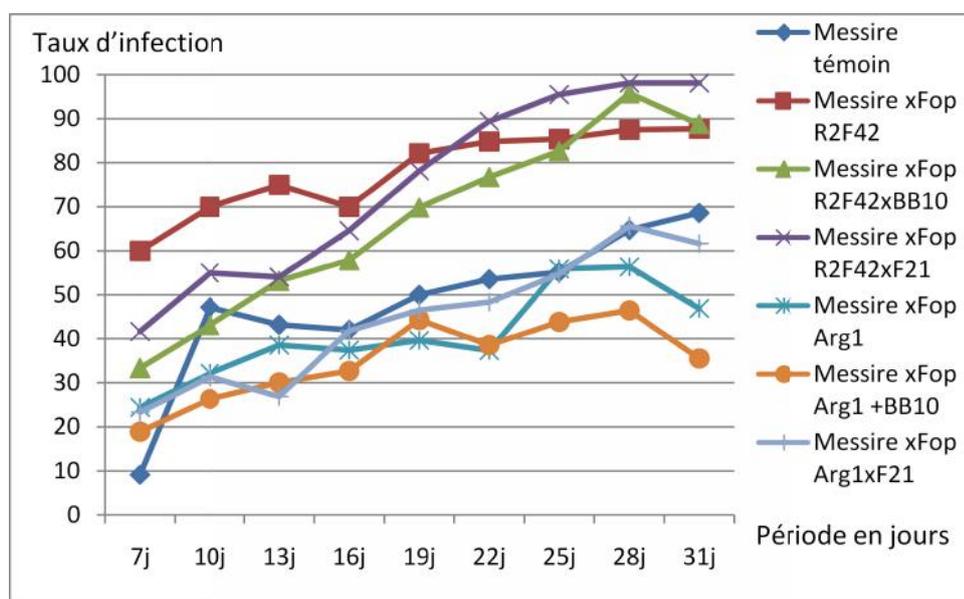


Figure 17 : Taux d'infection du génotype messire.

1.2.2. Génotype sefrou

D'après les résultats (Tableau 7 , Figure 18) dans le cas de l'interaction avec la souche R2F42, l'indice de l'infection atteint 71,29% avec la souche BB10 et 82,41% avec la souche F21. Nous remarquons que l'évolution du taux d'infection avec les deux souches reste assez faible par rapport au témoin positif (Fop R2 F42). L'infection

début avec un taux de 51,43% chez la souche BB10 et 46,59% chez la souche F21. Pour ce dernier, l'évolution de l'indice d'infection a été brusque et rapide, en commençant déjà par 42,94% dès la première observation, pour dépasser 59,52% à la cinquième observation et atteindre un maximum de 90,81% durant les dernières observations

Concernant l'interaction avec la souche Arg1, le taux d'infection a marqué une stagnation au seuil de 72,78% avec la souche BB10 et 65,57% avec la souche F21. Nous constatons que l'infection débute avec un taux de 43,3% chez la souche BB10 et 40% chez la souche F21, pour atteindre une évolution assez faible et presque égale par rapport au témoin positive (Fop Arg1). Pour ce dernier, l'évolution de l'indice d'infection a été un peu brusque et rapide, en commençant par un indice de l'ordre de 43,81% dès la première observation pour dépasser le seuil de 45,33% dès la cinquième observation et atteindre le maximum de 64,86% durant les dernières observations (Tableau 7 , Figure 18).

Tableau 7 : Le taux d'infection du génotype sefrou.

	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
Sefrou+témoin	31,66	34,52	35,12	35,71	56,94	54,76	58,04	72,39	58,56
Sefrou +Fop R2F42	42,94	51,17	52,46	56,53	59,52	71,94	70	69,65	80,15
Sefrou + Fop R2F42 +BB10	51,43	50,1	53,57	54,19	49,63	63,88	79,63	82,25	71,29
Sefrou + Fop R2F42 +F21	46,59	52,99	60,42	64,67	67,89	75,59	77,13	94,59	82,41
Sefrou +Fop Arg1	43,81	43,25	50,18	53,57	45,33	60,92	64,78	63,52	64,86
Sefrou + Fop Arg1 +BB10	43,3	33,41	39,7	40,84	44,6	47,8	66,18	66,64	72,78
Sefrou + Fop Arg1 +F21	40	33,11	37,08	36,2	45,54	59,21	59,56	59,75	65,57

J : jours après inoculation.

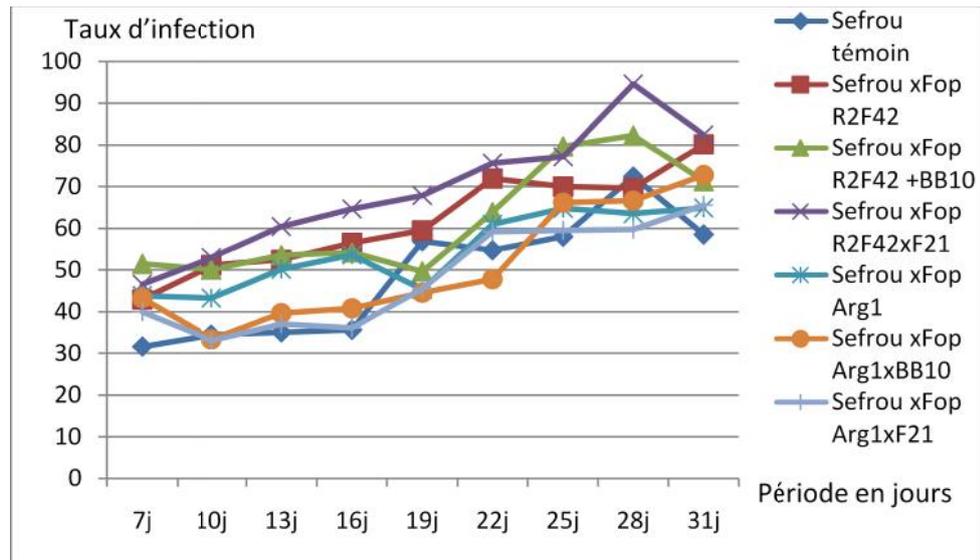


Figure 18 : Le taux d'infection du génotype sefrou.

1.2.3. Génotype kelvedon

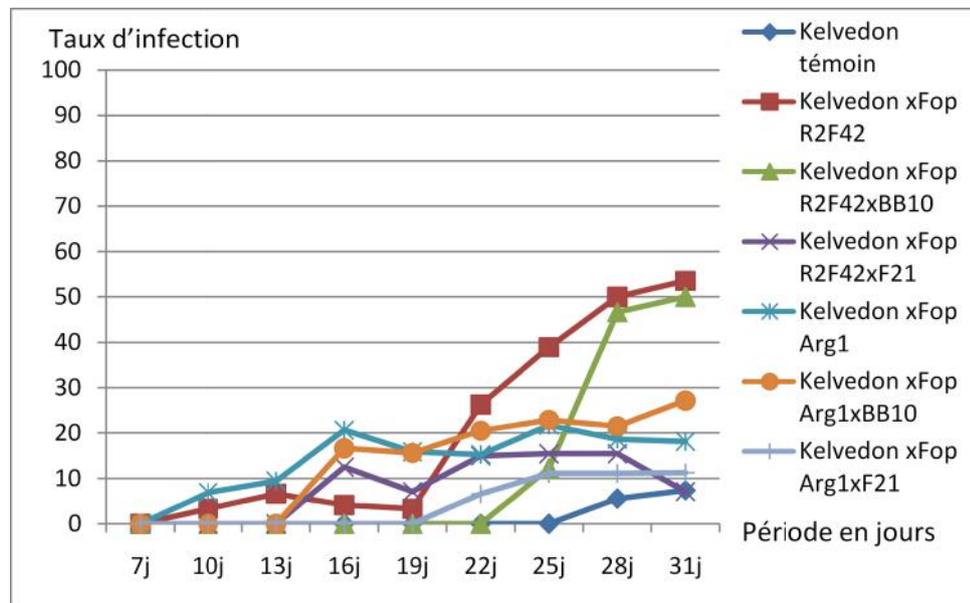
D'après les résultats mentionnés dans le tableau 8 et illustré par la figure 19, nous remarquons que l'infection débute après la troisième et la sixième observation avec des taux de 12,5% et 12,22% enregistrés respectivement par les deux souches F21 et BB10, pour atteindre le maximum avec un taux de 15,477% observé après 28 jours d'inoculation avec F21 et 50% après 31 jours d'inoculation avec la souche BB10 qui reste faible par rapport au témoin positif (Fop R2 F42). Pour ce dernier, l'évolution de l'indice d'infection a été brusque et rapide, en commençant par un indice 3,33% au cours de la deuxième observation et atteindre un maximum de 53,57% durant les dernières observations.

Dans le cas du traitement avec la souche Arg1, l'évolution de l'infection après l'inoculation avec les deux souches antagonistes, reste faible dans le cas de l'inoculation avec la souche F21 avec un taux maximum de 11,3% et supérieur au témoin (18,18%) dans le cas de l'inoculation avec la souche BB10 (27,18%).

Tableau 8 : Le taux d'infection du génotype kelvedon.

	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
Kelvedon+témoin	0	0	0	0	0	0	0	5,55	7,41
Kelvedon +Fop R2F42	0	3,33	6,66	4,16	3,33	26,31	38,97	50	53,57
Kelvedon + Fop R2F42 +BB10	0	0	0	0	0	0	12,22	46,66	50
Kelvedon + Fop R2F42 +F21	0	0	0	12,5	7,14	15	15,47	15,47	7,14
Kelvedon +Fop Arg1	0	6,94	9,44	20,66	15,87	15,28	21,75	18,65	18,18
Kelvedon + Fop Arg1 +BB10	0	0	0	16,66	15,62	20,53	22,92	21,52	27,18
Kelvedon + Fop Arg1 +F21	0	0	0	0	0	0	6,66	11,11	11,3

J : jours après inoculation.

**Figure 19** : Le taux d'infection du génotype kelvedon.

1.3. Sévérité

1.3.1. Génotype messire

D'après le diagramme on observe que la sévérité varie entre 0 VIS 5, le génotype présente des valeurs de VIS supérieures à 4 après 22j d'inoculation en cas d'inoculation avec la souche fongique R2F42 seul et avec les deux souches bactériennes, dont la sévérité est entre 4 VIS 4.5 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne BB10, et elle présente la valeur 5 en cas d'inoculation avec la souche

bactérienne F21, ce qui le classe comme sensible à la souche R2F42. Le même génotype présente des valeurs de VIS entre 0 VIS 3 en cas d'inoculation avec la souche fongique Arg1 seul et avec les deux souches bactériennes, dont elle varie entre 1.5 VIS 2 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne BB10, tandis que elle présente une valeur de VIS supérieur à 2.5 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne BB10, ce qui le classe comme résistant à la souche Arg1 (Figure 20).

Nous avons constaté que ce génotype est résistant à la souche fongique Arg1, et que la souche bactérienne BB10 est plus efficace plus apte à réduire la maladie par rapport à souche bactérienne F21.

Tableau 9 : La sévérité du génotype messire.

	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
Messire+témoin	1,17	2,36	2,4	2,5	2,34	2,97	2,86	2,72	2,91
Messire+Fop R2F42	2,32	2,99	2,24	2,74	3,67	4,1	4,16	4,35	4,36
Messire+ Fop R2F42 +BB10	1,66	1,54	2,14	2,19	3,15	3,84	4,14	4,18	4,33
Messire+ Fop R2F42 +F21	1,97	2,34	2,35	2,61	3,64	3,96	4,64	4,88	4,92
Messire+Fop Arg1	1,41	1,58	1,94	1,98	2,12	2,12	2,54	2,36	2,22
Messire+ Fop Arg1 +BB10	1,15	1,41	1,44	1,39	1,77	1,85	1,84	1,91	1,89
Messire+ Fop Arg1 +F21	1,29	1,57	1,55	1,75	2,03	2,44	2,56	2,85	2,77

J : jours après inoculation.

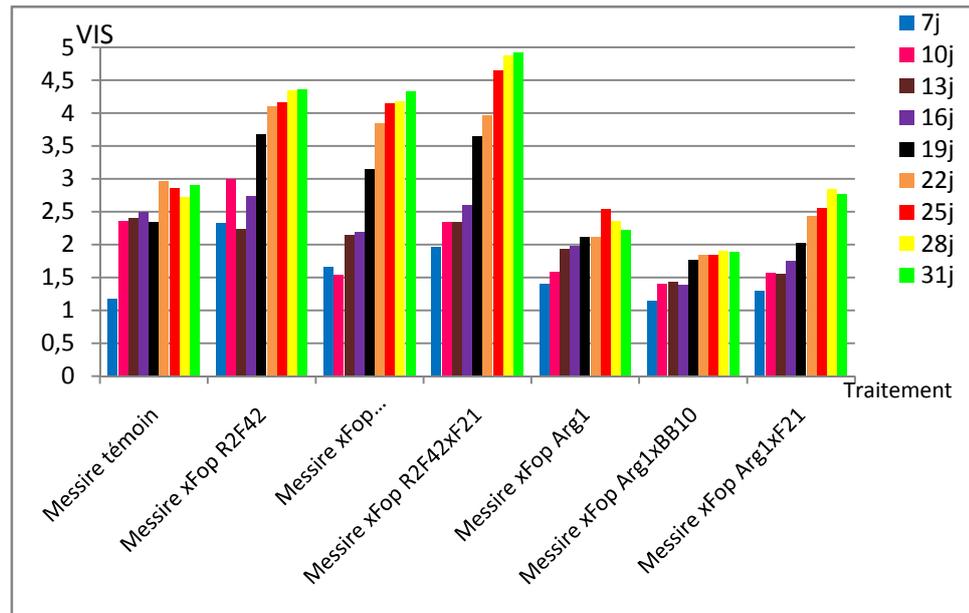


Figure 20 : Valeur de VIS de génotype Messire 31 jours après l'inoculation avec les deux souches fongiques (Fop R2F42, Fop Arg1) et les deux souches bactériennes (BB10, F21).

1.3.2. Génotype sefrou

D'après le diagramme, nous avons observé que la sévérité varie entre 0 VIS 4. Le génotype présente des valeurs de VIS entre 3 VIS 4 après 31j d'inoculation en cas d'inoculation avec la souche fongique R2F42 seul et avec les deux souches bactériennes dont la sévérité présente la valeur de 3 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne BB10, tandis qu'elle présente la valeur de 4 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne F21, ce qui le rend partiellement résistant à la souche fongique R2F42. Cet génotype présente des valeurs de VIS entre 0 VIS 3 en cas d'inoculation avec la souche fongique Arg1 seul et avec les deux souches bactériennes, dont elle varie entre 2,5 VIS 3 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne BB10, tandis qu'elle présente une valeur de VIS inférieure à 2.5 en cas d'inoculation avec la souche bactérienne F21, ce qui le rend c résistant à la souche fongique Arg1 (Figure 21).

Nous avons constaté que ce génotype est résistante à la souche fongique Arg1, et que la souche bactérienne BB10 est plus efficace et peut réduire la maladie comparativement à souche bactérienne F21.

Tableau 10 : La sévérité du génotype sefrou.

	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
Sefrou+témoin	1,41	1,64	1,49	1,9	2,12	2,39	2,36	2,75	2,55
Sefrou +Fop R2F42	2,27	2,34	2,38	2,65	2,97	3,76	3,67	3,74	3,89
Sefrou + Fop R2F42 +BB10	1,9	2,21	2,34	2,26	2,38	2,67	2,94	2,98	3,11
Sefrou + Fop R2F42 +F21	2,22	2,63	2,71	3,07	3,4	3,59	3,57	4,19	4,11
Sefrou +Fop Arg1	1,98	2,05	2,16	2,38	2,17	2,62	2,56	2,61	2,76
Sefrou + Fop Arg1 +BB10	1,64	1,47	1,81	1,84	2,01	1,98	2,48	2,38	2,76
Sefrou + Fop Arg1 +F21	1,85	1,74	1,77	1,83	2,21	2,38	2,24	2,18	2,35

J : jours après inoculation.

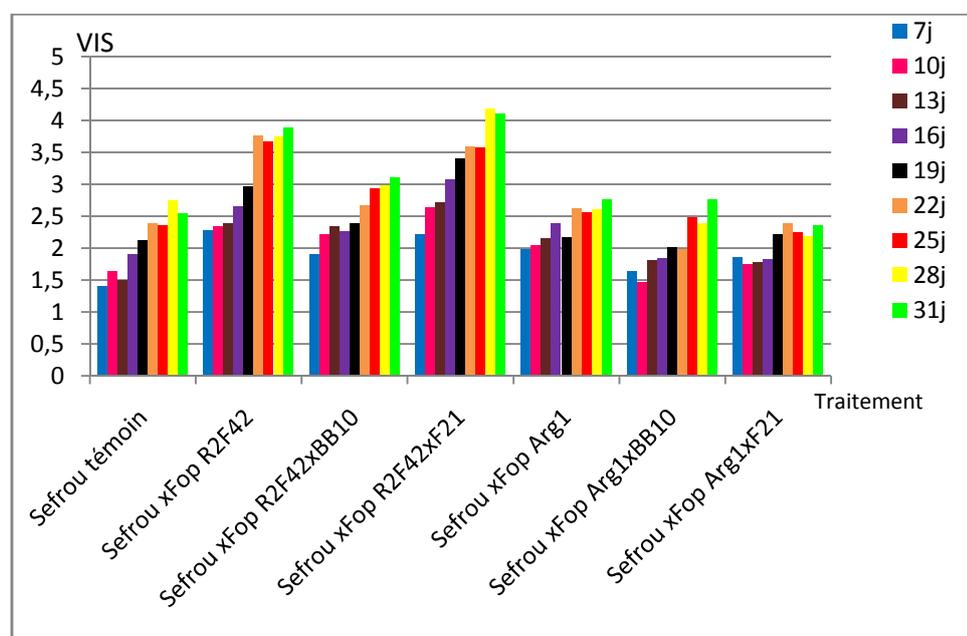


Figure 21: Valeur de VIS de génotype Sefrou 31 jours après l'inoculation avec les deux souches fongique (Fop R2F42, Fop Arg1) et les deux souches bactériennes (BB10, F21).

1.3.3. Génotype kelvedon

D'après le diagramme nous remarquons qu'avec ce génotype la sévérité de la maladie présente des valeurs de VIS entre 0 VIS 3 après 31 jours d'inoculation, nous avons constaté que ce génotype est résistant aux deux souches fongiques R2F42 et Arg1 (Figure 22).

Cet indice nous a permis de constater que le génotype kelvedon est plus résistant aux deux souches fongiques par rapport aux génotypes Messire et Séfrou qui sont classés comme résistant au Arg1 et sensible au R2F42. La souche bactérienne BB10 est plus efficace que la souche F21.

Tableau 11 : La sévérité du génotype kelvedon.

	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
Kelvedon+témoin	0,9	1	1	1	1	1	1	0,98	1,07
Kelvedon +Fop R2F42	1	1,03	1,07	1,04	1,03	1,88	2,37	2,61	2,51
Kelvedon + Fop R2F42 +BB10	1	1	1,07	1	1	1	1,29	2,4	2,33
Kelvedon + Fop R2F42 +F21	1	1,33	1	1,33	1,25	1,15	1,39	1,39	1,28
Kelvedon +Fop Arg1	1	1,21	1,23	1,45	1,23	1,47	1,58	1,67	1,47
Kelvedon + Fop Arg1 +BB10	1	1	1	1,17	1,5	1,44	1,73	1,79	1,72
Kelvedon + Fop Arg1 +F21	1	1	1	1	1	1,07	1,22	1,33	1

J : jours après inoculation.

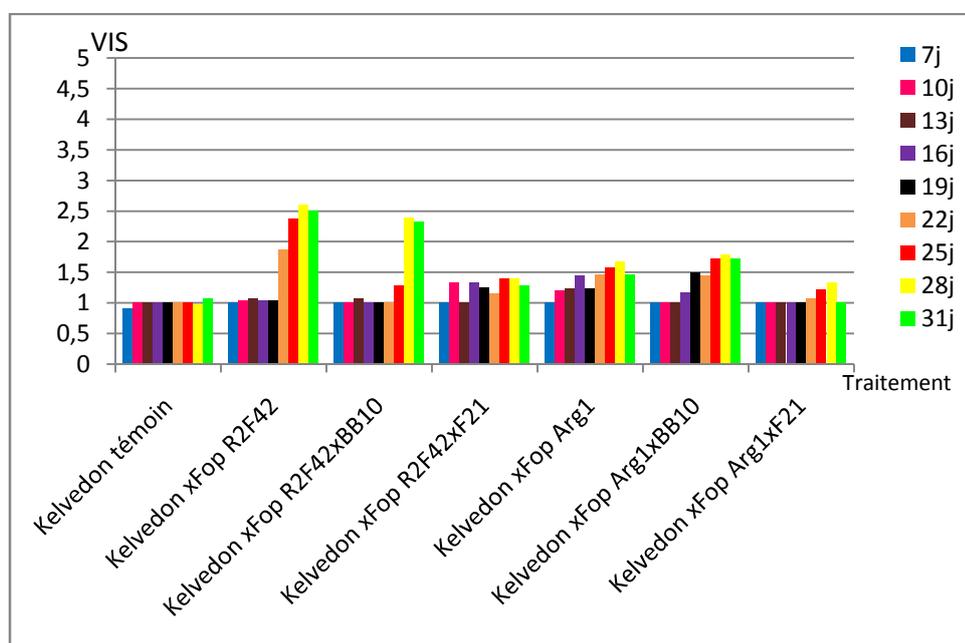


Figure 22 : Valeur de VIS de génotype kelvedon 31 jours après l'inoculation avec les deux souches fongiques (Fop R2F42, Fop Arg1) et les deux souches bactériennes (BB10, F21).

1.4. L'AUDPC

Une activité antagoniste a été montrée par les deux souches bactériennes BB10 et F21 vis-à-vis de deux isolats fongiques Fop R2F42 et Fop Arg1 avec les trois génotypes de petit pois « Messire, Sefrou et Kelvedon ». Cette inhibition est détectable durant 31 jours de suivi du développement de la maladie et a été exprimée par l'AUDPC (Figure 23).

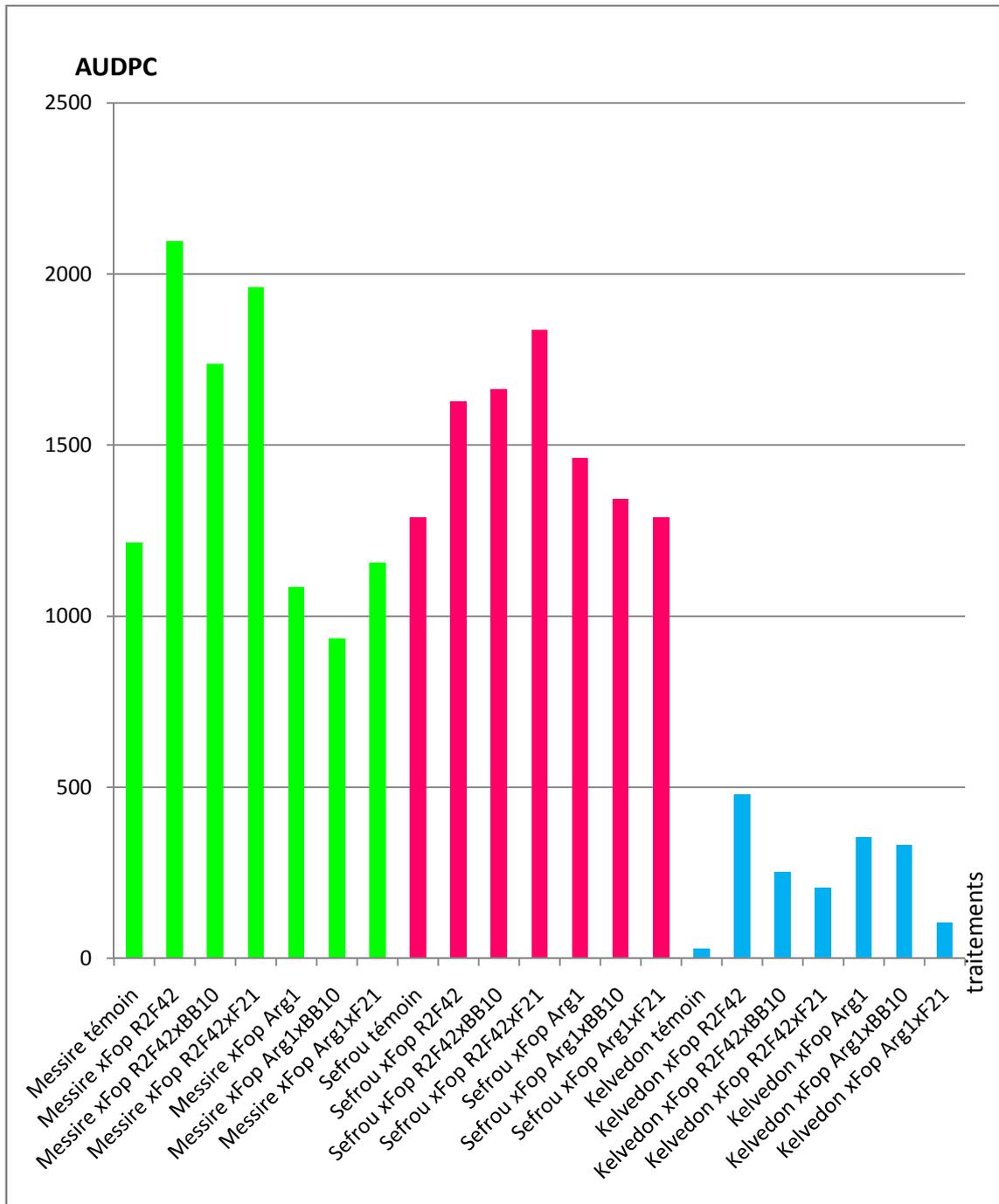


Figure 23 : L'AUDPC du trois génotype du petit pois.

1.4.1. Génotype messire

Pour le génotype messire en interaction avec la souche R2F42, le traitement inoculé par la souche antagoniste BB10 présente une faible valeur d'AUDPC par rapport au deuxième traitement inoculé par la deuxième souche antagoniste F21 où le taux de réduction de la maladie est 17,11% avec BB10 et 6,47% avec F21. L'activité antagoniste de la souche BB10 est forte par rapport à la souche F21 en interaction avec cette souche fongique et ce génotype.

Dans le cas de génotype messire en interaction avec la souche Arg1, le traitement inoculé par la souche antagoniste F21 présente une forte valeur d'AUDPC par rapport au témoin positive contrairement au traitement inoculé par la deuxième souche antagoniste BB10 qui a montré une valeur d'AUDPC un peu faible où la souche BB10 a été permise une réduction du 13,82% de la maladie et la souche F21 permise une évolution du 6,47% de la maladie. Donc, la souche F21 a un effet négative par rapport à la souche BB10 qui a une activité antagoniste en interaction avec cette souche fongique et ce génotype.

1.4.2. Génotype sefrou

Pour le génotype sefrou en interaction avec la souche R2F42, le traitement inoculé par la souche antagoniste F21 présente une forte valeur d'AUDPC par rapport au traitement inoculé par la souche antagoniste BB10 et la valeur d'AUDPC du témoin positive est la plus faibles de ces dernières deux valeurs où le taux de l'évolution de la maladie est de 12,75% avec la souche F21 et 2,15% avec la souche BB10. Nous remarquons qu'il y a une absence de l'activité antagoniste des deux souches où la souche F21 a un effet négative plus fort par rapport à la souche BB10 en interaction avec cette souche fongique et ce génotype.

Pour le génotype sefrou en interaction avec la souche Arg1, le traitement inoculé par la souche antagoniste BB10 présente une faible valeur d'AUDPC par rapport au deuxième traitement par la deuxième souche antagoniste F21 où le taux de réduction de la maladie est 11,72% avec BB10 et 8,6% avec F21. L'activité antagoniste de la souche

BB10 est supérieure par rapport à l'activité antagoniste de la souche F21 en interaction avec cette souche fongique et ce génotype.

1.4.3. Génotype kelvedon

Pour le génotype kelvedon en interaction avec la souche R2F42, le traitement inoculé par la souche antagoniste BB10 présente une très faible valeur d'AUDPC par rapport au deuxième traitement inoculé par la deuxième souche antagoniste F21 (où le taux de réduction de la maladie est de 56,65% avec BB10 et 47,42% avec F21). L'activité antagoniste de la souche BB10 est forte par rapport à celle de la souche F21 en interaction avec cette souche fongique et ce génotype.

Pour le génotype kelvedon en interaction avec la souche Arg1, le traitement inoculé par la souche antagoniste BB10 présentant une très faible valeur d'AUDPC par rapport au deuxième traitement inoculé par la deuxième souche antagoniste F21 où le taux de réduction de la maladie est de 70,65% avec BB10 et 5,81% avec F21. L'activité antagoniste de la souche BB10 est très forte par rapport à celle de la souche F21 en interaction avec cette souche fongique et ce génotype.

D'après l'AUDPC du génotype kelvedon qui est le plus faible par rapport aux AUDPC des deux génotypes messire et sefrou. Les résultats de AUDPC montrent que le génotype kelvedon est un génotype résistant aux deux souches fongiques R2F42 et Arg1, et nous remarquons que le génotype messire est un peu plus sensible que le génotype sefrou.

En résulte que l'activité antagoniste de la bactérie BB10 est forte par rapport à celle de la souche F21.

2. Essai en plein champ

En absence de symptômes en plein champ, le poids frais de la partie aérienne et souterraine, des gousses et des graines ont été mesurés (témoin et en interaction avec les deux bactéries). Notre objectif est la vérification de l'action de biostimulation de la croissance de la plante de petit pois par les deux souches antagonistes (PGPR) BB10 et F21 (Tableau 12).

Tableau 12: poids frais du trois génotype de petits pois en interaction avec les souches BB10 et F21.

Traitements	P.aérienne	P.souterraine	Gousses	Graines
P629	7,62	0,66	0,99	0,19
P629 x BB10	4,35	0,15	0,75	0,25
P629 x F21	9,36	0,15	1,65	0,23
Messir	14,2	0,25	1,59	0,31
Messir x BB10	2,77	0,3	1,46	0,35
Messir x F21	6,47	0,1	1,19	0,29
Sefrou	12,29	0,1	0,40	0,38
Sefrou x BB10	7,9	0,37	0,71	0,026
Sefrou x F21	3,5	0,36	0,61	0,18

Après l'examinassions de ces paramètres indiqués ci-dessous. Globalement, nous constatons qu'avec le génotype P629, la phytostimulation est nettement apparente dans les cas des poids frais aérien et même les gousses. Mais l'effet de stimulation avec le génotype sefrou a été apparu au niveau de la partie souterraine et même les gousses. Par contre, l'effet de phytostimulation n'a pas été constaté avec le génotype messire.

3. Discussion

Notre travail a pour objectif d'expérimenter les potentialités antagonistes in situ de deux souches bactérienne B1B2 en interaction avec *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi sur 3 génotypes de *Pisum* spp dans des conditions d'infection semi-contrôlées.

La fusariose vasculaire cause un ensemble de symptômes externes incluant l'éclaircissement des nervures, l'enroulement des feuilles, le flétrissement, le jaunissement, les nécroses puis la mort de la plante (MachHady et Beckman, 1983). Ces symptômes peuvent être le résultat d'un déficit hydrique dû à l'occlusion des vaisseaux (MachHardy et Beckmen, 1983) ou de la combinaison des activités du pathogènes, telles que la condensation du mycélium dans les cellules du xylème et ou la production des toxines (Charchar et Kraft, 1989).

En parallèle à ces symptômes externes, l'infection du pois par Fop est généralement associée avec une décoloration des tissus vasculaire qui devient rouge-orange ou noir. Chez les plantes sensibles, cette décoloration vasculaire progresse de la racine vers la tige et elle est généralement plus intense en repense à la race 2 de champignon (Kraft et al., 1998 ; Kraft et Pflieger ,2001).

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie (taux d'infection, VIS, et AUDPC) ont révélé une variabilité des réponses des 3 génotypes bactérisés vis-à-vis des deux souches de Fop. Cette variabilité correspond à la résistance complet, la résistance partielle et à la susceptibilité totale.

Le taux d'infection seul apparait insuffisant pour distinguer les génotypes résistants, partiellement résistants et susceptibles (Infantino, 2006). Afin de décrire correctement la réaction des 3 génotypes bactérisés en interaction avec les deux souches de Fop, nous avons complété le calcul des taux d'infection par une évaluation de la sévérité des symptômes (VIS).Un tel indice de sévérité a été utilisé dans plusieurs études pour évaluer la résistance du pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire (Charchar et Kraft, 1989 ; Neumann et Xue, 2003 ;Bani et al, 2011).

Les deux souches bactériennes ont été choisies suite à leur capacité à produire une gamme des métabolites secondaires : sidérophores, AIA , phosphatase , protéase extracellulaire, phenasine, HCN,...ect.

Dans notre travail, la bactérisation présente des taux d'infection très faibles chez le génotype Kelvedon, entre 0 VIS 3 ce qui le classe comme résistant. Ces effets bénéfiques de la bactérisation résultent à la fois des activités spécifiques des bactéries et leurs densités dans la rhizosphère de la plante hôte (Iermeau, 2001). L'obtention de ces effets est conditionnée par le succès de la colonisation racinaire, il est bien connu que la colonisation racinaire est une étape critique (Parker, 1991) ; la colonisation efficace des racines par des PGPR est un événement essentiel pour l'expression optimale de l'activité de biocontrôle agissant par compétition pour le substrat ou antibiose. Globalement la colonisation rhizosphérique est dépendante des caractéristiques du sol et de génotype végétal (Bloemberg et Lugtenberg, 2001).

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 (Yang et *al.*, 2009) (Bais et *al.*, 2004). Les mécanismes par lesquels les agents de lutte biologique bactérienne peuvent prodiguer leur effet protecteur sont multiples, et peuvent varier pour un microorganismes donné en fonction du pathosystème sur lequel il est appliqué (Compant et *al.*, 2005) .

Les caractéristiques microbiologiques du sol influencent directement la survie de la souche de *Pseudomonas* inoculée. Cette survie est d'autant meilleure que la biomasse microbienne est limitée. (Olivain et *al.*, 2003), et que la quantité de nutriments est importante (Davies et Whitebread, 1989).

Restreindre l'évaluation de la maladie à une seule valeur de taux d'infection semble limiter et ne reflète pas les détails de la fusariose du pois. Pour cela, nous avons calculé l'AUDPC (Teng et James, 2002) car ce paramètre évalue la progression de la maladie dans le temps, à travers les différents stades phénologiques de la plante.

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie utilisées dans ce travail, nous ont permis de distinguer l'effet antagoniste des deux souches bactériennes sur les 3

génotypes , la souche bactérienne BB10 a une efficacité plus élevée que la souche B1 sur le génotype Kelvedon qui se définit par une résistance à long terme.

La résistance à long terme, après plusieurs décennies de suite dans un sol contaminé est liée fortement à la stabilité des propriétés physico-chimiques et biologiques de ce sol (Hornby et al, 1995). Contrairement, la résistance à court terme s'observe uniquement pendant quelques cycles végétatifs seulement. Ce phénomène est lié aux résultats d'un changement exogène rapide dans l'environnement physique, chimique et ou biologique du sol ; introduction des antagonistes, matière organique, engrais ...etc. (Ramamoorthy et al., 2001).

Conclusion

La fusariose vasculaire du petit pois, causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*, a été signalée dans tous les pays où le pois est cultivé. La maladie est souvent sévère là où on pratique de courtes rotations avec d'autres cultures. Dans ces conditions, quand le pathogène développe des quantités suffisantes d'inoculum et en présence d'un cultivar sensible, il en résulte des pertes économiques considérables en raison des possibilités réduites du contrôle chimique de cette maladie.

L'application de deux souches bactériennes BB10 et F21 de *Pseudomonas*, en tant qu'agent de lutte contre la fusariose vasculaire de petit pois, nous a permis de mettre en évidence des potentialités de biocontrôle élevées chez les deux souches étudiées. Une diminution de sévérité sur les plantes est notée, ainsi qu'une diminution des taux d'infection ont été enregistrés, entre 3 et 4 de VIS, ce qui confirme le pouvoir antagoniste des deux souches.

Selon les valeurs du taux d'infection et de sévérité, la souche bactérienne BB10 était la plus antagoniste face aux souches fongiques utilisées, en enregistrant des taux d'infection ne dépassant pas 88,89%. Les niveaux de sévérité enregistrés (VIS) étaient entre 3 et 4.

Notre expérimentation peut nous permettre de mettre en évidence le rôle des bactéries BB10 et F21 dans la stimulation et la croissance lors des phénomènes de biocontrôle. Ces bactéries sont connues pour leurs activités antagonistes, liées en grande partie à la production des métabolites secondaires tels le DAPG (2,4-diacetylphoroglucinol) et l'acide cyanhydrique.

Pour la poursuite de ce travail, il serait intéressant d'étudier et découvrir l'effet syringique en ajoutant d'autres souches antagonistes connu par leur fort effet antagoniste contre *Fusarium oxysporum* f.sp.*pisi*. En plus, il serait intéressant d'approfondir l'étude de ce comportement au niveau cellulaire et moléculaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abawi G S and Lorbeer JW, (1965).** Cultural variability and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa*. *Phytopathology*, 55, 1051.
- A.K. Tripathi, et B.N. Johri. (2005).** Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr. Sci.* **89**: 136-150.
- Agrios, G.N. (2005).** *Plant Pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- Armstrong GM and Armstrong JK, (1975).** Reflections on the wilt *Fusarium*. *Ann Rev. Phytopathology*, 13:95-103.
- Armstrong GM and Armstrong JK,(1981).** *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases in Fusarium: diseases, biology and taxonomy*, Edited by Nelson PE, Tousson TA and Cook RJ, The Pennsylvania State University Press: 391-399.
- Awuah T et lorbeer JW, (1988).** Nature of cultural variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Apii* Race 2. *Phytopathology*,78: 385-389.
- Bani M , Rubiale D . and Rispaill N , (2012) .** A detailed evaluation methode for identify source of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f . sp .*pisi* race 2 within a *Pisum* spp . germplasm collection . *Plant Pathology* 61 , 532-542.
- 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.
- Belimov, A.A., N. Hontzeas, V.I. Safronova, S.V. Demchinskaya, G. Piluzza, S. Bullitta, et B.R. Glick. (2005).** Cadmium tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.). *Soil Biol. Biochem.* **37**: 241–250.

Références bibliographiques

- Bergsma-Vlami, M., Prins, M. E. and Raaijmakers, J.M. (2005).** Influence of plant species on population dynamics, genotypic diversity and antibiotic production in the rhizosphere by indigenous *Pseudomonas* spp. *FEMS Microbiol. Ecol.* **52**(1):59-69.
- Bleecker, A.B., et H. Kende. (2000).** Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **16**: 1-18.
- Bolton, A.T., Nutallm,V.W. and Lyal, L.H. (1966).** A new race of *Fusarium oxysporum* f pisi. *Can. J. Plant. Sci.*, 46: 343-347.
- Bonmatin, J.M., Laprevote, O. and Peypoux, F. (2003).** Diversity among microbial cycliclipopeptides: iturins and surfactins. Activity–structure relationships to design new bioactiveagents. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **6**(6):541-556.
- Booth C, (1985).** The Genus *Fusarium*. Kew, Surrey, Great Britain: Commonm Wealth Mycological Institute, 9p.
- Bouizgarne B, Ouhdouch Y, Bouteau F and Elhdrami I, (2004).** Electophysiological responses to fusaric acid root hairs from seedlings of date dalm-susceptible and resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Phytopathology*, 152: 321- 324.
- Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodriguez, M.I., Chulze, S. and Etcheverry, M. (2005).** Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Res.Microbiol.* **156**(5-6):748-754.
- Charchar . M , and Kraft . J . M , (1989) .** Reponce if near-isogenic pea cultivars to infection by *Fusarium oxysporum* F . sp . pisi Race 1 and 5 , *Canadian Journal of Plant Science* , 69 : 1335-1346.
- Collins, D.P. and Jacobsen, B.J. (2003).** Optimizing a *Bacillus subtilis* isolate for biological control of sugar beet *Cercospora* leaf spot. *Biol. Control.* **26**(2):153-161.
- Compant, S., B. Duffy, J. Nowak, C. Clément, et E. Ait Barka. (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.

Références bibliographiques

- Cousin, R., (1997).** Peas, *Pisum sativum* L. Field Crops Research 53, 111-130..
- Davies KG, Whitebread R. (1989).** Factors affecting the colonization of a root system by fluorescent pseudomonads : the effects of water, temperature and soil microflora. Plant soil 116, 247-256.
- Defago, G. (1993).** 2,4-Diacetylphloroglucinol, a promising compound in biocontrol. Plant Pathol. **42**: 311–312.
- De Souza, J. T., M. De Boer, P. DeWaard, T.A. Van Beek, et J.M. Raaijmakers. (2003).** Biochemical, genetic, and zoosporicidal properties of cyclic lipopeptide surfactants produced by *Pseudomonas fluorescens*. Appl. Environ. Microbiol. **69**: 7161-7172.
- Di Pietro A, García-Maceira FI, Meglecz EY and Roncero MI, (2001).** A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis. *Mol Microbiol* 39: 1140-1152.
- Di Pietro A., Madrid M.P, caracuel Z., Delgado-Jarana J. and Roncero M.I., (2003).** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. Mol. Plant Pathol. 4:315-325.
- Dimkpa, C., I. Tanjawi, et F. Asch. (2009).** Plant–rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. Plant Cell Environ. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02028.x. p 1-13.
- Djerbi M, (2003).** *Fusarium oxysporum f.sp.albedini*. OEPP/EPPO Bulletin, 33 : 245-247.
- Dossa C, (1993).** Variabilité de la morphologie et du pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum Schlecht. f. sp. Elaeidis* Toovey, agent de la fusariose du Palmier à huile. Ph.D. thesis. Université Montpellier II, Montpellier, France.
- Duniway, J.M. (2002).** Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. Phytopathology, 92: 1337-1343.

Références bibliographiques

- EL Hadrami I, El bellaj M, Daayf F, Clerivet A and Macheix JJ. (1998).** Interaction palmier dattier-fusarium oxysporum albedinis, agent causal du bayoud : Réponse du métabolisme phénolique à des infections racinaires très localisées et relations avec la résistance des cultivars. 2nd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry (ECSOC-2).
- El Modafar C, Tantaoui A and El Boustani E, (2000).** Changes in cell wall-bound phenolic compounds and lignin in roots of date palm cultivars differing in susceptibility to *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*. *Jornal. Phytopathol.* 148: 405-411.
- FAOSTAT,(2013):** <http://faostat.fao.org>.
- Fernandez D, lourd M, Ouinten M, Tantaoui A and Geige JP, (1995).** Le bayoud du palmier dattiers. *Phytoma protection des végétaux*, 469: 36-39.
- Fravel, D.R., Rhodes, D.J. and Larkin, R.P. (1999).** Production and commercialization of biocontrol products. In *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*, edited by R. Albajes, M. L. Gullino, J. C. van Lenteren and Y. e. Elad: Dordrecht: Kluwer.
- Fravel, D., Olivain, C., Alabouvette, C. (2003).** *Fusarium oxysporum* its biocontrol. *New Phytologist*.
- Fravel, D. R. (2005).** Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43:337-359.
- Fuskey, (1996).** *Fusarium* interactive key(Agr. and Agri-Food Canada. 65 p. <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.html>
- Glick, R.B., Z. Cheng, et J. Czarny. 2007.** Promotion of plant growth by ACC deaminas-producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 329-339.
- Goth, R.W. and Webb, R.E. (1981).** Sources and genetics of host resistance in vegetable crops. In: Mace, M.E., Bell, A.A. and Beckman C.H. (eds) *Fungal Wilt Diseases of Plants*. Academic Press, New York, USA, pp. 377-411.

Références bibliographiques

- Gordon TR y Okamoto D, (1992).** Population structure and the relationship between pathogenic and nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 82: 73-77.
- Gordon TR and Martyn, (1997).** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 35:111-128.
- Guimaraes, E.P., Ruane, J., Scherf, B.D., Sonnino, A. and Dargie, JD. (2007).** Marker-Assisted Selection, Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. FAO, Rome, 494p.
- Haas, D. and Defago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3(4):307-319.
- Haas, D. and Defago, G. (2005).** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3(4):307-319.
- Hagedorn, D.J. (1984).** Compendium of Pea Diseases. Am Phytopath Soc, Saint-Paul, Minnesota, USA, 57p.
- Haglund, W.A., Kraft, J.M. (1970).** *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi race 5. *Phytopathology* 60, 1861-1862.
- Haglund, W.A. and Kraft, JM. (1979).** *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi, race 6: Occurrence and distribution. *Phytopathology*, 69: 818-820.
- Hare, W.W., Walker, J.C. and Delwiche, E.J. (1949).** Inheritance of a gene for near wilt resistance in the garden pea. *J. Agric. Res.*, 78: 239-250.
- Henni JC, Boisson E et Geiger JP, (1994).** Variabilité de la morphologie chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *Iycopersici*. *Phytopath. medit.*, 33: 51-58.
- Hjeljord, L.G., Stensvand, A. and Tronsmo, A. (2000).** Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries. *Biol. Control.* 19(2):149-160.

Références bibliographiques

- Huebbling, N. (1974).** Testing for resistance to wilt and near wilt of peas caused by race 1 and race 2 of *Fusarium oxysporum* f. pisi. Meded. Fac. Landbouwwet Gent., 29: 991-1000.
- Infantino . A , Khrrat . M , Riccioni . L , Coyne . C . j , Mcphee . K . E and Grunwald . N . j . (2006),** Screening Technique and Sources of Resistance to Root Diseases in Cool Season Food Legums , *Euphytica* , 147 : 201-221.
- Jacques, P., P. Delfosse, M. Ongena, P. Lepoivre, P. Cornélis, N. Koedam, L. Neirinckx, et P. Thonart. (1993).** Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas* fluorescents dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. Cahiers Agric. 2 : 301-307.
- Jarvis, W.R. Shoemaker, R.A (1978).** Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root-rot of tomato. *Phytopathology*, 68: 1679-1680.
- Ji, P., Campbell, H.L., Kloepper, J.W., Jones, J.B., Suslow, T.V. and Wilson, M. (2006).** Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biol. Control*. 36(3):358-367.
- Jofre, E., Lagares, A. and Mori, G. (2004).** Disruption of dTDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiol. Lett.* 231(2):267-275.
- Jones, F.R. and Linford, M.B. (1925).** Pea Disease Survey in Wisconsin. Wisc. Agric. Exp. Sta. Res. Bull., WI, USA, 64, 31 p.
- Jourdan, E., M. Ongena, et P. Thonart. (2008).** Caractéristiques moléculaires de l'immunité des plantes induite par les rhizobactéries non pathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 437-449.
- Karnwal, A. (2009).** Production of indole acetic acid by fluorescent *Pseudomonas* in the presence of L-Tryptophan and rice root exudates. *J. Plant Pathol.* 91: 61-63.
- Keiko, Y. and Nagisa, M. (2005).** Control of Fusarium Wilt of Pea and Occurrence conditions. Research Bulletin of the Aichi-ken Agricultural Research Center, 37: 105-110.

Références bibliographiques

- Keneni, A., F. Assefa, et P.C. Prabu. (2010).** Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of *faba bean* of Ethiopia and their abilities on solubilization insoluble phosphates J. Agr. Sci. Tech. **12**: 79-89.
- Khan, A. A., G. Jilani, M.S. Akhtar, S. M. S. Naqvi, et M. Rasheed. (2009).** Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and their role in crop production. J. agric. biol. sci. **11**: 48-58.
- Kim, K.Y., D. Jordan, et G. A. McDonald. (1998).** Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. Biol. Fertil Soils. **26**: 79-87.
- Kistler HC, (2001).** Evolution of the Host specificity in *Fusarium oxysporum* in *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial Symposium: 70-96.
- Kraft, J.M., Muehlbauer, F.J., Cook, R.J. and Entemann, F.M. (1974).** The reappearance of common wilt of peas in eastern Washington. Plant Dis. Rep., 58: 62-64.
- Kraft, J.M. and Haglund, W.A. (1978).** A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f sp pisi. Phytopathology, 68: 273-275.
- Kraft, J.M., (1994).** *Fusarium* wilt of peas (a review). Agronomie 14: 561–567.
- Kraft . J . M , Larren . R . C , and Inglls . D . A , (1998) .** Disease of pea . In : Allen . D . J , and Lenne . j . M , (Eds) . The Pathology of Food and Pasture Legumes . CAB International , walling ford Likp . 325-370.
- Kraft . JM . and Pflieger . F . L , (2001) .** Compendium of pea Diseases , Aps Press . St ; panl , Mimesda , USA . 67 p.
- Kouassi, M. (2001).** La lutte biologique: une alternative viable à l'utilisation des pesticides *Vertigo*. **2(2)**.
- Larkin, R.P. and Fravel, D.R. (2002).** Effects of varying environmental conditions on biological control of *Fusarium* wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. *Phytopathology*. **92(11)**:1160–1166.

Références bibliographiques

- Lee, J.P., Lee, S.W., Kim, C.S., Son, J.H., Song, J.H., Lee, K.Y., Kim, H.J., Jung, S.J. and Moon, B.J. (2006). Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biol. Control*. **37**(3):329-337.
- Lemanceau, P. , Bakker,P.A.H.M. ,De Kogel, W.J. , Alabouvette,C., Schippers, B. , (1992). Effet of pseudobactin 358 production by *Pseudomonas putida* WCS 358 on suppression of Fusarium wilt of carnation by non pathogenic *Fusarium oxysporum* F047.APPL.ENV.MICROBIOL. **58**: 2978-2982.
- Leslie John F and Summerll A, (2006). The Fusarium laboratory Manuel. Blackwell Publishing, USA, 387 p.
- Lin, T.P., Chen, C.L., Fu, H.C., Wu, C.Y., Lin, G.H., Huang, S.H., Chang, L.K. and Liu, S.T. (2005). Functional analysis of fengycin synthetase FenD. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Gene Structure and Expression*. **1730**(2):159-164.
- Linford, M.B. (1928). A Fusarium Wilt of Peas in Wisconsin. Wisc. Agric. Exp. Sta. Res. Bull. WI, USA, 85, 43.
- Lourenco Junior, V., Maffia, L.A., Romeiro, R.d.S. and Mizubuti, E.S.G. (2006). Biocontrol of tomato late blight with the combination of epiphytic antagonists and rhizobacteria. *Biol. Control*. **38**(3):331-340.
- Lugtenberg, B., et F. Kamilova. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **63**: 541-56.
- Mayak, S., T. Tirosh, et B.R. Glick. (2004)a. Plant growth- promoting bacteria that confer resistance to water stress in tomato and pepper. *Plant Sci.* **166**: 525-530.
- Mayak, S., T. Tirosh, et B.R. Glick. (2004)b. Plant growth- promoting bacteria confer resistance in to tomato plants to salt stress. *Plant Physiol. Biochem.* **42**: 565-572.
- McGowan, S.J., Barnard, A.M.L., Bosgelmez, G., Sebahia, M., Simpson, N.J.L., Thomson, N.R., Todd, D.E., Welch, M., Whitehead, N.A. and Salmond, G.P.C. (2005). Carbapenem antibiotic biosynthesis in *Erwinia carotovora* is regulated by physiological and genetic factors modulating the quorum sensing-dependent control pathway. *Mol. Microbiol.* **55**(2):526-545.

Références bibliographiques

- McPhee K.E., Tullu A., Kraft J.M. and Muehlbauer F.J., (1999).** Resistance to fusarium wilt race 2 in the Pisum core collection. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*,124:28-31.
- McPhee, K.E., (2007).** Pea. In: Chittaranjan, K. (ed) *Genome mapping and molecular breeding in plants, Volume 3, Pulses, Sugar and Tuber Crops* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, pp. 33-45.
- McSpadden Gardener, B. B., Mavrodi D. M., Thomashow, L.S. and D. M. Weller. (2001).** A rapid polymerase chain reaction-based assay characterizing rhizosphere populations of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing bacteria. *Phytopath.* **91**:44-54. (segmoha ms el al, 2001).
- Mendgen K, Hahn M and Deising H, (1996).** Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 34:367-386.
- Mendoza Garcia, R.A., Martijn ten Hoopen, G., Kass, D.C.J., SanchezGarita, V.A. and Krauss, U. (2003).** Evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of *Rosellinia* root rot in cocoa. *Biol. Control.* **27**(2):210-227.
- Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A. and Gullino, M.L. (2006).** Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crop Protect.* **25**(5):468-475.
- Mirleau , P ., Philippot, L., Corberand, T., Lemanceau, P., (2001).** Involvement of Nitrate Reductase and Pyoverdine in Competitiveness of *Pseudomonas fluorescences* Strain C7R12 in Soil. *Applied And Environmental Microbiology* . Vol . 67 , No. 6,P. 2627-2635.
- Nadiya, A. ép. Mastour, 2013.** Utilisation des *Pseudomonas* spp. fluorescents et des plantes aromatiques et médicinales contre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, agent du chancre bactérien de la tomate. Th.Doc : Phytopathologie. p66.
- Nelson PE, Tousson TA y Marasas WFO, (1983).** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, Pringle et Scheffer, 74-76.

Références bibliographiques

- Nemecek, T., Von-Richthofen, J.S., Dubois, G., Casta, P., Charles, R., Pahl, H., (2008).** Environmental impacts of introducing grain legumes into European crop rotations. *European Journal of Agronomy* 28, 380-393.
- Neumann, S. and Xue, A.G., (2003).** Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f.sp. pisi. *Can. J. Plant Sci.*,83: 377-379.
- Olivain, C, Sophie . Trouvelot, Marie-Noe-ile Binet, Christelle Cordier,Alain Pugin, and Claude Alabouvette, (2003).** Colonization of Flax Roots and Early Physiological responses of Flax Cells Inoculated with Pathogenic and Non pathogenic Strains of *Fusarium oxysporum* APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, p. 5453-5462 Vol.69, No 9.
- Ongena, M., Jacques, P., Toure, Y., Destain, J.,Jabrane, A. and Thonart, P. (2005).** Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **69**(1):29-38.
- 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*, edited by A. Jaime and T. d. Silva. Japan: Global Science Books.
- O'Sullivan, D.J., et F. O'Gara. (1992).** Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol. Rev.* **56**: 662-676.
- Pal, K. K. and McSpadden-Gardener B., (2006).** Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, Biological Control: 1-25. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Paulitz, T.C. and Bélanger, R.R. (2001).** Biological control in greenhouse systems. *Annu. Rev. Phytopathol.* **39**:103-133.
- Péreau-Leroy P (1958).** Le palmier dattier au Maroc. Ministère de l'Agriculture, Institut Franc Rech Outremer, Paris, 142 p.
- Peypoux, F., Bonmatin, J. M. and Wallach, J. (1999).** Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Appl. Environ Microbiol.* **51**(5):553-563.

Références bibliographiques

- Piano, S., Neyrotti, V., Migheli, Q. and Gullino, M.L. (1997).** Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biol. Technol.* **11**(3):131-140.
- Pujic, P., et P. Normand. (2009).** La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur.* **298**: 26-29
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M. and de Souza, J.T. (2002).** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek.* **81**(1-4):537-547.
- Rahman, M.S., Ano, T. and Shoda, M. (2007).** Biofilm fermentation of iturin A by a recombinant strain of *Bacillus subtilis* 168. *J. Biotechnol.* **127**(3):503-507.
- Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V. and Samiyappan, R (2001).** Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protect.* **20**(1) :1-11.
- Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, et F.J. Gutiérrez Mañero. (2008)a.** Physiological and molecular mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), p. 41- 52. *In* : I. Ahmad, J. Pichtel et S. Hayat(ed.), *Plant-bacteria interactions.* Wiley -Vch, Weinheim.
- Ramos Solano, B., J. Barriuso Maicas, M.T. Pereyra de la Iglesia, J. Domenech, et F. J. Gutiérrez Mañero. (2008)b.** Systemic disease protection elicited by plant growth promoting rhizobacteria strains: relationship between metabolic responses, systemic disease protection, and biotic elicitors. *Phytopathology.* **98**: 451-457.
- Redden, B., Leonforte, T., Ford, R., Croser, J.S., (2005).** Pea (*Pisum sativum* L.). *In*: Singh, R.J, Jauhar, P.P. (eds) *Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement "Grain Legumes"*. CRC Press, Boca Raton, pp. 58-98.
- Reed, M. L. E., et B.R. Glick. (2005).** Growth of canola (*Brassica napus*) in the presence of plant growth-promoting bacteria and either copper or polycyclic aromatic hydrocarbons. *Can. J. Microbiol.* **51**: 1061-1069.

Références bibliographiques

- Reyes, M.E.Q., Rohrbach, K.G. and Paull, R.E. (2004).** Microbial antagonists control postharvest black rot of pineapple fruit. *Postharvest Biol. Technol.* **33**(2):193-203.
- Rodríguez-Gálvez E, Mendgen K, (1995).** Cell wall synthesis in cotton roots after infection with *Fusarium oxysporum*. The deposition of callose, arabinogalactans, xyloglucans, and pectic components into walls, wall appositions, cell plates and plasmodesmata. *Planta*, 197(3): 535-45.
- Rubiales, D., Ambrose, M.J., Domoney, C., Burstin, J., (2012).** Pea (*Pisum sativum* L.). In: Perez de la Vega, M., Cubero, J.I., Torres, A.M. (eds) Genetics, genomics and breeding of cool season grain legumes. CRC Press, Boca Raton FL y Science Publishers, Enfield, NH, pp. 1-49.
- Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N. and Samiyappan, R. (2007).** PGPR-induced defense responses in the tea plant against blister blight disease. *Crop Protect.* **26**(4):556-565.
- Schippers,B., Bakker, A.W., and Bakker, P.Ah.M., (1987),** Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere micro-organisms and the effect of cropping practices. *ANN.REV. Phytopath.* 25:339-358.
- Schreuder, J.C. (1951).** Een onderzoek over de Amerikaanse vaatziekte van de erwten in Nederland. *Rijdschr Plantenziekten*, 57: 175-206.
- Shishkoff, N. and McGrath, M.T. (2002).** AQ10 biofungicide combined with chemical fungicides or AddQ spray adjuvant for control of cucurbit powdery mildew in detached leaf culture. *Plant Dis.* **86**:915-918.
- Snyder W. C., Hansen H.N. (1940).** The species concept in *Fusarium*. *Am.J.Bot.*27,64-67 species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent.
- Snyder W and Hansen N, (1945).** The species concept in *Fusarium* with reference to *Discolor* and other sections. *American Journal of Botany*, 32: 657- 666.

Références bibliographiques

- Spaepen, S., J. Vanderleyden, et R. Remans. (2007).** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* **31**: 425-448.
- Thakore, Y. (2006).** The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology.* **2**(3):294-208.
- Tilak, K.V.B.R., N. Ranganayaki, K.K. Pal, R. De, A.K. Saxena, C.S. Nautiyal, Shilpi Mittal, Gray, E. J., et D.L. Smith. (2005).** Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signalling processes. *Soil Biol. Biochem.* **37**: 395- 412.
- Thomashow, L.S.,and Weller, D.M.,(1993)** . Use of rhizobacteria for biocontrol. *Current opinion in biotechnology.* **4**: 306-311.
- Touré, Y., Ongena, M., Jacques, P., Guiro, A. and Thonart, P. (2004).** Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *J. Appl. Microbiol.* **96**(5):1151-1160.
- Umemura K, Tanino S, Nagatsuka T, Koga J, Iwata M, Nagashima K and Amemiya Y, (2004).** Cerebroside elicitor confers resistance to *Fusarium* disease in various plant species, *Phytopathology*, **94**: 813-818.
- van Loon, L.C., et P.A.H.M. Bakker. (2005).** Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria, p. 39-66. *In* Z.A. Siddiqui (ed.), *PGPR: biocontrol and biofertilization*. Springer Science Dordrecht, The Netherlands.
- van Loon, L.C. (2007).** Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* **119**: 243-254.
- Wade, B.L. (1929).** The Inheritance of Fusarium Wilt Resistance in Canning Peas. *Wisc. Agric. Exp. Stn. Bull.*, WI, USA, **97**, 32 p.
- Wang, C., E. Knill, B.R. Glick, et G. Defago. (2000).** Effect of transferring 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase genes into *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and its *gacA* derivative CHA96 on their growth-promoting and disease suppressive capacities. *Can. J. Microbiol.* **46**: 898-907.

Références bibliographiques

- Weyens, N., S. Monchy, J. Vangronsveld, S. Taghavi, et D. Vander Lelie. (2010).** Plant-Microbe Partnerships, p. 254-2564 . *In* K.N. Timmis (ed.), Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- William, A., Haglund, W.A. and Kraft, J.M. (1979).** Fusarium oxysporum f. sp. pisi, Race 6: Occurrence and distribution. The American Phytopathological Society, 69: 818-820.
- Wojcieh, J. J. and Lise, K. (2002).** Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopatol.* **40**:411-441.
- Yang J , Kloeppe JW et Ryu CM , (2009) .** Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Plant Science* Vol . 14 No 1 . Pp 1-4.
- Zahir, Z. A, M. Arshad, et W.T. Frankenberger, Jr. (2004).** Plant growth promoting rhizobacteria : application and perspectives in agriculture. *Adv. Agro.* **81**: 97-198.

ANNEXE : MILIEUX DE CULTURES

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

Pomme de terre 200g.

Dextrose 20g.

Agar 15g.

Eau distillée 100ml.

pH=7, autoclavage 20 minutes à 120°C.

- **Milieu king B.**

Peptone (Difco) 20g.

Glycérol (prolabo) 15ml.

K₂HPO₄ (sigma) 1,5g.

MgSO₄ (sigma) 1,5g.

Agar (sigma) 15g.

Eau distillé 1000ml.

pH=7.2, autoclavage 20 minutes à 120°C.

- **Milieu PDB** (Potato Dextrose Broth).

Le milieu PD liquide est de même composition que PDA, mais sans Agar.