

**UNIVERSITE BLIDA1**  
**Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Département des Biotechnologies**  
**Laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources**  
**Agrobiologiques (LPVRAB)**

**THESE DE DOCTORAT**  
**En Sciences Agronomiques**  
**Spécialité : Phytopathologie**

**EVALUATION ET CARACTERISATION DES ACTIONS  
BIOPROTECTRICES DES SOUCHES DE *RHIZOBIACEAE* ET  
DE *PSEUDOMONAS* FLUORESCENTS FACE A LA  
FUSARIOSE VASCULAIRE.**

Par :

**Ania YALA epse CHOUIH**

Devant le jury composé de :

<b>D. GUETARNI</b>	Professeur, USDB, Blida 1	Président
<b>Y. KACI</b> Examineur	Professeur, USTHB, Alger	
<b>H. BOUREGHDA</b> Examinatrice	Professeur, ENSA (INA) El Harrach	
<b>N. RISPAIL</b> Co-promoteur	Docteur, C.S.IC. Cordoba (Espagne)	Co-
<b>M. BENCHABANE</b>	Professeur, USDB, Blida 1	Promoteur

Blida, Mars 2021

## REMERCIEMENT

En préambule à cette thèse, je remercie ALLAH qui m'aide et me donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de thèse, le professeur BENCHABANE Messaoud (université de Blida1), qui m'a encadrée pendant neuf ans, depuis mon premier diplôme universitaire, de m'avoir fait profiter de ses connaissances et pour son soutien précieux lors de la réalisation de ce travail. Je vous remercie Monsieur, de m'avoir enseignée la pratique des sciences et la rigueur de la démarche expérimentale, de m'avoir offert cette grande liberté de travail et de m'avoir accordée votre confiance. J'ai énormément appris de vous, et je garderai longtemps le souvenir de votre enseignement en transmettant une partie de votre passion et de votre savoir à mes futurs étudiants.

Ma gratitude ira également à mon co-promoteur Mr Rispaïl Nicolas, docteur à l'université de l'agriculture durable IAS-CSIC Cordoue (Espagne), de m'avoir donnée l'occasion de m'intégrer dans ce projet de recherche de coopération entre l'Espagne et l'Algérie. Je le remercie pour son accueil au niveau du laboratoire de l'amélioration génétique des plantes pour réaliser des expérimentations histologiques, biochimiques et moléculaires, ainsi que pour ses orientations et ses corrections dans la rédaction du mémoire.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Monsieur GUETARNI D. (Professeur à l'université de Blida1) pour me faire l'honneur de présider le jury. J'adresse également mes sincères remerciements à Madame BOUREGHDA H. (Professeur à l'ENSA, El Harrache) et à Monsieur KACI Y. (Professeur à l'USTHB, Alger) d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à tous les professeurs qui m'ont enseignée et qui par leurs compétences m'ont soutenue dans mes études.

Enfin, à tous ceux qui de près ou de loin m'ont épaulée et aidée à mener à bien ce travail, je leur laisse ici l'expression de toute ma gratitude.

## DÉDICACE

Je dédie cette thèse à :

Mes parents ;

Aucune dédicace au monde, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur l'amour et la gratitude que j'ai pour vous. Chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre exprime la reconnaissance, l'estime, le respect et le merci à vous qui êtes mes parents. Vous êtes les meilleurs parents qu'un enfant rêverait d'avoir. Que dieu vous garde à moi, vous protège et vous procure bonne santé inchaa Allah.

Mon époux, Sofiane ;

Je te remercie pour ton soutien, ton aide et tes encouragements inconditionnels durant toutes ces années d'étude. Ton amour et ton affection me remplissent chaque jour de bonheur, et me donnent le courage de mener à bien tout ce que j'entreprends dans la vie. Mes mots ne suffiront jamais pour t'exprimer tout mon amour. Que dieu te protège et te garde à mes côtés.

Mes chers frères, Yanis et Lahcene ;

Je vous remercie pour votre soutien continu. Je suis très chanceuse de vous avoir à mes côtés. Je vous serai toujours reconnaissante d'avoir tout le temps cru en moi et de me rassurer pendant les moments de doute que j'ai pu avoir pendant la réalisation de cette thèse et pour votre disponibilité quand j'en avais besoin. Je vous souhaite ce qu'il y a de meilleur.

Ma belle famille ;

Je vous remercie tout particulièrement pour votre soutien et votre affection. Puissiez-vous trouver dans ce travail le témoignage de mon affection et estime, que dieu vous bénisse.

A la mémoire de mon grand-père « Djeddi » et ma tante « tata Hania » ;

J'aurai tant souhaité votre présence en ce moment pour partager ma joie avec vous. Djeddi tu m'as toujours demandé d'être forte, correcte et faire le bien, je sais que cet accomplissement t'aurai rendu très fier de moi. Que vos âmes reposent en paix.

## RÉSUMÉ

**Titre : Evaluation et caractérisation des actions bioprotectrices des souches de *Rhizobiaceae* et de *Pseudomonas fluorescens* face à la fusariose vasculaire**

Les rhizobactéries phytobénéfiques constituent une source microbienne largement étudiée pour sa valorisation et son exploitation dans des pratiques agro-écologiques, visant à diminuer la dépendance des intrants chimiques (pesticides et fertilisants).

Le présent travail est le fruit d'une coopération entre notre laboratoire de Protection et de Valorisation de Ressources Agro-Biologiques (LPVRA) et le laboratoire Espagnol de l'institut de l'agriculture durable (IAS-CSIC), portant sur étude de comportement, d'amélioration et de sélection de génotypes de pois. Notre étude s'intéresse aux aspects de phytostimulation et de bioprotection des PGPR (*Rhizobium leguminosarum* et *Pseudomonas fluorescens*) vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), agent de la fusariose vasculaire du pois. Les essais *in vitro* ont montré que ces rhizobactéries sont antagonistes et inhibent de façon notable le développement du pathogène dans sa croissance mycélienne (65,37%), la germination conidienne (93,98%) et l'élongation des tubes germinatifs (91,21%). L'expérimentation *in situ*, confirme les potentialités phytobénéfiques de ces rhizobactéries, en induisant la régression de l'expression de la maladie à des niveaux très appréciables, à des taux de bioprotection de plus de 74%. En effet le suivi de la fusariose vasculaire sur des génotypes de pois sélectionnés, montre clairement des conséquences positives directes sur la diminution de la progression de la maladie (AUDPC : Area Under the disease progress curve) pouvant atteindre 80,17%. La bactérisation a induit des gains très significatifs en biomasses fraîche et sèche, notamment avec la combinaison *Pseudomonas fluorescens* X *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, où les effets phytobénéfiques sont d'autant plus importants par rapport aux bactérisations individuelles.

Durant nos expérimentations, une absence de nodulation du pois par la souche *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv) a été notée. L'amplification des gènes nodulants, (NodL-NodD et NodA-NodJ), a montré des bandes de tailles fortement inférieures à celles de la souche de référence Rlv 3841. La perte du plasmide responsable de la nodulation, ou une partie de celui-ci, pourrait expliquer l'absence des nodules.

L'étude portant sur le comportement histologique et la détection des métabolites secondaires, a mis en évidence des réactions de défense chez les plants bactérisés, via l'épaississement des parois des vaisseaux, accompagné d'une présence de composés phénoliques de type flavonoïdes et acides phénoliques. Toutefois, la quantification de l'ADN du pathogène au niveau du collet, a révélé que la bactérisation n'a eu aucun effet sur la quantité d'ADN de Fop, malgré la régression des symptômes. Ce qui suggère que nos agents biologiques ont exercé des effets de biocontrôle indirects, s'exprimant à travers l'induction de la résistance systémique.

L'évaluation *in vitro* de l'influence de quelques acides phénoliques (A. coumarique, A. hydroxycinnamique, A. caféique et A. vanillique) sur la croissance mycélienne de la souche la plus virulente de Fop (R2F42), dénote des taux d'inhibition allant de 14,47% à 35,65%.

**Mots-clés :** *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, Phytostimulation, Bioprotection, *Pisum sativum*.

## ABSTRACT

**Title: Evaluation and characterization of the bioprotective actions of fluorescent *Pseudomonas* and Rhizobiaceae strains against vascular fusarium wilt**

Phyto-beneficial rhizobacteria are a microbial source widely studied for its valorization and use in agro-ecological practices, mainly by reducing the dependence on chemical inputs (pesticides and fertilizers). This work, the result of a cooperation between our laboratory for the Protection and Valuation of Agro-Biological Resources (LPVRA) and the Spanish laboratory of the Institute for Sustainable Agriculture (IAS-CSIC), is focusing on behavioral study, improvement and selection of pea genotypes.

We studied the phytostimulation and the bioprotection aspects of PGPRs (*Rhizobium leguminosarum* and *Pseudomonas fluorescens*) against *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), causal agent of vascular fusarium in peas. *in vitro* tests have shown that these rhizobacterias are antagonists and they significantly inhibit the development of mycelial growth of the pathogen (65.37%), the conidial germination (93.98%) and the elongation of germ's tubes (91.21%). *in situ* experimentation confirms the phyto-beneficial potential of these rhizobacteria, by inducing the regression of the expression of the disease to very appreciable levels at a bioprotection rates of more than 74%.

Indeed, the monitoring of vascular fusarium wilt on selected pea genotypes clearly shows direct positive consequences on the decrease in disease progression (AUDPC: Area Under the disease progress curve) which can reach 80.17%. Bacterization induced very significant gains in fresh and dry biomass, particularly with combination of *Pseudomonas fluorescens* and *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, where the phyto-beneficial effects are even greater compared to individual bacteria application.

During our experiments, an absence of nodulation of pea by the *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv) has been noted. The amplification of the nodulating genes, (NodL-NodD and NodA-NodJ), showed bands much smaller sizes than those of the reference strain Rlv 3841. The loss of the plasmid responsible for nodulation, or part of it, could explain the absence of the nodules.

The study on the histological behavior and the detection of secondary metabolites, revealed defense reactions in the plants bacterized, via the thickening of walls of the cellular vessels, accompanied by the presence of phenolic compounds such as flavonoids and phenolic acids. However, quantification of the pathogen's DNA at the neck level revealed that the bacterization had no effect on the amount of Fop DNA, despite the regression of symptoms. This suggests that our biological agents exerted indirect biocontrol effects, expressed through the induction of systemic resistance.

The *in vitro* evaluation of the influence of some phenolic acids (A. coumaric, A. hydroxycinnamic, A. caffeic and A. vanillic) on the mycelial growth of the most virulent strain of Fop (R2F42), indicates levels of inhibition ranging from 14.47% to 35.65%.

**Keywords:** *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, Phytostimulation, Bioprotection, *Pisum sativum*.

## الملخص

### العنوان: تقييم ووصف التأثيرات الوقائية الحيوية لسلاسلات *Rhizobiaceae* و *Pseudomonas fluorescens* في مواجهة ذبول الفيوزاريوم الوعائي

تشكل البكتيريا الجذرية المفيدة للنبات مصدرًا ميكروبيًا تمت دراسته على نطاق واسع لتثمينه واستخدامه في الممارسات الزراعية البيولوجية، بهدف تقليل الاعتماد على المدخلات الكيميائية (مبيدات الآفات والأسمدة).

هذا العمل هو نتيجة للتعاون بين مختبرنا لحماية وتقييم الموارد البيولوجية الزراعية (LPVRA) والمختبر الإسباني التابع لمعهد الزراعة المستدامة (IAS-CSIC)، بالتركيز على الدراسة السلوكية، وتحسين واختيار الأنماط الجينية للبازل. تهتم دراستنا بجوانب التحفيز النباتي والحماية الحيوية لـ (*Rhizobium* : *Pseudomonas fluorescens* و *PGPRs leguminosarum*) ضد *Fusarium oxysporum f.sp. pisi* (Fop) ، مسبب الفيوزاريوم (الذبول) الوعائي للبازل.

أظهرت الاختبارات المخبرية أن هذه البكتيريا الجذرية تثبط بشكل كبير تطور العامل الممرض في نموه الفطري (65.37%)، و الإنبات الكونيدي (93.98 %) و كذا استتالة انابيهها الإنباتية (21.91 %). تؤكد التجارب في الحقل الإمكانيات المفيدة للنباتات الحاملة لهذه البكتيريا الجذرية، عن طريق تحفيز تراجع الاعراض المرضية إلى مستويات ملحوظة للغاية، بمعدلات حماية حيوية تزيد عن 74%.

في الواقع، تُظهر مراقبة مرض ذبول الفيوزاريوم الوعائي على أنماط وراثية مختارة من البازل بوضوح نتائج إيجابية مباشرة على الانخفاض في تطور المرض (AUDPC: المنطقة الواقعة تحت منحنى تقدم المرض) والتي يمكن أن تصل إلى 80.17%. تسببت البكتيريا في تحقيق مكاسب كبيرة في الكتلة الحيوية الطازجة والجافة، ولا سيما مع التركيبة المزدوجة *Rhizobium -Pseudomonas fluorescens leguminosarum*، حيث تكون التأثيرات المفيدة للنبات أكبر مقارنة بتواجد كل نمط من البكتيريا على حدى.

خلال تجاربنا، لاحظنا غياب تكون عقد الريزوبيا *nodulation Rhizobia* لدى البازل بالنسبة للسلاسل *Rhizobium leguminosarum bv viceae* (Rlv). كما قد أظهرت دراستنا التحليلية ان المورثات اي الجينات المسؤولة على تكون العقد (NodA-NodJ و NodL-NodD) لم تبرز بها صيتها المعهودة وكانت اطوالها أصغر حجمًا من تلك الموجودة في السلالة المرجعية Rlv 3841. وهذا يدل على فقدان البلازميد المسؤول كليًا، أو جزء فعال منه مما يفسر عدم وجود العقيدات.

كشفت دراسة السلوك النسيجي وكشف المستقبلات الثانوية عن تفاعلات دفاعية في النباتات الحاملة للبكتيريا، عن طريق تثخين جدران الأوعية الخلوية ، مصحوبة بوجود مركبات فينولية مثل الفلافونويد والأحماض الفينولية.

ومع ذلك، كشف تحديد كمية الحمض النووي للممرض الفطري أن البكتيريا لم يكن لها أي تأثير على كمية الحمض النووي Fop، على الرغم من تراجع الأعراض. يشير هذا إلى أن العوامل البيولوجية مارست تأثيرات تحكم غير مباشرة، يتم التعبير عنها من خلال تحريض المقاومة النظامية للجهازية للنبات.

يشير التقييم في المختبر لتأثير بعض الأحماض الفينولية (*A. hydroxycinnamic* و *A. coumaric* و *A. vanillic* و *A. caffeic*) على تثبيط النمو الفطري لأكثر السلالات ضراوة (*Fop* (R2F42))، من 14.47% إلى 35.65%.

الكلمات المفتاحية: *Pseudomonas fluorescens* ، *Rhizobium leguminosarum bv. viceae* ، *Fusarium oxysporum f.sp. pisi*، التحفيز النباتي ، الحماية الحيوية ، *Pisum sativum*

## TABLE DE MATIERE

REMERCIEMENT

DEDICACE

RESUME

ABSTRACT

ملخص

TABLE DE MATIERE

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION	1
<b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	4
1. Plants Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)	4
1.1. PGPR et biofertilisation	5
1.2. PGPR et phytostimulation	7
1.3. PGPR et biopesticides	10
1.4. PGPR et bioremédiation	14
2. Les <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents phytobénéfiques et leurs métabolites	14
2.1. Cyanure d'hydrogène (HCN)	15
2.2. Phénazines (PHZ)	17
2.3. Phloroglucinol	18
2.4. Pyolutéorine (PLT)	19
2.5. Pyrrolnitrine (PRN)	19
2.6. Lipopeptides cycliques (CLP)	21
2.7. Sidérophores	21
2.8. Enzymes lytiques	22
2.9. Induction de la résistance systémique (ISR)	22
3. Les rhizobia	23
3.1. la symbiose fixatrice d'azote	23
3.2. Symbiose <i>Rhizobium</i> / Légumineuses	24
3.3. Facteurs intervenants dans la symbiose	27
3.3.1. Facteurs génétiques	27
3.3.2. Facteurs environnementaux	29
4. Commercialisation des PGPR	30
5. Fusariose vasculaire du pois	32
5.1. Symptomatologie	35
5.2. Interaction Plante - <i>Fusarium oxysporum</i>	36
5.3. Epidémiologie et lutte	39
<b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES</b>	
1. Présentation des expérimentations	42

2. Essais d'antagonisme	43
2.1. Souches bactériennes	43
2.2. Souches fongiques	44
2.3. Matériel végétal	44
2.4. Antagonisme <i>in vitro</i>	45
2.4.1. Inhibition de la croissance mycélienne	45
2.4.2. Inhibition de la germination conidienne	46
2.4.3. Inhibition de l'élongation du tube germinatif	46
2.5. Antagonisme <i>in situ</i>	46
2.5.1. Désinfection des semences	47
2.5.2. Préparation des inoculums microbiens	48
2.5.3. Inoculation des plantes	48
2.5.4. Dispositif expérimental	49
2.5.5. Paramètres étudiés	50
2.5.6. Analyse statistique	52
3. Détection et quantification de la maladie	53
3.1. Quantification de Fop	53
3.1.1. Bactérisation et inoculation des plants tests	53
3.1.2. Extraction de l'ADN fongique	54
3.1.3. Réaction qPCR	54
3.1.4. Analyse statistique	55
3.2. Amplification des gènes <i>nod</i>	55
3.3. Détection des métabolites secondaires	56
3.3.1. Détection histologique	57
3.3.2. Recherche des métabolites secondaires	58
3.3.3. Effets des composés phénoliques Fop	59
3.3.4. Analyse statistique	60

### **CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS**

1. Essais d'antagonisme	61
1.1. Antagonisme <i>in vitro</i>	61
1.1.1. Inhibition de la croissance mycélienne	61
1.1.2. Inhibition de la germination conidienne	65
1.1.3. Inhibition de l'élongation du tube germinatif	65
1.2. Antagonisme <i>in situ</i>	68
1.2.1. Taux d'infection et sévérité	68
1.2.3. AUDPC	72
1.2.4. Biomasse fraîche et sèche	75
1.2.5. Dénombrement des nodules	79
1.3. Discussion	79
2. Détection et quantification de la maladie	82
2.1. Quantification de Fop	82
2.2. Amplification des gènes <i>nod</i>	82
2.3. Détection des métabolites secondaires	84
2.3.1. Détection histologique	84
2.3.2. Recherche des métabolites secondaires	86
2.3.3. Effets des composés phénoliques sur Fop	90

2.4. Discussion	90
<b>DISCUSSION GENERALE</b>	94
<b>CONCLUSION</b>	97
<b>REFERENCES BIBLIGRAPHIQUES</b>	100
<b>ANNEXES</b>	126

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

<b>Figure I.1</b>	Mécanismes d'action des rhizobactéries (PGPR) favorisant la croissance des plantes.	<b>5</b>
<b>Figure I.2</b>	Représentation schématique des métabolites secondaires produits par les <i>Pseudomonas</i> fluorescentes dans la rhizosphère impliquées dans le biocontrôle.	<b>17</b>
<b>Figure I.3</b>	Différentes étapes de nodulation.	<b>26</b>
<b>Figure I.4</b>	Evolution des symptômes de la fusariose vasculaire du pois ( <i>Pisum sativum</i> ).	<b>36</b>
<b>Figure I.5</b>	Structure chimique de la fusarine.	<b>37</b>
<b>Figure I.6</b>	Structure chimique de l'acide fusarique.	<b>38</b>
<b>Figure I.7</b>	Structure chimique des moninilormins	<b>38</b>
<b>Figure II.1</b>	Essai d'antagonisme <i>in vitro</i> entre les souches bactériennes et <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisii</i> .	<b>46</b>
<b>Figure II.2</b>	Inoculation des plantes.	<b>49</b>
<b>Figure II.3</b>	Dispositif expérimental.	<b>49</b>
<b>Figure II.4</b>	Echelle de l'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de pois.	<b>51</b>
<b>Figure II.5</b>	Blocs de résine.	<b>58</b>
<b>Figure II.6</b>	Extraction des métabolites secondaires	<b>60</b>
<b>Figure III.1</b>	Inhibition de la croissance mycélienne (%) sur les cinq milieux de culture (PDA, KB, YMA, Mixte 1 « KB+PDA » et Mixte 2 « YMA+PDA »)	<b>64</b>
<b>Figure III.2</b>	Inhibition de la germination conidienne et du tube germinatif de Fop Arg1 par les souches antagonistes (BB10 et F21) après 48h sur milieu mixte « KB + PD ».	<b>65</b>
<b>Figure III.3</b>	Inhibition de la germination	<b>66</b>

	conidienne (%) sur les trois milieux de culture (PD liquide, KB et Mixte « KB + PD »).	
<b>Figure III.4</b>	Inhibition de l'élongation du tube germinatif (%) sur les trois milieux de culture (PD liquide, KB et Mixte« KB + PD »)	<b>67</b>
<b>Figure III.5</b>	Taux d'infection (%) avec FopR1 sur les trois génotypes de pois.	<b>69</b>
<b>Figure III.6</b>	Taux d'infection (%) avec FopR2F42 sur les trois génotypes de pois.	<b>69</b>
<b>Figure III.7.</b>	Taux d'infection (%) avec FopArg1 sur les trois génotypes de pois.	<b>69</b>
<b>Figure III.8</b>	Taux d'infection (%) avec FopArg3 sur les trois génotypes de pois.	<b>70</b>
<b>Figure III.9</b>	Corrélation entre les taux d'infection et les sévérités des trois génotypes.	<b>70</b>
<b>Figure III.10</b>	Expression symptomatique sur le génotype P21.	<b>70</b>
<b>Figure III.11</b>	Sévérité de la maladie (%) avec FopR1 sur les trois génotypes de pois.	<b>71</b>
<b>Figure III.12</b>	Sévérité de la maladie (%) avec FopR2F42 sur les trois génotypes de pois.	<b>71</b>
<b>Figure III.13</b>	Sévérité de la maladie (%) avec FopArg1 sur les trois génotypes de pois.	<b>71</b>
<b>Figure III.14</b>	Sévérité de la maladie (%) avec FopArg3 sur les trois génotypes de pois.	<b>71</b>
<b>Figure III.15</b>	Coupes longitudinales au niveau du collet du génotype Kelvedon Wonder Peas.	<b>72</b>
<b>Figure III.16</b>	AUDPC de Fop R1 et Fop R2F42 sur les trois génotypes de pois.	<b>73</b>

<b>Figure III.17</b>	AUDPC de Fop Arg1 et Fop Arg3 sur les trois géotypes de pois.	<b>74</b>
<b>Figure III.18</b>	Effet de phytostimulation des rhizobactéries étudiées sur la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine des trois géotypes (JI1412, KWP et P21)	<b>76</b>
<b>Figure III.19</b>	Effet de biocontrôle des rhizobactéries étudiées sur la biomasse fraîche de la partie aérienne et souterraine des trois géotypes (JI1412, KWP et P21)	<b>77</b>
<b>Figure III.20</b>	Effet de biocontrôle des rhizobactéries étudiées sur la biomasse sèche de la partie aérienne et souterraine des trois géotypes (JI1412, KWP et P21)	<b>78</b>
<b>Figure III.21</b>	<b>A.</b> Quantité d'ADN (ng) de FopR2F42 présente au niveau du collet des traitements (EDS, FopR2F42, FopR2F42 X C7R12 et C7R12). <b>B.</b> Taux d'infection (%) des traitements bactérisés et non bactérisés. <b>C :</b> Sévérité des symptômes des traitements bactérisés et non bactérisés.	<b>83</b>
<b>Figure III.22</b>	Amplification des fragments NodL-NodD et NodA-NodJ	<b>83</b>
<b>Figure III.23</b>	Coupes transversales des racines du géotype Messire et JI1213 infectés avec Fop R2F42, colorées avec TBO.	<b>84</b>
<b>Figure III.24</b>	Coupes transversales des racines du géotype sensible JI1213 infectés avec Fop R2F42 en présence et en absence de la bactérie Pfb9, colorées avec TBO.  Coupe transversale de la racine du géotype sensible JI1213 infectés	<b>85</b>

<b>Figure III.25</b>	avec Fop R2F42 en présence de la bactérie PfB9, colorées avec TBO.	<b>85</b>
<b>Figure III.26</b>	Huit pics révélés par l'HPLC à partir des échantillons étudiés (FopR2F42, FopR2F42 X C7R12 et EDS)	<b>87</b>
<b>Figure III.27</b>	<b>A.</b> Quantification des polyphénols par HPLC chez les traitements bactérisés (C7R12) et non bactérisés (EDS). <b>B.</b> Effet de phytostimulation de la souche C712.	<b>88</b>
<b>Figure III.28</b>	<b>A.</b> Quantification des polyphénols par HPLC chez les traitements FopR2F42 et FopR2F42 X C7R12. <b>B.</b> Effet de phytostimulation de la souche C712. <b>C.</b> Taux d'infection (%) des traitements bactérisés et non bactérisés. <b>D.</b> Sévérité des symptômes des traitements bactérisés et non bactérisés.	<b>89</b>
<b>Tableau I.1</b>	Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) en tant que biopesticides / agents de biocontrôle contre diverses maladies des plantes.	<b>16</b>
<b>Tableau I.2</b>	Métabolites secondaires des <i>Pseudomonas</i> fluorescentes étudiées dans le biocontrôle des phytopathogènes.	<b>20</b>
<b>Tableau I.3</b>	Produits commerciaux à base de PGPR.	<b>34</b>
<b>Tableau II.1</b>	Souches bactériennes.	<b>43</b>
<b>Tableau II.2</b>	Isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisii</i> .	<b>44</b>
<b>Tableau II.3</b>	Origine des trois génotypes de pois ( <i>Pisum sativum</i> )	<b>44</b>
<b>Tableau II.4</b>	Traitements étudiés.	<b>50</b>
<b>Tableau II.5</b>	Grille de qPCR.	<b>55</b>
<b>Tableau II.6</b>	Traitements étudiés.	<b>57</b>
<b>Tableau III.1</b>	Antagonisme (croissance mycélienne <i>in vitro</i> ) des souches rhizobactériennes vis-	<b>62</b>

à-vis de Fop

**Tableau III.2**

Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne de FopR2F42 avec les acides phénoliques (50  $\mu$ M et 100  $\mu$ M) sur milieu MMP.

**90**

## LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

<b>% :</b>	Pour cent.
<b>°C :</b>	Degrés Celsius.
<b>± :</b>	Plus ou moins.
<b>&lt; :</b>	Inférieur.
<b>≤ :</b>	Inférieur ou égal.
<b>ABA :</b>	Acide abscissique.
<b>ACC :</b>	1-aminocyclopropane-1-carboxylate.
<b>AF :</b>	Acide fusarique.
<b>AIA :</b>	Acide indole-3-acétique.
<b>AUDPC:</b>	Area Under the disease progress curve.
<b>BNF :</b>	Fixation biologique du N <sub>2</sub> .
<b>C.F.U:</b>	Colonies forming unities.
<b>CK :</b>	Cytokinines.
<b>CLP :</b>	Lipopeptides cycliques.
<b>cm :</b>	Centimètre.
<b>CO<sub>2</sub> :</b>	Dioxyde de carbone.
<b>CWDE :</b>	Enzymes de dégradation des parois cellulaires.
<b>D.O :</b>	Densité optique.
<b>DAPG :</b>	2,4-diacetylphloroglucinol.
<b>EDS :</b>	Eau distillée stériles.
<b>f.sp :</b>	Forme spéciale.
<b>Fo :</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> .
<b>Fop Arg1 ;</b>	Souche locale 1 de la race 2 de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i> .
<b>Fop Arg3 :</b>	Souche locale 2 de la race 2 de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i> .
<b>Fop R1 :</b>	Souche de référence de la race 1 de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i> .
<b>Fop R2F42 :</b>	Souche de référence de la race 2 de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i> .
<b>Fop:</b>	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i> .

<b>g :</b>	Gramme.
<b>G :</b>	Grossissement.
<b>g :</b>	Unité de vitesse d'accélération d'une centrifugeuse.
<b>G:</b>	Génotype.
<b>GA :</b>	Acide gibbéréllique.
<b>h :</b>	Heure.
<b>HCN :</b>	Cyanure d'hydrogène.
<b>HPLC :</b>	Chromatographie en phase liquide à haute performance.
<b>ISR :</b>	Résistance systémique induite.
<b>Jr :</b>	Jours.
<b>K.W.P:</b>	Kelvedon Wonder Peas.
<b>kb :</b>	Kilo base.
<b>KB:</b>	Milieu B de King.
<b>LPS :</b>	Lipopolysaccharides.
<b>Mb :</b>	Méga base.
<b>min :</b>	Minutes.
<b>ml :</b>	Millilitre.
<b>mm :</b>	Millimètre.
<b>mM :</b>	Mili molaire.
<b>MMP :</b>	Milieu minimum de Puhalla.
<b>MRlv :</b>	Mutant de <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> .
<b>ng :</b>	Nano gramme.
<b>P :</b>	<i>Pseudomonas</i> .
<b>P :</b>	Phosphore.
<b>p :</b>	Probabilité d'erreur statistique.
<b>pb :</b>	Paire de base.
<b>PCR :</b>	Polymerase Chain Reaction (Réaction en chaine par polymérase).
<b>PD :</b>	Milieu Potato-dextrose à l'état liquide.

<b>PDA :</b>	Milieu Potato-dextrose-Agar.
<b>Pf :</b>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> .
<b>PGPR :</b>	Plant Growth Promoting Rhizobacteria.
<b>pH :</b>	potentiel Hydrogène.
<b>PHZ :</b>	Phénazines.
<b>PLT :</b>	Pyolutéorine.
<b>PRN :</b>	Pyrrrolnitrine.
<b>PSB :</b>	Bactéries solubilisant les phosphates.
<b>qPCR :</b>	Réaction en chaîne par polymérase quantitative ou PCR en temps réel.
<b>QS :</b>	Quorum sensing.
<b>r :</b>	Coefficient de corrélation.
<b>RI :</b>	<i>Rhizobium leguminosarum</i> .
<b>Rlv :</b>	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> .
<b>ROS :</b>	Espèces réactives à l'oxygène.
<b>rpm :</b>	Tour par minute.
<b>S :</b>	Sévérité de la maladie.
<b>sec :</b>	Seconde.
<b>T :</b>	Témoin.
<b>T.I. :</b>	Taux d'infection.
<b>TBO :</b>	Toluidine blue.
<b>Tr :</b>	Traitement.
<b>TSI :</b>	Tolérance systémique induite.
<b>YM :</b>	Milieu Yeast Mannitol à l'état liquide.
<b>YMA :</b>	Milieu Yeast Mannitol Agar.
<b>µl :</b>	Microlitre.
<b>µm :</b>	Micromètre.
<b>µM :</b>	Micro molaire.

## INTRODUCTION

Depuis le début des pratiques agricoles, les plantes cultivées ont été exploitées par les agents phytopathogènes à différents stades de leur développement. Un examen plus attentif des maladies des plantes montre qu'il y a eu une longue histoire de pertes de cultures dues à ces pathogènes. Plusieurs épidémies graves leur sont attribuées en tant que principaux coupables causant de grandes pertes en vies humaines [1]. 10 à 20% de la production agricole mondiale est touchée, privant ainsi plus de 800 millions de personnes d'avoir une nourriture adéquate [2]. Les maladies dues aux facteurs biotiques sont responsables d'environ 25% des pertes de récoltes mondiales [3]. Les pays en développement sont plus vulnérables à ces pertes de productivité, car l'agriculture joue un rôle de premier plan dans leur croissance économique [4].

Depuis plus d'un siècle, différentes méthodes pour lutter contre les agents phytopathogènes ont été proposées avec plus ou moins de succès, néanmoins la lutte chimique demeure le pilier dans la protection des cultures. En raison de leur efficacité immédiate et de leur facilité d'application à moindres coûts, les pesticides sont devenus le moyen de lutte le plus sollicité. Cependant, l'utilisation excessive d'intrants chimiques a entraîné une destruction des écosystèmes en affectant négativement la fertilité et la microfaune du sol, en développant la résistance des agents phytopathogènes et en provoquant des effets néfastes sur la santé humaine et animale [5, 6]. En plus de ces problèmes, la lutte chimique a démontré une efficacité très limitée face aux maladies vasculaires et les agents pathogènes telluriques [7], dont les fusarioses vasculaires où les agents fongiques ont de forte capacité de conservation dans le sol [7, 8, 9], affectent de nombreuses espèces végétales et causent des pertes considérables [10, 11]. Par conséquent, la protection des cultures contre ces agents phytopathogènes par des approches alternatives et plus durables est une priorité dans l'agriculture moderne [1]. Il existe un soutien considérable en faveur d'approches respectueuses de l'environnement comme moyen de lutte, afin de maintenir la durabilité des agroécosystèmes [1].

Le sol est un système vivant où une vaste gamme de microorganismes réside et interagissent les uns avec les autres. La zone entourant les racines des plantes, qui influence les interactions microbiennes au plus haut niveau est connue sous le nom de « rhizosphère » [12]. La rhizosphère est l'habitat de nombreuses rhizobactéries bénéfiques, appelées PGPR pour « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » [13]. Ces bactéries colonisent les racines des plantes et jouent un rôle majeur dans la protection et la promotion de la croissance des plantes [14].

Les PGPR renferment divers genres bactériens : *Azospirillum*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacteria*, *Serratia*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* [15, 16]. Les deux groupes « *Pseudomonas* spp. et *Rhizobium* spp. » sont très connus pour leur effets phytobénéfiques [1, 17, 18, 19, 20, 21]. Les *Pseudomonas* fluorescents ont des capacités suppressives à l'encontre de divers agents phytopathogène, alors que les *Rhizobiaceae* sont connues par leur capacité d'association symbiotique avec les légumineuses [22, 23].

Les légumineuses, comprennent environ 19.300 espèces décrites, appartenant à 750 genres, et représentent un tiers de la production de cultures primaires du monde [23]. Cependant, la production de légumineuses nécessaires à l'alimentation humaine et animale ne repose que sur quelques espèces cultivées [24]. Le pois (*Pisum sativum*), est connu par son importance stratégique en Algérie, en lui réservant de vastes superficies dans les années 1980 et un programme de sélection mené localement par l'ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures). Il a été démontré que les associations de pois avec d'autres cultures (avoine, orge, blé), donnaient une bonne croissance [25].

Le pois est vulnérable à de nombreuses maladies, dont la fusariose vasculaire est parmi les plus dommageables. Les symptômes sont divers et peuvent toucher l'ensemble de la plante à n'importe quel stade de sa croissance. L'agent causal « *Fusarium oxysporum* », est un champignon ubiquiste bien représenté au sein de la communauté microbienne tellurique, notamment au sein de la microflore rhizosphérique. Cette espèce renferme plus de 150 sous-espèces phytopathogènes spécifiques selon les hôtes végétaux [26] appelées formae speciales (f. sp.). Chacune d'elles provoque des maladies sur une gamme étroite d'espèces de plantes et qui peut être divisée en races et en groupes de compatibilité végétative [27]. La sous-espèce spécifique à *Pisum sativum* « *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* », est en constante évolution, avec de nouvelles variantes caractérisant chaque nouvelle race du pathogène [28]. Onze races sont décrites ; toutefois, il existe des désaccords considérables sur leur classement [29, 30]. Parmi les onze races de Fop, quatre sont bien connues : Les races 1 et 2 citées dans la quasi-totalité des travaux réalisés dans le monde, tandis que les races 5 et 6 sont seulement signalées dans l'ouest de l'État de Washington [31, 32].

L'objectif de nos travaux est de mettre en évidence les potentialités phytoprotectrices et de phytostimulation des souches de *Rhizobiaceae* et de *Pseudomonas* spp. fluorescents vis-à-vis de la fusariose vasculaire de pois. Initialement, un essai a été réalisé au niveau du Laboratoire de Protection et de Valorisation de Ressources Agro-Biologiques (LPVRAB, Université de Blida 1) dans le but : (1) d'étudier les pouvoirs antagonistes et de phytostimulation de certaines souches de *Rhizobiaceae* et de *Pseudomonas fluorescens*, en condition semi-contrôlées, en interaction avec le pois.

Afin de comprendre plus profondément les actions antagonistes des souches étudiées, des expérimentations histologiques, biochimiques et moléculaires ont été réalisées au niveau du laboratoire de l'amélioration génétique des plantes contre les stress biotiques et abiotiques (Institut de l'agriculture durable, IAS-CSIC, Cordoue, Espagne). Nos expérimentations se sont déroulées en trois étapes : (1) quantification de Fop au niveau du collet chez des plants bactérisés avec *Pseudomonas*. (2) détection de métabolites chez les plantes de pois en présence et en absence de la bactérie phytobénéfique, via une étude histologique suivi de l'HPLC, et (3) étude de l'effet *in vitro* de certains composés phénoliques sur Fop.

Nous nous sommes intéressés également aux gènes nod chez la souche testée (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*), pour expliquer l'absence des nodules chez le pois inoculé. Donc, une expérimentation a été réalisée au niveau du même laboratoire (IAS-CSIC, Cordoue, Espagne), pour amplifier par PCR les gènes responsables de la nodulation.

# CHAPITRE I- SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)

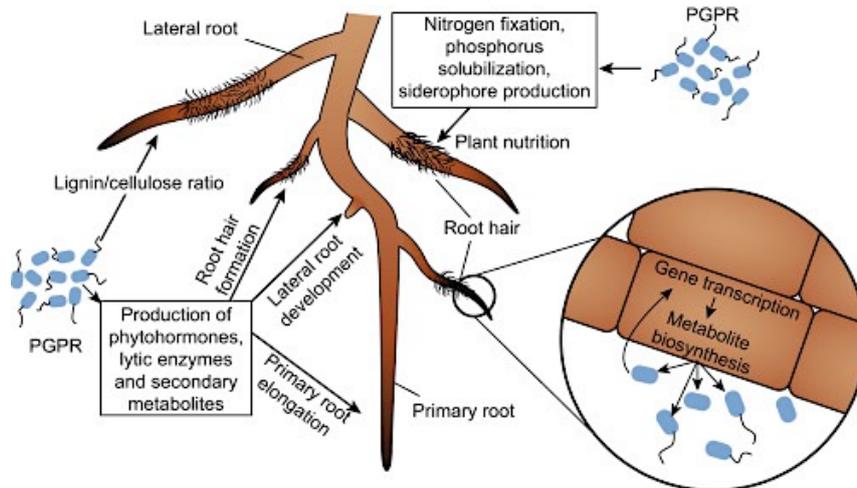
Les rhizobactéries ayant un impact positif sur la plante, par le biais d'un effet protecteur ou via une stimulation de sa croissance, ont communément été regroupées sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes, ou PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) [33, 34]. L'utilisation de ces microorganismes peut atténuer les stress, chez de nombreuses plantes cultivées, notamment en conditions pédoclimatiques défavorables, ouvrant ainsi un potentiel et une stratégie prometteuse dans les démarches de l'agriculture durable [35, 36]. Le terme tolérance systémique induite (TSI) est proposé pour désigner les modifications physiques et chimiques induites par les microorganismes chez les plantes, qui se traduisent par leur tolérance aux stress [37, 38].

Parmi les mécanismes connus chez les PGPR et qui sont bénéfiques pour les plantes: (i) la production de phytohormones ou de leurs homologues (acide abscissique, acide gibbérellique, l'acide indole-3-acétique et cytokinines); (ii) le contrôle des phytopathogènes via différents mécanismes : la synthèse d'enzymes extracellulaires hydrolysant la paroi cellulaire fongique, la compétition pour les nutriments au sein de la rhizosphère, l'induction de la résistance systémique (ISR), la biosynthèse des composés phénoliques et la production d'antibiotiques et de sidérophores [39] ; (iii) la solubilisation et la minéralisation des nutriments, en particulier la solubilisation des phosphates, et (iv) la bioremédiation des sols contaminés par élimination des métaux lourds toxiques, dégradation des composés xénobiotiques et amélioration de la structure du sol (par des exopolysaccharides bactériens) [40] (Figure I.1).

Depuis plusieurs décennies, les chercheurs s'intéressent à l'utilisation des PGPR pour augmenter la croissance et le rendement des plantes. Le rôle de ces bactéries phytobénéfiques revêt aussi une importance particulière par rapport à leurs potentialités dans l'atténuation des stress subits par les plantes [38].

Somers et *al.* [41] ont classé les PGPR sur la base de leurs activités fonctionnelles en tant que (i) biofertilisants (augmentant la disponibilité d'éléments nutritifs pour les plantes), (ii) phytostimulateurs (stimulation de la croissance des plantes, généralement par le biais de phytohormones), (iii) biopesticides (lutte contre les maladies, principalement par la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques) et (iv) bioremédiateurs (dégradants de polluants

organiques) [42, 43].



**Figure I.1** : Mécanismes d'action des rhizobactéries (PGPR) favorisant la croissance des plantes [44].

## 1.1. PGPR et biofertilisation

En plus de l'eau et de la température, les nutriments sont un facteur majeur qui limite le plus la croissance des plantes. Les PGPR favorisent la croissance végétale en augmentant l'accessibilité ou l'absorption d'éléments nutritifs à partir d'un pool d'éléments nutritifs confiné dans le sol / la rhizosphère [20] (Usha Bishnoi, 2015).

### 1.1.1 Fixation de l'azote

L'azote est un élément essentiel pour toutes les formes de vie, une condition de base pour la synthèse d'acides nucléiques, de protéines et d'autres composés organiques azotés. Bien qu'il y ait environ 78% de  $N_2$  dans l'atmosphère, il reste inaccessible aux plantes en croissance. Le  $N_2$  atmosphérique est converti en formes utilisables par les plantes par le processus de fixation biologique du  $N_2$  (BFN), dans lequel des microorganismes fixateurs transforment l'azote élémentaire en ammoniac à l'aide de nitrogénases [45]. Les bactéries fixant l'azote sont généralement classés en (i) bactéries symbiotiques fixant l'azote atmosphérique, appartenant à la famille des *Rhizobiaceae* (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* et *Azorhizobium*, collectivement appelées rhizobia) qui forme une symbiose avec des plantes légumineuses [46], et (ii) bactéries non-symbiotiques fixatrice d'azote (vie libre, associatives et

endophytes), telles que les *cyanobactéries*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* et *Azocarus*, ... etc. [47]. Dans ce contexte les chercheurs s'intéressent de près aux processus de signalisation [48], à l'histoire évolutive de ces bactéries et les plantes [49] et les aspects moléculaires déterminant la spécificité de l'hôte dans la symbiose rhizobia-légumineuses [50]. L'effet global, dans le monde, a été évalué pour la fixation biologique d'azote (BFN) aux alentours de 106 à 180 tonnes métrique par année, dont la fixation de l'azote symbiotique contribue à 80% et le reste provient de la fixation non-symbiotique. La fixation d'azote atmosphérique représente donc, une alternative économiquement bénéfique et écologiquement rationnelle pour remplacer les schémas posologiques élevés d'engrais chimiques utilisés dans l'agriculture actuelle [20, 51].

### 1.1.2 Solubilisation du phosphore

Le phosphore (P) est l'un des principaux macronutriments essentiels à la croissance et au développement des plantes. La faible disponibilité de P pour les plantes cultivées est un problème mondial. Sur 30 à 40% des terres arables, le rendement des cultures est réduit en raison de son indisponibilité sous la forme assimilable [52]. Dans le sol il est présent sous deux formes insolubles : les formes minérales, telles que l'apatite, l'hydroxyapatite et l'oxyapatite, et les formes organiques comprenant le phosphite d'inositol, les phospho-mono-esters, les phospho-di-esters et les phospho-tri-esters. La solubilisation et la minéralisation du Phosphore par des bactéries solubilisant les phosphates (BSP) sont parmi les caractéristiques physiologiques bactériennes les plus importantes dans les cycles biogéochimiques du sol [53], et chez les PGPR [54, 55]. Des genres bactériens comme *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Serratia* sont signalés comme étant des BSP potentielles [47]. Les espèces microbiennes qui solubilisent le P et qui sont intimement associées à un grand nombre de cultures, comme la pomme de terre, la tomate, le blé, le radis, les légumineuses, ...etc. nous citons : *Agglomerans*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas putida* et *Rhizobium leguminosarum* [56, 57, 58]. En règle générale, la solubilisation du phosphore inorganique résulte de l'action d'acides organiques de faible poids moléculaire, synthétisés par diverses bactéries du sol [59]. À l'inverse, la minéralisation du phosphore organique se produit par la synthèse de phosphatases, catalysant l'hydrolyse d'esters phosphoriques [60]. La solubilisation du phosphate et la minéralisation peuvent coexister chez la même souche

bactérienne [61]. En plus de fournir du phosphore aux plantes, la BSP augmente également la croissance des plantes en stimulant l'efficacité du BFN, et en améliorant la disponibilité d'autres oligo-éléments (comme le fer et le zinc). La possibilité d'accroître l'absorption du phosphore par les cultures, via l'inoculation de souches de PGPR solubilisant le phosphore constitue une approche prometteuse pour récupérer les réserves de phosphore insoluble du sol et minimiser ainsi l'application externe d'engrais phosphatés au sol [20].

### **1.1.3 Absorption du fer**

Le fer est un micronutriment essentiel pour les plantes, car il sert de cofacteur à de nombreuses enzymes à activité rédox. Il est nécessaire dans de nombreux processus physiologiques majeurs tels que la fixation de  $N_2$ , la photosynthèse, la respiration, etc. Pour répondre à leurs besoins en fer, les microorganismes et les plantes ont développé des mécanismes spécifiques pour chélater le fer insoluble grâce à la libération de sidérophores et à l'absorption des complexes fer-sidérophore par l'intermédiaire de protéines spécifiques du récepteur de la membrane externe [62]. Ces sidérophores peuvent être de différents types (carboxylates, hydroxamates, phénolates de calcium et pyoverdines), selon leurs groupes fonctionnels, leurs caractéristiques structurales et leurs types de ligands [19, 63]. La synthèse des sidérophores chez les bactéries est stimulée par un faible taux en  $Fe^{3+}$  et un sol acide [64]. Diverses études ont montré que les bactéries productrices de sidérophores appartiennent généralement aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* [20, 65, 66] de la rhizosphère. Des effets positifs sur la croissance des plantes ont été observés après inoculation de *Pseudomonas*, *Rhizobium* et *Azospirillum* producteurs de sidérophore dans des conditions limitées en fer [20, 67].

### **1.2 PGPR et phytostimulation**

Les phytohormones sont des composés organiques qui, à des concentrations extrêmement basses, influent sur les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques des plantes et leur synthèse est finement régulée [68]. Les PGPR peuvent stimuler la croissance des plantes grâce à la production d'auxines (acide indole acétique) [69], de gibbérellines (GA) [70] et de cytokinines [71], ou en régulant les niveaux élevés d'éthylène chez la plante [20, 72].

### 1.2.1 Acide indole-3-acétique

La synthèse microbienne de l'acide indole-3-acétique (IAA) est connue depuis longtemps. Il a été rapporté que 80% des microorganismes isolés de la rhizosphère de diverses cultures possèdent la capacité de synthétiser et de libérer des auxines en tant que métabolites secondaires [73]. En règle générale, l'IAA sécrétée par les rhizobactéries interfère avec de nombreux processus de développement végétal, car le pool endogène d'IAA de la plante peut être altéré par l'acquisition d'IAA sécrétée par des bactéries du sol [60, 69]. De toute évidence, l'IAA agit également comme une molécule de signalisation réciproque affectant l'expression des gènes chez plusieurs microorganismes. Par conséquent, l'IAA joue un rôle très important dans les interactions entre rhizobactéries/plantes [74]. En règle générale, l'IAA affecte la division et la différenciation des cellules végétales ; stimule la germination des graines et des tubercules ; augmente le taux de développement du xylème et des racines ; contrôle les processus de croissance végétative ; initie la formation de racines latérales et adventices ; affecte la photosynthèse, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance à des conditions stressantes. Les IAA produits par les rhizobactéries interfèrent avec les processus physiologiques susmentionnés des plantes en modifiant le pool d'auxines. L'IAA exogène contrôle une grande variété de processus de développement et de croissance des plantes ; de faibles concentrations d'IAA peuvent stimuler l'élongation primaire des racines, alors que des taux élevés stimulent la formation de racines latérales, réduisent la longueur de la racine primaire et augmentent la formation de poils racinaires [44, 69, 73]. De plus, l'IAA rhizobactérienne augmente la surface et la longueur des racines, offrant ainsi à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol, et desserre les parois des cellules végétales pour augmenter l'exsudation racinaire qui fournit des nutriments supplémentaires pour soutenir la croissance des bactéries de la rhizosphère [60]. Ainsi, l'IAA rhizobactérien est identifié comme une molécule effectrice dans les interactions microorganismes-végétaux, à la fois en pathogenèse et en phytostimulation [74]. Parmi les espèces des PGPR, *Azospirillum* est l'un des producteurs d'IAA les mieux étudiés. D'autres bactéries productrices d'IAA appartenant aux genres *Aeromonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* ont été isolées de différents sols à rhizosphère [20, 69].

### 1.2.2 Gibbérellines

Les gibbérellines sont un autre groupe de phytohormones qui interviennent dans toutes les phases de la croissance et du développement des plantes, de la germination à la sénescence [20]. Toutefois, l'effet physiologique le plus important de l'acide gibbérellique (AG) est l'élongation des pousses. Parmi les autres fonctions liées à la croissance des plantes, on peut citer la levée de la dormance et du nanisme chez les plantes, la floraison de certaines plantes photo-périodiquement sensibles ou dépendantes de la basse température, comme il contribue aussi à la maturation des fruits. On sait que plusieurs microorganismes du sol produisent des substances de type AG [74], et comme les auxines et les cytokinines, les AG agissent principalement en association avec d'autres hormones. Les PGPR qui produisent de l'AG les plus étudiées appartiennent à *Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Azospirillum* spp., *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., À *Herbaspirillum seropedicae*, à *Gluconobacter diazotrophicus* et *Rhizobia* [70, 75]. Le mécanisme de stimulation de la croissance des plantes par les AG est encore mal connu. Fulchieri et al., [76] supposent que l'AG augmente la densité des poils dans les zones racinaires impliquées dans l'absorption des nutriments et de l'eau [20].

### 1.2.3 Cytokinines

Les cytokinines stimulent la division cellulaire des plantes, contrôlent la différenciation des méristèmes racinaires, induisent la prolifération des poils radiculaires, mais inhibent la formation des racines latérales et l'élongation primaire des racines [77]. Il a été démontré que l'inoculation des plantes par des bactéries produisant de la cytokinine stimulait la croissance des pousses et réduisait le rapport racines / pousses [78]. Ils jouent un rôle important dans le développement et la formation des nodules. Les *Rhizobium* (bactéries symbiotiques fixatrices de N<sub>2</sub>), *Azospirillum* et *Azotobacter* (bactéries non-symbiotiques fixatrices de N<sub>2</sub>), et *Rhizopogon roseolus* (champignon mycorhizien) sont connus pour produire des cytokinines dans la rhizosphère avec d'autres substances favorisant la croissance des plantes. La production de cytokinines (en particulier la zéatine) a été étudiée chez diverses bactéries : *Arthrobacter giacomelloi*, *Azospirillum brasilense*, *B. japonicum*, *Bacillus licheniformis*, *P. fluorescens* et *Paenibacillus polymyxa* [20, 79, 80].

#### 1.2.4 Régulation d'éthylène d'origine végétale

L'éthylène, à des concentrations élevées, induit une défoliation et des processus cellulaires qui entraînent une inhibition de la croissance des tiges et des racines, ainsi qu'une sénescence prématurée, qui entraînent une diminution des performances des cultures [81]. Sous stress environnementaux, tels que le froid, la sécheresse, les inondations, les infections par des agents pathogènes, la présence de métaux lourds, les plantes réagissent en synthétisant le 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC), précurseur de l'éthylène [60]. Une partie de l'ACC est sécrétée dans la rhizosphère et est réabsorbée par les racines où elle est convertie en éthylène. La faible croissance des racines entraînant une diminution de la capacité à acquérir de l'eau et des nutriments, ce qui entraîne un stress supplémentaire. Ainsi, une PGPR capable de dégrader l'ACC dans la rhizosphère peut aider à rompre ce cycle et à rétablir un système racinaire sain nécessaire pour faire face au stress environnemental. Le mécanisme principal utilisé par les rhizobactéries pour dégrader l'éthylène implique l'enzyme ACC désaminase, qui peut atténuer ou prévenir certains des effets nocifs des taux élevés d'éthylène [72]. L'ACC désaminase agit sur l'ACC, précurseur de l'éthylène chez les plantes supérieures, en le dégradant en alpha-cétobutyrate et en ammonium [72, 82, 83]. Les rhizobactéries à activité ACC désaminase appartenant à l'*Achromobacter* [84], *Azospirillum* [81], *Bacillus* [85], *Enterobacter* [81], *Pseudomonas* [84] et *Rhizobium* [86] ont été isolées de différents sols. Grichko et Glick [83] ont réalisé une inoculation à base d'*Enterobacter cloacae* et de *P. putida*, produisant l'ACC désaminase, et ont enregistré qu'en neuf jours d'inondation il y a eu une augmentation de la résistance des plantes âgées de 55 jours. Ghosh et al. [85] ont trouvé une activité ACC désaminase chez trois espèces de *Bacillus* (*B. circulans* DUC1, *B. firmus* DUC2 et *B. globisporus* DUC3), qui ont stimulé l'élongation des racines des plantes de *Brassica campestris*. Mayak et al. [87] ont étudié des plants de tomates inoculés avec la bactérie *Achromobacter atchhaidii* dans des conditions de stress hydrique et salin, et ont signalé une augmentation significative du poids frais et sec des plants inoculés [20].

#### 1.3. PGPR et biopesticides

Les maladies sont très courantes chez les plantes et sont responsables de la perte d'environ un tiers du rendement des cultures dans le monde [88]. Les PGPR antagonistes peuvent être considérées comme une alternative à la forte utilisation de pesticides afin de réduire la gravité des maladies. Un grand nombre

de mécanismes utilisés par les PGPR sont impliqués dans le biocontrôle, tels que l'antagonisme direct via la production d'antibiotiques, de sidérophores, d'HCN, d'enzymes hydrolytiques (chitinases, protéases, lipases, etc.) ou comme mécanismes indirects dans lesquels les organismes de biocontrôle agissent en tant que probiotiques en concurrençant l'agent pathogène [89]. La production de sidérophores, de bactériocines et d'antibiotiques est la stratégie la plus efficace et la plus connue utilisée par les PGPR pour minimiser ou empêcher la prolifération des phytopathogènes. Plusieurs PGPR ont été identifiées comme éliciteurs potentiels des ISR pour leur capacité à induire une résistance des plantes aux agents phytopathogènes (fongiques, bactéries et virus) [20, 90, 91]. Mazoyon et *al.* [92] ont montré que les PGPR sont capables de stimuler la croissance et la défense des plantes (*Arabidopsis*, pois, blé), *via* la production des polyphénols et de flavonoïdes.

### **1.3.1. Sidérophores**

Les sidérophores microbiens dans la rhizosphère sont beaucoup plus associés aux activités de biocontrôle qu'à la nutrition des plantes [93]. Leur production confère au PGPR des avantages compétitifs qui peuvent coloniser les racines et exclure les autres microorganismes de cette niche écologique [94]. Des études ont clairement montré que la nutrition en fer de la plante influait sur la structure de la communauté microbienne de la rhizosphère [95]. La dynamique de la concurrence du fer dans la rhizosphère est souvent complexe, par exemple, certains sidérophores ne peuvent être utilisés que par les bactéries qui les produisent [96], tandis que d'autres peuvent être utilisés par de nombreuses bactéries différentes [97].

### **1.3.2. Antibiotiques**

La production d'un ou plusieurs antibiotiques par les PGPR est le mécanisme le plus souvent associé à l'antagonisme [98]. La base de l'antibiose est basée sur la sécrétion de molécules qui éliminent ou réduisent la croissance des pathogènes. Cette activité a été mieux comprise au cours des dernières décennies [89, 99, 100]. Les antibiotiques, chez les rhizobactéries, englobent un groupe hétérogène de composés organiques de faible poids moléculaire qui nuisent à la croissance ou aux activités métaboliques d'autres microorganismes [101]. Selon Haas et Défago [94], six classes de composés antibiotiques (pour lesquels leurs modes d'action sont en partie compris) sont davantage liées au contrôle biologique des maladies d'origine telluriques : phénazines,

phloroglucinols, pyolutérine, pyrrolnitrine, lipopeptides cycliques (tous diffusible) et du cyanure d'hydrogène (HCN). Encore, les biosurfactants lipopeptidiques, produits par les espèces *Pseudomonas* et *Bacillus*, ont été impliqués dans le biocontrôle [102, 103, 104].

Les antibiotiques d'origine rhizobactérienne inhibent la synthèse des parois cellulaires des agents pathogènes, influencent les structures membranaires des cellules et inhibent la formation de complexes d'initiation sur la petite sous-unité ribosomale [105]. La pyrrolnitrine, produit par la souche *P. fluorescens* BL915, est capable de prévenir la fonte des semis du coton causée par *Rhizoctonia solani* [106]. Le 2,4-dia- cétylphloroglucinol (DAPG) produit par les *Pseudomonas* provoque des lésions sur la membrane de *Pythium* spp. [107]. La phénazine, également produite par les *Pseudomonas*, possède une activité redox et peut supprimer des agents phytopathogènes (*F. oxysporum* et *Gaeumannomyces graminis*) [108]. *P. chlororaphis* PCL1391, isolée à partir des racines de tomates, synthétise phényl-1-carboxamide, capable de libérer du fer soluble à partir d'oxydes ferriques insolubles à pH neutre, augmentant ainsi la possibilité que les phénazines contribuent à la mobilisation du fer dans les sols [94, 104, 109].

### 1.3.3. Bactériocines

Les autres molécules utilisées dans les systèmes de défense microbienne sont les bactériocines. Selon Riley et Wertz [110], les bactériocines diffèrent des antibiotiques traditionnels par le fait qu'elles ont généralement un spectre de destruction relativement étroit et ne sont toxiques que pour les bactéries étroitement apparentées à la souche productrice. Presque toutes les bactéries peuvent fabriquer au moins une bactériocine, et de nombreuses bactériocines isolées à partir de bactéries à Gram négatif semblent avoir été créées par la combinaison de plusieurs bactériocines existantes [111]. Les colicines, protéines produites par certaines souches d'*Escherichia coli* sont mortelles pour les souches apparentées, ce sont les bactériocines les plus représentatives produites par les bactéries Gram-négatives. À l'instar de la colicine, un nom dérivé d'*E. Coli*, d'autres bactériocines ont été ainsi définies et nommées, telles que les pyocines des souches de *P. pyogenes*, les cloacines de *Enterobacter cloacae*, les marcescines de *Serratia marcescens* et les mégacines de *B. megaterium* [112]. Fait intéressant, les bactériocines de *Bacillus* spp. prennent de plus en plus d'importance en raison de leurs spectres d'inhibition parfois plus larges (comparés aux autres bactériocines), qui peuvent inclure des bactéries à Gram négatif, des

levures ou des champignons, en plus des espèces à Gram positif, dont certaines sont connus pour être pathogènes pour l'homme et / ou les animaux [104, 113].

#### 1.3.4. Phénylpropanoïdes

Les PGPR peuvent déclencher la biosynthèse des phénylpropanoïdes dans le cadre d'une résistance systémique induite (ISR) [43]. Ils peuvent être divisés en deux groupes : les phénylpropanoïdes flavonoïdes (flavones, flavonols, flavanols et flavanones) et les phénylpropanoïdes non flavonoïdes (stilbènes, lignans et acides phénoliques) [114]. Le premier groupe comprend près de cent flavonoïdes présumés qui ont été identifiés par des approches métabolomiques pour jouer un rôle dans les mécanismes de résistance contre le *Fusarium*. Plusieurs composés des classes flavanol, flavanone (naringénine), flavone (apigénine et vitexine) et anthocyanes ont également été mis en évidence [115, 116].

Le rôle des flavonoïdes dans la défense des plantes a déjà été examiné par Treutter [114], Mierziak et *al.* [117], Gauthier et *al.* [115] et Atanasova-Penichon et *al.* [118]. La plupart de ces composés sont bioactifs et contribuent aux mécanismes de défense contre les stress biotiques et abiotiques [119, 120] et jouent un rôle important dans la régulation et la signalisation physiologiques [121]. Les voies de biosynthèse des flavonoïdes sont fortement inductibles [122] et sont particulièrement sensibles aux stimuli biotiques tels que les PGPR, dont certaines sont capables d'induire une résistance systémique [123, 124, 125].

Les flavonoïdes remplissent de nombreuses fonctions telles que l'activité antioxydante, par la désactivation des espèces réactives à l'oxygène (ROS) [126], la protection contre les rayons UV [117], la nodulation des légumineuses [126], et la défense des plantes soit par renforcement des parois cellulaires bloquant l'accès à l'agent phytophagène, ou par l'inhibition des enzymes de dégradation de la paroi des cellules végétale sécrétées par les champignons [127, 128]. Des études *in vitro* ont montré que les flavonoïdes présentent des effets d'inhibition de la croissance mycélienne chez les *Fusarium* [129, 130]. Cependant, leur effet inhibiteur semble moins important que celui des acides phénoliques [118, 128].

Plus récemment, une étude a démontré que ces métabolites secondaires inhibent spécifiquement la détection du quorum sensing (QS) par blocage des récepteurs de liaison aux autoinducteurs [131]. Le QS est un processus de communication cellule-cellule bactérienne qui contrôle les comportements collectifs [132], et qui repose sur la production, l'accumulation, la détection et la

réponse à l'échelle de population à des molécules de signalisation extracellulaires appelées autoinducteurs [133], donc par la suppression de la détection aux autoinducteurs les flavonoïdes éliminent la virulence, confirmant encore une fois leur potentiel antagoniste [131].

Le tableau I.1 montre le rôle de PGPR en tant qu'agents de biocontrôle contre diverses maladies des cultures. Avec l'arrivée des 'omics'-technologies, l'évolution des bioproduits de prochaine génération semble encore plus prometteuse [20, 134].

#### **1.4 PGPR et bioremédiation**

La bioremédiation est reconnue comme un outil important pour restaurer les sites contaminés, reboiser les zones érodées et restaurer les écosystèmes dégradés. Bien que les PGPR soient principalement connues pour la phytostimulation et la bioprotection des plantes, une grande attention a été récemment accordée à la bioremédiation [135, 136, etc.]. En raison de la sensibilité et de la capacité de séquestration des métaux lourds, les microorganismes ont été utilisés avec succès pour la bioremédiation [137, 138]. Plusieurs rhizobactéries susceptibles de dégrader certains polluants (herbicides ou hydrocarbure) ont été étudiées [139]. Des rhizobactéries résistantes à de fortes concentrations de métaux lourds (benzène, toluène, éthylbenzène et xylènes, trichloréthylène ou hydrocarbures polyaromatiques) ont également été identifiées [140, 141]. Plusieurs méthodes efficaces ont été développées pour améliorer l'efficacité de la dégradation et la tolérance des bactéries aux contaminants dans les sols. Les PGPR capables de produire des sidérophores chélatant le fer ainsi que d'autres métaux lourds tels que le cadmium, le plomb, le nickel, l'arsenic, l'aluminium, le magnésium, le cuivre, le cobalt et le strontium peuvent aider à adsorber / absorber les métaux lourds présents dans le sol, en plus de favoriser la croissance des plantes et de lutter contre les agents phytopathogènes [20].

## **2. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents phytobénéfiques et leurs métabolites**

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes sont des habitants typiques des sols agricoles, en s'impliquant dans de nombreuses interactions avec les plantes, notamment au niveau des rhizosphères. Elles sont considérées comme l'un des groupes les plus prometteurs des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) [47, 142, 143]. Au cours des dernières années, une grande attention leur a été accordée en se référant vivement à leurs capacités

de lutte biologique et de biofertilisation [144].

Les *Pseudomonas* fluorescentes sont des modèles clés pour évaluer les interactions plantes-bactéries bénéfiques, car elles présentent un large éventail de propriétés bénéfiques pour les plantes et jouent un rôle important dans la rhizosphère, y compris dans les sols supprimeurs de maladies [145, 146, 147, 148, 149, 150]. Une souche de *Pseudomonas* donnée présente généralement de nombreux modes d'action différents sur la plante, ce qui est considéré comme important pour optimiser leur effet bénéfique sur la plante [151].

Ces dernières années, des souches de *Pseudomonas* ont été largement utilisées pour l'amélioration de la croissance et la protection sanitaires des plantes [6, 166, 167, 168, 169, 170, 171]. Leurs activités de biocontrôle sont principalement dues à la production de divers types de métabolites extracellulaires et de composés antibiotiques, qui ont tendance à avoir un effet synergique contre les microorganismes phytopathogènes d'origine telluriques [144, 172] (Figure 2, Tableau I.2).

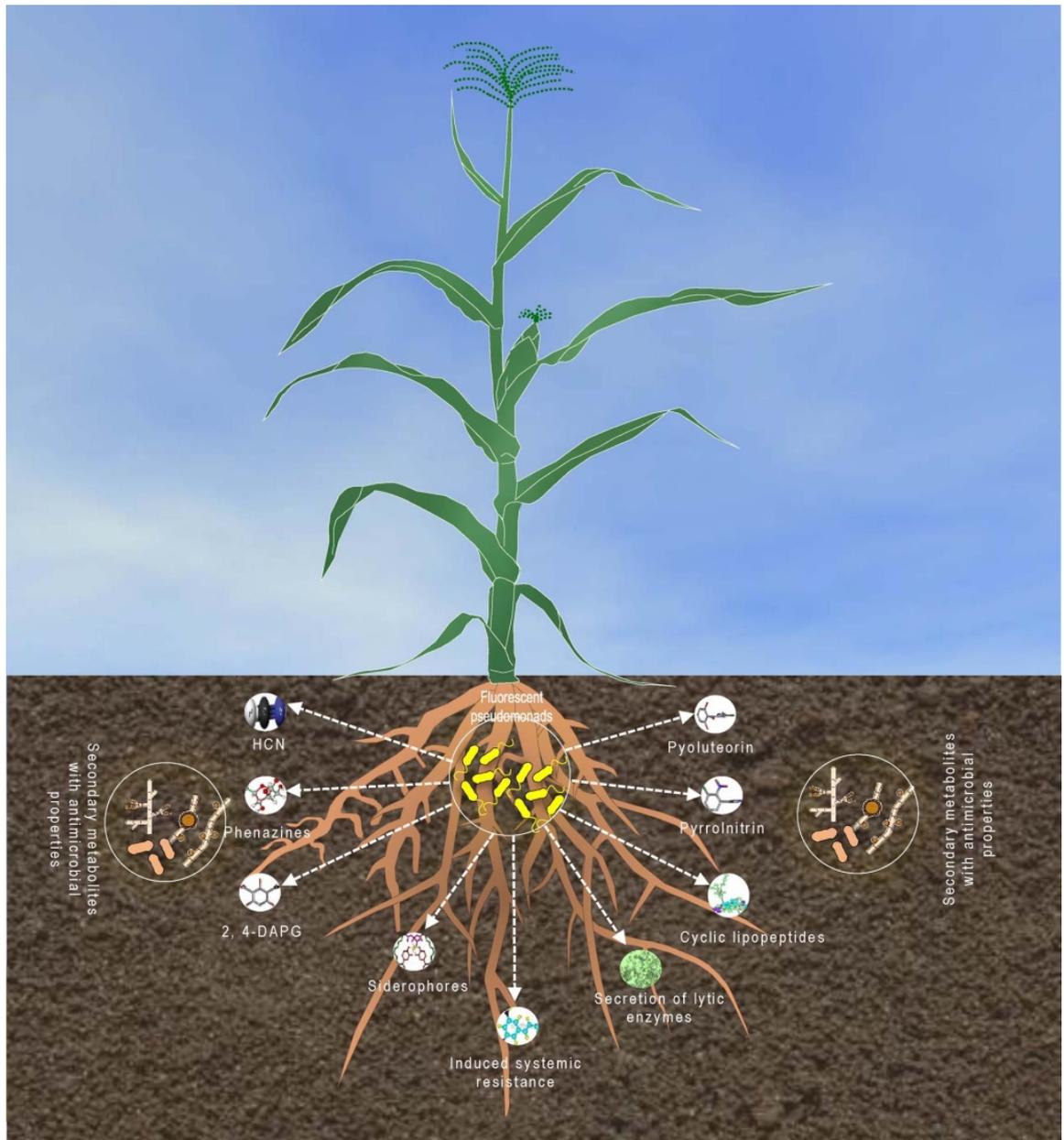
### **2.1. Cyanure d'hydrogène (HCN)**

La cyanogénèse bactérienne est généralement présente chez les *Pseudomonas* spp. fluorescents et chez quelques membres du genre *Chromobacterium*, *Burkholderia*, certaines *Rhizobiums* et cyanobactéries [173, 174]. Selon les facteurs environnementaux, les *P.* fluorescentes produisent une quantité variable de HCN dans la rhizosphère [175]. La glycine est le précurseur métabolique immédiat du cyanure et en présence de HCN synthase, la glycine est décarboxylée en HCN et CO<sub>2</sub> [176]. L'HCN produit par les *Pseudomonas* fluorescentes a montré une toxicité contre les phytopathogènes en inhibant la cytochrome-c-oxydase [177]. Néanmoins, les *Pseudomonas* fluorescentes sont elles-mêmes résistantes au cyanure en raison de la présence de RhdA, un thiosulfate (cyanure soufre-transférerase (rhodanese)) qui convertit le cyanure en thiocyanate moins toxique. La production de cyanure serait maximale entre 34 ° C et 37 ° C dans des conditions micro-aérophiles [1, 178].

Bien que la plupart des études dans le passé aient suggéré un rôle bien précis d'HCN dans le biocontrôle contre les agents phytopathogènes ; une recherche récente diffère de cette notion [1]. Rijavec et Lapanje [179] ont rapporté que l'HCN est plus impliqué dans la chélation des métaux, augmentant ainsi la disponibilité du phosphate pour la plante plutôt que dans le contrôle biologique contre les phytopathogènes.

**Tableau I.1 :** Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) en tant que biopesticides / agents de biocontrôle contre diverses maladies des plantes [20].

<b>PGPR</b>	<b>Culture</b>	<b>Maladies</b>	<b>Références</b>
<i>Azospirillum</i> souches SPS2, WBPS1 et Z2-7	<b>Riz</b>	<b>Rouille du riz</b>	[152] Naureen Zakira, Hafeez Adam, Roberts Fauzia, et Michael (2009)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 937a, <i>Bacillus subtilis</i> 937b, <i>Bacillus pumilus</i> SE34	<b>Tomate</b>	<b>Virose de la tomate</b>	[153] Murphy et al. (2000)
<i>B. amyloliquefaciens</i> souche IN937a, <i>B. pumilus</i> souche SE34, <i>B. subtilis</i> souche IN937b	<b>Concombre</b>	<b>Concombre mosaïque virus</b>	[154] Zehnder, Yao, Murphy, Sikora, et Kloepper (2000)
<i>Bacillus cereus</i> souches B101R, B212R, A068R	<b>Tomate</b>	<b>Maladies foliaires</b>	[155] Silva et al. (2004)
<i>Bacillus</i> spp. souches BB11, FH17	<b>Poivron</b>	<b>Rouille du poivron</b>	[156] Jiang, Guo, Li, Qi, et Guo (2006)
<i>B. pumilus</i> souche INR7	<b>Concombre</b>	<b>Flétrissement</b>	[157] Zehnder, Murphy, Sikora, et Kloepper (2001)
<i>B. pumilus</i> souche SE34	<b>Tabac</b>	<b>Moisissure bleue</b>	[158] Zhang, Moyne, Reddy, et Kloepper (2002)
<i>B. subtilis</i> souche GBO3, <i>B. pumilus</i> souche INR7, <i>B. pumilus</i> souche T4	<b>Millet perlé (céréale)</b>	<b>Mildiou</b>	[159] Niranjan et al. (2003)
<i>B. subtilis</i> souche ME488	<b>Concombre</b> <b>Poivron</b>	<b>Maladies d'origines telluriques</b>	[160] Chung et al. (2008)
<i>Burkholderia</i> souche MBf 21 and MBf15	<b>Maïs</b>	<b>Pourriture du maïs</b>	[161] Hernandez-Rodriguez, Heydrich-Perez, Acebo-Guerrero, Velazquez-del Valle, et Hernandez-Lauzardo (2008)
<i>Enterobacter</i> sp.	<b>Pois-chiche</b>	<b>Fusariose</b>	[162] Hynes, Leung, Hirkala, et Nelson (2008)
<i>Paenibacillus polymyxa</i> souche E681	<b>Sésame</b>	<b>Maladies fongiques</b>	[163] Ryu, Kim, Choi, Kim, et Park (2006)
<i>Pseudomonas</i> sp.	<b>Trèfle blanc</b> <b>Luzerne</b>	<b><i>Acyrtosiphon kondoi</i></b>	[164] Kempster, Scott, et Davies (2002)
<i>Pseudomonas fluorescens</i> souche CHAO	<b>Banane</b>	<b>Banana bunchy top virus (BBTV)</b>	[165] Kavino, Harish, Kumar, Saravanakumar, et Samiyappan (2010)
<i>Streptomyces marcescens</i> souche 90e116	<b>Tabac</b>	<b>Moisissure bleue</b>	[158] Zhang et al. (2002)



**Figure I.2 :** Représentation schématique des métabolites secondaires produits par les *Pseudomonas* fluorescentes dans la rhizosphère impliquées dans le biocontrôle

[1].

## 2.2. Phenazines (PHZ)

Les PHZ naturels sont un grand groupe de composés hétérocycliques azotés identifiés dans les phyla bactériens Actinobacteria, Protéobactéries et le phylum archéen Euryarcheota [180]. Plus de 6000 composés contenant de la phénazine en tant que fragment central ont été synthétisés et plus de 100 différents dérivés structuraux naturels de PHZ ont été identifiés pour leurs propriétés antimicrobiennes [181]. En fait, plus de 180 produits à base de PHZ

sont connus avec des activités antibiotiques, antifongiques, insecticides, anti-protozoaires et autres [182]. Les PHZ isolés à partir des *Pseudomonas* spp. sont la pyocyanine (PYO), l'acide phénazine-1- carboxylique (PCA), la phénazine-1-carboxamide (PCN), et la 1-hydroxyphénazine (1-HP) [183]. Le PCA, qui est produit à partir d'acide chorismique, est le précurseur de tous les autres PHZ [184]. La plupart des études ont décrit que les effets antimicrobiens du PHZ sont principalement attribués à leur capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) [181, 184, 185].

Les PHZ jouent également un rôle important dans l'acquisition de fer, la signalisation cellulaire, la régulation de l'expression des gènes, la formation de biofilms et la survie des bactéries. Toutes ces fonctions aident les *Pseudomonas* fluorescentes dans la compétition et la colonisation de la rhizosphère, procurant ainsi un avantage par rapport aux agents phytopathogènes [186]. De plus Price-Whelan et al. [187] ont suggéré que les PHZ peuvent avoir un rôle dans le métabolisme primaire, en particulier dans la survie de la cellule pendant les conditions de stress.

De nouvelles perspectives ont récemment été suggérées pour la production de PHZ [182]. Bien que quelques produits antimicrobiens à base de PHZ soient maintenant disponibles sur le marché [188], il est nécessaire que pour un meilleur succès commercial et une utilisation efficace et généralisée de ce métabolite, de sélectionner des souches à haut rendement avec des exigences de substrat bon marché, ciblant plusieurs agents phytopathogènes [1].

### **2.3. Phloroglucinol**

Le phloroglucinol (1,3,5-benzène-triol ou 1,3,5-trihydroxybenzène) et ses dérivés sont des composés phénoliques possédant des propriétés antivirales, antibactériennes, antifongiques, antihelminthiques et phytotoxiques à large spectre [189]. Plus de 700 dérivés naturels du phloroglucinol proviennent de différentes sources naturelles, notamment des plantes, des micro-organismes et des organismes marins [190]. Cependant, de tous les microorganismes, la capacité de produire du phloroglucinol et ses dérivés est hautement conservée chez les *Pseudomonas* fluorescentes [22]. Un type important de dérivé de phloroglucinol produit par des *Pseudomonas* fluorescentes est le DAPG [191]. Plusieurs études expérimentales affirment que le DAPG est un métabolite antimicrobien majeur impliqué dans le contrôle biologique des agents phytopathogènes [192].

Bien que le groupe de gènes biosynthétiques du DAPG ait été conservé chez la plupart des *Pseudomonas* fluorescentes, mais de nombreuses souches ont maintenant perdu cette capacité en raison de l'évolution [193, 194]. Landa et al. [195] ont montré que les souches productrices de DAPG peuvent être spécifiques à la culture. Le gène biosynthétique *phlD* est un gène clé pour la synthèse du précurseur du DAPG et est un marqueur fiable pour identifier les producteurs de DAPG [196]. Récemment, l'expression du gène *phlD* bactérien dans les plantes a également été utilisée pour améliorer la production commerciale de phloroglucinol et de ses dérivés spécifiques tels que le DAPG [1, 197].

#### **2.4. Pyolutéorine (PLT)**

Le PLT, un polycétide phénolique comprenant du pyrrole bichloré lié à un groupement résorcinol, a d'abord été isolé de *P. aeruginosa* et plus tard chez d'autres *Pseudomonas* fluorescentes [198]. Le PLT a des activités bactéricides, herbicides et fongicides [199]. Le cluster de gènes *pltABCDEFGHIJ* est requis pour la biosynthèse du PLT [200]. Le PLT fonctionnerait également comme un auto-inducteur et comme un signal intercellulaire entre des populations distinctes de cellules bactériennes cohabitant dans la rhizosphère [201]. Récemment, il a été étudié que le phloroglucinol a une influence dépendante de la concentration sur l'expression des gènes biosynthétiques du PLT et sa production chez *P. protegens* [202]. Il a été signalé qu'à des concentrations variées, le phloroglucinol peut induire différents métabolites (DAPG et PLT) avec des mécanismes et des cibles phytopathogènes distincts [1].

#### **2.5. Pyrrolnitrine (PRN)**

Le PRN est un aryl pyrrole halogéné, initialement isolé de *Burkholderia pyrrocinia* [227]. Le PRN est connu pour être produit par une gamme étroite de bactéries à Gram négatif, notamment *Pseudomonas* spp. [228, 229]. Le PRN produit par les *Pseudomonas* fluorescentes est connu pour avoir une activité antagoniste contre les agents fongiques, les levures et les bactéries à Gram positif [230]. Cependant, le mode d'action exact du PRN n'est pas clair. Des dérivés chimiques du PRN connus sous le nom de phénylpyrroles sont produits au niveau commercial et utilisés avec succès pour le traitement des semences et du feuillage pour se protéger contre les agents fongiques phytopathogènes. Le fludioxonil, un analogue du phénylpyrrole, est efficace et utilisé contre plusieurs agents fongiques. Il se trouve sur le marché depuis plus de 25 ans. Hormis ces deux

dérivés (tous deux réussis sur le terrain et au niveau commercial), aucun autre analogue du PRN n'a été développé jusqu'à présent [1, 231].

**Tableau I.2** : Métabolites secondaires des *Pseudomonas* fluorescentes étudiées dans le biocontrôle des phytopathogènes [1].

Métabolites secondaires	<i>Pseudomonas</i> fluorescentes	Phytopathogènes	Effets	Références
<b>HCN</b>	<i>Pseudomonas</i> sp. P76 and P124	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Diverses plante	[203]
		<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Tomate	[204]
	<i>Pseudomonas</i> sp. LBUM300 <i>Pseudomonas</i> CF1 and CF5 <i>P. corrugata</i> et <i>P. mediterranea</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>In vitro</i>	[205]
		<i>B. cinerea</i>	<i>In vitro</i>	[206]
<b>HCN et autres métabolites volatiles PRN</b>	<i>P. donghuensis</i> P482	<i>R. solani</i> AG2, <i>F. culmorum</i> PV et <i>P. ultimum</i> P17	<i>In vitro</i>	[207]
<b>PCA</b>	<i>P. chlororaphis</i> O6 <i>P. cepacia</i> <i>P. fluorescens</i> <i>P. cepacia</i>	<i>F. graminearum</i> et <i>R. solani</i>	Tomate	[208]
		<i>Aphanomyces cochlidiodes</i> <i>Pythium ultimum</i>	Canne à sucre	[209]
	<i>P. fluorescens</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Pseudomonas</i> spp. MCC3145 <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Colletotrichum truncatum</i> et <i>F. sambucinum</i>	Légumineuses <i>In vitro</i>	[210] [211]
		<i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> . <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> et <i>F. udum</i>	Blé <i>In vitro</i>	[212] [214]
<b>2,4-DAPG</b>	<i>P. aurantiaca</i> <i>P. fluorescens</i> VUP f5 <i>Pseudomonas</i> spp. <i>P. fluorescens</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Pseudomonas</i> sp. LBUM300 <i>P. fluorescens</i> <i>P. brassicacearum</i> J12	<i>C. circinans</i> , <i>C. dematium</i> , <i>F. oxysporum</i> <i>R. solani</i>	Blé	[215]
		<i>F. oxysporum</i> <i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i>	Blé	[216] [217]
	<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> (Xoo) <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> FOC	Tomate	[218]	
		Riz	[204]	
<b>CLPs</b>	<i>P. fluorescens</i> <i>P. fluorescens</i> <i>Pseudomonas</i> SH-C52	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i> FOC	Banane	[219]
		<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Tomates	[220]
		<i>Aspergillus niger</i> , <i>K. flavus</i> , <i>S. rolfsii</i>	Arachides	[204]
		<i>Ralstonia solanacearum</i>	<i>In vitro</i>	[221] [222]
<b>CLPs</b>	<i>P. fluorescens</i> <i>P. fluorescens</i> <i>Pseudomonas</i> SH-C52	<i>R. solani</i> et <i>P. ultimum</i>	Canne à sucre	[223, 224]
		<i>Phytophthora infestans</i>	Tomates	[225]
		<i>S. rolfsii</i>	Arachides	[226]

## 2.6. Lipopeptides cycliques (CLP)

Les CLP sont produits par diverses bactéries et champignons, ce sont des oligopeptides courts avec une queue d'acide gras liée, avec formation d'un cycle lactone entre deux acides aminés [232]. La variabilité des CLP est due à des différences dans le nombre d'acides gras, la modification des acides aminés et l'organisation du cycle lactone [232, 233]. Ces dernières années, les CLP ont été reconnus comme biosurfactants et montrent des activités antimicrobiennes contre un large éventail de micro-organismes pathogènes, y compris des virus, des mycoplasmes et des bactéries à Gram positif [232, 233, 234]. Les CLP des *Pseudomonas* fluorescentes auraient également un rôle actif dans la colonisation de la rhizosphère [235, 236], de la motricité de l'essaimage, de la formation de biofilm et de la virulence [233]. Les CLP produits par les *Pseudomonas* fluorescentes sont de différents types et certains d'entre eux ne sont pas entièrement caractérisés. Les CLP les plus étudiés appartiennent aux groupes viscosine, amphisine, tolaasine et syringomycine [234]. Les CLP de *Pseudomonas* sont actuellement divisés en huit groupes structurels différents qui varient en longueur et en composition de l'oligopeptide et de la queue d'acide gras [235]. Le mécanisme responsable de l'activité antimicrobienne des CLP est lié à leur capacité à perturber les membranes biologiques [232]. Les groupes de tolaasine et de syringomycine de CLP fonctionnent comme des toxines cellulaires par la formation de pores ou de tunnels [235]. Récemment, l'Orfamide (un type de CLP) qui aurait été produit par *P. protegens* s'est révélé avoir une activité insecticide [1, 236].

## 2.7. Sidérophores

Les *Pseudomonas* fluorescentes produisent des sidérophores fluorescents jaune-vert appelés pyoverdines (ou pseudobactines) ayant une forte affinité pour le  $\text{Fe}^{3+}$ , avec une constante de stabilité du complexe pyoverdine ferrique vers  $10^{32}\text{M}$  [237, 238]. Cette dernière est constituée d'une chaîne peptidique d'acides aminés liée à un chromophore fluorescent responsable de la fluorescence jaune-vert caractéristique de ce pigment [239]. Un autre sidérophore dérivé de l'acide salicylique est le pseudomonine produit par certaines souches de *Pseudomonas* fluorescentes [240, 241, 242]. Des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents, à l'exemple de la souche *Pseudomonas fluorescens* CHA0 aux propriétés antagonistes reconnues [243], produisent un sidérophore non fluorescent, la

pyocheline présentant une faible affinité pour le fer [244, 245].

## 2.8. Enzymes lytiques

Le biocontrôle par activité enzymatique est un autre mécanisme, utilisé par les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes. Ces dernières peuvent produire certaines enzymes, telles que les chitinases, les déshydrogénases, la  $\beta$ -glucanase, les lipases et les protéases...etc., qui présentent une activité hyperparasitaire, attaquant les agents pathogènes en excréant les hydrolases sur leurs parois cellulaires [246, 247]. Grâce à l'activité de ces enzymes, les *Pseudomonas* fluorescents jouent un rôle très important dans la promotion de la croissance des plantes, en particulier pour les protéger des stress biotiques par la suppression des champignons pathogènes tels que *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* et *Pythium ultimum* [248, 249].

## 2.9. Induction de la résistance systémique (ISR)

Une quatrième idée de la recherche contemporaine, sur le biocontrôle des *Pseudomonas*, peut être attribuée à des démonstrations indépendantes menées en 1991 par des groupes de recherche aux Pays-Bas, États-Unis et en Suède, qui a démontré que certaines *Pseudomonas* protégeaient les plantes de divers agents pathogènes telluriques en induisant une résistance systémique [22]. La résistance systémique induite (ISR) est un état de résistance active, qui dépend des barrières chimiques ou physiques de la plante hôte et qui est déclenchée par des stimuli biotiques ou abiotiques spécifiques [250, 251].

Des progrès considérables ont été réalisés pour révéler les mécanismes impliqués dans les interactions plante-PGPR-pathogène. Cependant, il existe une absence d'élucidation globale de la signalisation ISR par les bactéries. Il a été rapporté que certains composants structuraux de bactéries, tels que les flagelles, les lipopolysaccharides (LPS) et la production de sidérophores et d'antibiotiques sont les déterminants des ISR [252, 253, 254].

D'autres produits biochimiques produits par des PGPR ont été proposés pour déclencher l'ISR ; à l'exemple du dérivé de benzylamine N-alkylé produit par *P. putida*, BTP1 [255], des composés organiques volatils (COV) produits par *B. subtilis* et *B. amyloliquefaciens* [256, 257], du diméthylsulfure produit par *B. cereus* C1L [258] et du DAPG produit par *P. fluorescens* CHA0 [259]. De plus, il a été démontré que les *Pseudomonas* fluorescentes sont capables d'induire une résistance systémique par la production des flavonoïdes et d'acides phénoliques [260].

### **3. LES RHIZOBIA**

Les rhizobia sont des bactéries du sol et de la rhizosphère qui peuvent établir des symbioses fixatrices d'azote avec des légumineuses, en favorisant leur croissance dans les sols pauvres en azotes [261]. Elles appartiennent à la famille des *Rhizobiaceae*, Gram négatif, strictement aérobies sans sporulation et de forme en bâtonnets; sont mobiles grâce à un flagelle polaire ou subpolaire ou deux à six flagelles péritriches. Leur croissance est optimale à 28 °C et un pH entre 6 et 7 [262, 263]. Ces rhizobactéries sont capables de former des nodules racinaires, où l'azote atmosphérique est fixé pour qu'il soit assimilable par les légumineuses en échange du carbone [264, 265, 266, 267]. En plus de la symbiose fixatrice d'azote, ces bactéries sont connues pour leur faculté de solubiliser le phosphate, synthétiser des enzymes [60], produire des sidérophores [268], et des phytohormones (Acide Indole 3-Acétique (AIA), Cytokinines et Gibberellines) [269, 270, 271]. Ces rhizobactéries sont utilisés comme engrais biologiques, et en tant qu'inoculats, en agriculture depuis plus d'un siècle [272].

Les rhizobia sont appliqués sur 400 millions d'hectares de terres agricoles par an pour améliorer la production fourragère et des légumineuses par fixation symbiotique d'azote [273]. Elles sont considérées comme un environnement fonctionnel externe très développé [274, 275], assimilé à un deuxième génome pour la plante [276]. L'état de symbiose (plante-rhizobia) est considéré comme un métaorganisme [277], d'où la nécessité de comprendre les réelles contributions de ces rhizobactéries dans la phyt promotion et dans la croissance de la phytomasse [275].

#### **3.1. La symbiose fixatrice d'azote**

L'azote est essentiel à la croissance des végétaux, notamment pour la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Présent en abondance sur terre, toutes les formes de l'azote ne sont cependant pas assimilables par les végétaux (78% azote atmosphérique). La symbiose fixatrice d'azote entre rhizobactérie-plante, permet au végétal d'assurer 40% à 90% de ses besoins azotés (le complément étant apporté par assimilation de l'azote minéral présent dans le sol), en échange, les bactéries bénéficient d'une source de carbone (produits de la photosynthèse) [278].

## 3.2. Symbiose *Rhizobium* - légumineuses

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse est le résultat d'une interaction hautement spécifique entre la plante et la bactérie [279, 280]. A la suite de mécanismes complexes de reconnaissance entre les deux organismes, notamment via un dialogue moléculaire, la bactérie induit chez la légumineuse la formation d'un organe spécialisé au niveau des racines, le nodule, dans lequel la bactérie intracellulaire se différencie en bactéroïde capable de fixer l'azote atmosphérique, via le complexe de nitrogénase [281, 282, 283, 284]. Certaines légumineuses sont également capables de former des nodules sur les tiges, appelés nodules caulinaires [285, 286].

Les interactions *Rhizobium*-légumineuses se produisent dans la rhizosphère, suite à la libération de molécules carbonées (sucres, acides organiques, hormones, vitamines et substances phénoliques) par exsudation, sécrétion, ou autolyse des vieilles cellules de la racine [284, 287]. Beaucoup de substances organiques libérées par les racines ont un faible poids moléculaire et sont donc facilement décomposables par les microorganismes, conduisant à l'attraction d'une grande communauté microbienne autour de la racine [288, 289]. Ce processus biologique joue un rôle essentiel dans l'agriculture durable, car il réduit l'apport en engrais azoté exogène, tout en fournissant un moyen efficace de produire des aliments riches en protéines [275, 290].

### 3.2.1. Processus de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique

La fixation d'azote est la réduction du  $N_2$  en  $NH_3$ , catalysée par le complexe enzymatique de la nitrogénase en conditions de faible teneur en oxygène, selon la réaction suivante [291] :



La fixation de l'azote est un processus très exigeant en énergie, qui nécessite 16 molécules d'ATP pour réduire une molécule de  $N_2$  en  $NH_3$  et son fonctionnement nécessite la contribution des deux partenaires : (i) La plante fournit un environnement microaérobie, de l'énergie et des sources de carbone nécessaires à la nitrogénase, et (ii) le bactéroïde qui fournit la machinerie génétique pour la synthèse de la nitrogénase responsable de la fixation de l'azote (les gènes *nif*, *nod* et *fix*).

- Les gènes *nif* codent pour la biosynthèse de la nitrogénase [23, 292, 293].
- Les gènes *nod* codent pour les facteurs *nod* qui induisent diverses

réponses symbiotiques sur les racines de légumineuses [294, 295, 296].

- Les gènes *fix* sont des gènes essentiels à la fixation d'azote mais sont rencontrés uniquement chez les microorganismes fixateurs symbiotiques [297, 298].

La nitrogénase est un complexe enzymatique très sensible à l'oxygène (O<sub>2</sub>), qui est rapidement inactivé dans un environnement aérobie. La nodosité lui confère une niche protectrice grâce à la présence d'une protéine végétale, la légghémoglobine qui permet sa liaison de manière réversible avec l'oxygène [296, 299].

### 3.2.2. Le nodule

Le nodule est un nouvel organe produit par la plante hôte au sein duquel les bactéries, différenciées en bactéroïdes, fixent l'azote atmosphérique. Pour permettre une activité optimale de la nitrogénase, les légghémoglobines s'accumulent à des concentrations millimolaires dans le cytoplasme des cellules végétales infectées avant la fixation de l'azote et tamponnent l'oxygène libre dans la gamme nanomolaire, évitant l'inactivation de la nitrogénase labile, tout en maintenant un flux d'oxygène élevé pour la respiration [299, 300]. La nodulation se fait en plusieurs étapes, dont les plus importantes sont la pré-infection, le développement du nodule et du cordon d'infection et la formation des bactéroïdes [280, 284] (Figure 1.3).

#### 3.2.2.1. Pré-infection

La symbiose résulte d'un processus complexe, faisant intervenir une première étape, au cours de laquelle les deux organismes échangent des signaux moléculaires de reconnaissance [278]. La plante produit via ses racines des composés (riches en flavonoïdes), qui sont perçus par les *Rhizobia* du sol. Ces composés vont déclencher la production bactérienne de signaux, facteurs de nodulation (*Nod*), qui sont à leur tour reconnus par les poils absorbants racinaires de la plante hôte, ce qui déclenche la formation d'un nouvel organe, le nodule, lieu de fixation de l'azote atmosphérique [284].

Les facteurs *Nod* sont les produits des gènes *Nod* des *Rhizobia*, qui assurent la structure de base spécifique de nature lipochitooligosaccharidique [284, 301]. Chaque espèce de *Rhizobium* produit une structure des facteurs *Nod* qui lui sont propres, déterminant sa spécificité d'hôte et son activité biologique. Un nombre restreint de *Rhizobium* est capable de noduler un nombre restreint de légumineuses, selon la structure du facteur *Nod* qu'il produit (longueur de la

chaîne lipidique, présence d'un groupement acétate et d'un groupement sulfate) [302]. Aucune souche rhizobienne ne peut former une symbiose avec toutes les légumineuses et inversement ; la spécificité existe tant au niveau des espèces qu'au niveau génotypique [303, 304, 305, 306].

### 3.2.2.2. Développement du nodule et du cordon d'infection

Les réponses cellulaires aux facteurs *Nod* sont les plus visibles, deux processus sont simultanément mis en place : le développement du nodule au niveau du cortex racinaire, et le développement d'un cordon d'infection depuis les poils absorbants jusqu'au nodule [280].

Les facteurs *Nod* sont perçus par les poils absorbants qui subissent une série de déformations avant de prendre la forme de crosse qui abrite les bactéries [307]. Au niveau de cette crosse se développe une structure en forme de tube, appelée cordon d'infection, qui progresse jusqu'au cortex interne de la racine. Simultanément à la mise en place de ce cordon, les cellules du cortex se divisent et forment un primordium nodulaire [280].

### 3.2.2.3. Formation des bactéroïde

Une fois toutes ces structures en place, les bactéries entrent dans la racine, cheminent le long du cordon d'infection jusqu'au niveau du primordium nodulaire, où elles sont enfermées dans une structure appelée symbiosome, au sein duquel les bactéries se différencient en bactéroïdes fixatrices d'azote [308, 280].

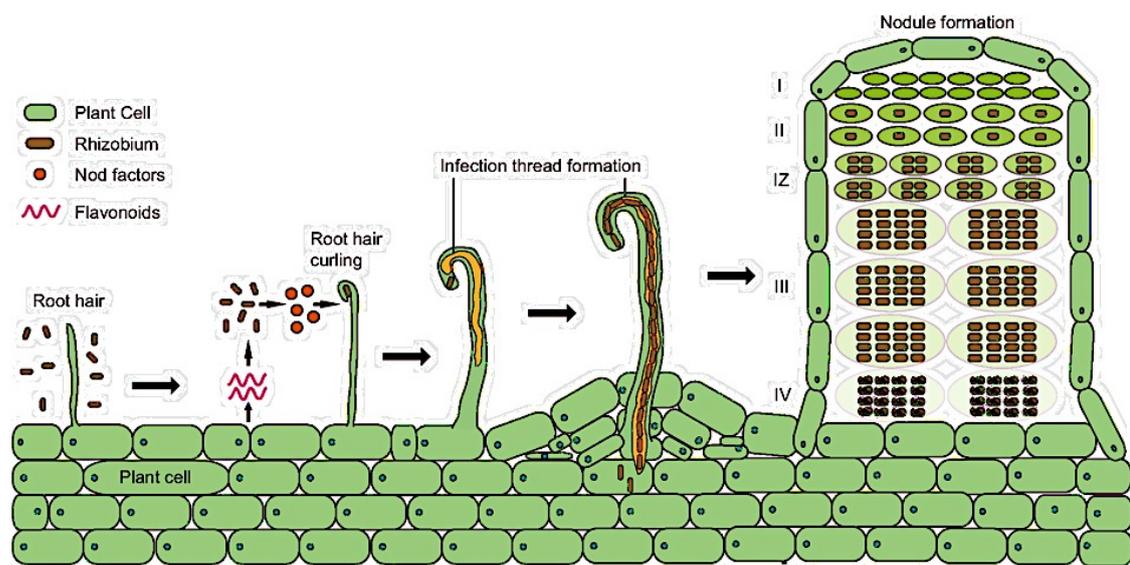


Figure I.3 : Différentes étapes de nodulation [280]

Des incompatibilités surviennent fréquemment aux dernières étapes du développement des nodules, de sorte que l'efficacité de la fixation de l'azote diffère de manière significative entre les différentes combinaisons plante-bactérie, et d'un environnement à l'autre [305, 309].

### **3.3. Facteurs intervenants dans la symbiose**

#### **3.3.1. Facteurs génétiques**

La spécificité symbiotique résulte de la modification des signaux existants entre l'hôte et la bactérie ; divers mécanismes de reconnaissance ont évolué au cours du processus de coadaptation. La connaissance des bases génétiques et moléculaires de la spécificité symbiotique est importante pour développer des outils de manipulation génétique de l'hôte ou de la bactérie afin d'améliorer l'efficacité de la fixation de l'azote [280].

##### **3.3.1.1. Spécificité due aux flavonoïdes**

Dans des conditions de carence en azote, les racines de légumineuses sécrètent des flavonoïdes dans la rhizosphère pour activer l'expression des gènes de nodulation bactérienne (*nod*), conduisant à la synthèse du facteur *Nod*, essentiel pour l'initiation du développement symbiotique de la plupart des légumineuses [280, 310].

L'induction de l'expression du gène *nod* est effectuée par les protéines *NodD* activées par les flavonoïdes [311]. Ces protéines sont adaptées à la reconnaissance de différents flavonoïdes sécrétés par différentes légumineuses, et cette spécificité de reconnaissance définit un point de contrôle précoce de la symbiose [312]. Il est bien établi que l'échange inter-souches de gènes *nodD* peut modifier la réponse de la souche receveuse à un ensemble différent d'inducteurs flavonoïdes et donc à la gamme d'hôtes [281, 313].

Les preuves de l'importance des flavonoïdes dans la détermination de la gamme d'hôtes proviennent principalement de la génétique bactérienne que des gènes de la plante. Étant donné que les racines de légumineuses sécrètent un mélange complexe de composés flavonoïdes, il est donc difficile de déterminer quels flavonoïdes jouent un rôle plus important, quand et où ils sont produits. Chez *Glycine max* et *Medicago truncatula*, il a été mis en évidence les principaux flavonoïdes nécessaires pour l'infection rhizobienne [314].

### 3.3.1.2. Perception du facteur nod

Les facteurs *Nod* produits par les *Rhizobia* sont une composante de signalisation essentielle au développement de la symbiose chez la plupart des légumineuses. Les gènes communs *nod* ABC contribuent à la synthèse du squelette de la chitine, tandis que d'autres gènes *nod* spécifiques à la souche agissent sur ce squelette en modifiant la taille et la saturation de la chaîne acyle, ou en ajoutant aux unités de sucre terminales des unités acétyle, méthyle, carbamoyle, groupes sulfuryle ou glycosyle. Les variations structurelles des facteurs *Nod* sont déterminantes de la gamme d'hôtes, pour leur reconnaissance par l'hôte et le déclenchement de l'infection et de la nodulation [281, 315].

De nombreux gènes nécessaires au développement des nodules sont déterminés [278], dont les gènes codant pour les récepteurs kinases transmembranaires de type LysM : LjNFR1 et LjNFR5 chez *L. japonicus*, et MtNFP, MtLYK3 et LYK4 chez *M. truncatula* [316, 317]. Après la perception, la signalisation du facteur nod continue via un récepteur kinase NBS-LRR, appelé LjSYMRK / MtDMI2 [308, 318]. La cascade de signalisation progresse ensuite via un certain nombre de gènes, y compris ceux codant pour les canaux d'ions potassiques potentiels, MtDMI1, LjCASTOR et LjPOLLUX [319, 320], les nucléoporines putatives, LjNUP133 et LjNUP85 [321, 322], une protéine kinase dépendante du calcium-calmoduline, MtCCaMK [323], un récepteur de cytokinine, LjLHK1 / MtCRE1 [324, , 325, 326, 327] et enfin des facteurs de transcription, dont MtNSP1, MtNSP2, MtERF et LjNIN [328, , 329, 330, 331]. Ces gènes sont tous nécessaires à la nodulation ; la perte d'un seul entraîne une réduction ou une absence totale de formation de nodules.

### 3.3.1.3. Perception d'exopolysaccharides rhizobiens

La production exopolysaccharides (EPS) est courante chez les bactéries rhizobiennes et leur composition varie considérablement [332]. Plusieurs études ont suggéré l'importance des structures EPS dans la détermination de la spécificité infectieuse [333, 334, 335, 336]. Les EPS se sont avérés nécessaires pour l'infection rhizobienne lors de multiples interactions symbiotiques. Cela a été mieux illustré dans la symbiose *Sinorhizobium-Medicago*, dans lequel le succinoglycane, l'un des principaux EPS produit par *S. meliloti*, s'est avéré nécessaire pour l'initiation et l'élongation des cordons d'infection, et une production accrue de succinoglycane augmente la capacité de nodulation [337, 338, 339, 340].

#### **3.3.1.4. Spécificité de la fixation de l'azote**

La spécificité symbiotique ne se limite pas aux premières étapes de la reconnaissance ; des combinaisons hôte/souche incompatibles peuvent entraîner la formation de nodules défectueux pour la fixation d'azote (*Fix-*). Par exemple, une symbiose *Medicago/ S. meliloti* a montré que 40% environ des combinaisons plante-souche produisaient des nodules qui ne fixaient pas l'azote [341]. Cela n'étant pas dû à un manque d'infection, mais à la dégradation des bactéroïdes après la différenciation [309].

#### **3.3.2. Facteurs environnementaux**

En plus d'être influencés par les facteurs génétiques, les *Rhizobia* sont très sensibles à certains éléments environnementaux tels que le type de sol, le changement climatique et les activités anthropiques [275].

##### **3.3.2.1. Sol**

Plusieurs études ont révélé que le sol avait un effet important sur la structure des communautés rhizosphériques [342, 343, 344]. Les différences et les similitudes observées dans plusieurs études pourraient être mieux comprises en considérant la structure microbienne de la rhizosphère comme émanant d'une cascade d'événements : Premièrement, le sol peut être considéré comme une banque de microorganismes [345]. Deuxièmement, les caractéristiques physico-chimiques du sol, associées à des activités biogéographiques, déterminent l'assemblage microbien de l'environnement du sol qui peut différer par sa structure, sa matière organique, son pH, sa texture et son état nutritionnel. Dans certains cas, les propriétés du sol peuvent conduire à une composition microbienne spécifique au type de sol [346], cela a été confirmé par Gelsomino et al. [347], qui ont démontré que les structures de la communauté bactérienne étaient semblables dans les sols de même type. Latour et al. [348] ont constaté que le type de sol influait sur l'abondance et la structure des certaines espèces bactériennes. Lu et al. [349] ont montré une fixation d'azote plus efficace avec une activité nodulaire nettement plus élevée par l'utilisation d'un substrat dépourvu de N (N<sup>-</sup> : pots remplis avec 250g de perlite), qu'un substrat riche en N (N<sup>+</sup> : sol de forêt).

Les propriétés et le type du sol peuvent déterminer les types de microorganismes qui colonisent la rhizosphère, et que différents types de sol peuvent contenir différentes espèces microbiennes [349].

### 3.3.2.2. Variations climatiques

Les variations climatiques ont différents effets sur les *Rhizobia*. L'augmentation des niveaux de dioxyde de carbone, un élément qui serait le principal facteur du changement climatique, pourrait affecter directement les interactions de la rhizosphère en modifiant les schémas d'exsudation des racines ainsi que la structure et le fonctionnement du réseau alimentaire du sol [350, 351]. De plus le changement climatique provoque fréquemment des stress abiotiques et il a été constaté que la diversité des *Rhizobium* est considérablement plus faible dans des environnements de sols secs. De même, la sécheresse n'affecte pas seulement la capacité des espèces de *Rhizobium* à fixer l'azote, mais également la croissance et le développement des légumineuses [275].

### 3.3.2.3. Activités anthropiques

Depuis le début de la révolution industrielle, les activités anthropiques dans les écosystèmes naturels se sont intensifiées, cela a mené à une augmentation de la pollution et à la dégradation des écosystèmes, ce qui a considérablement affecté les structures communautaires microbiennes du sol [275]. Il s'agit d'un problème grave, car les microorganismes sont les premiers concernés lors d'une perturbation de l'écosystème [352]. Cette dernière peut survenir à la suite de l'application de pesticides et d'engrais chimiques [353, 354].

Les pesticides n'affectent pas seulement la diversité microbienne, mais perturbent également les fonctions microbiennes (par exemple, la fixation d'azote) dans le sol. Celle-ci est déclenchée par une interaction symbiotique entre *Rhizobium* et les racines de légumineuses, or il semblerait que la présence de quantités sub-létales de certains pesticides dans le milieu de croissance entraînerai une diminution de la croissance des *Rhizobiaceae* [355].

## 4. COMMERCIALISATION DES PGPR

Actuellement, diverses formulations commerciales de PGPR sont en vente. Plusieurs formulations bactériologiques sont disponibles dans plusieurs pays afin de favoriser la croissance et la protection des plantes [356].

En 1897, un fertilisant bactériologique à base de *B. subtilis* a été commercialisé pour l'inoculation des céréales sous la dénomination commerciale Alinit par Bayer AG [357]. Au début des années 1950, les résultats des recherches menées en Chine, en Russie et dans plusieurs autres pays occidentaux ont également incité à l'utilisation des PGPR comme alternative aux produits

chimiques [20, 358, 359, 360]. Un produit commercial de *B. subtilis* a été introduit en 1985 par Gustafson, Inc. (Plano, Texas) aux États-Unis, les souches de *B. subtilis* A-13, GB03, GB07 ont été vendues sous les noms commerciaux de Quantum, Kodiak et Epic, respectivement [361]. Aux États-Unis, 60% à 75% des cultures de coton, d'arachide, de soja, de maïs, de légumes et de petites céréales sont désormais traitées avec des produits commerciaux de *B. subtilis* pour lutter contre les agents phytopathogènes telluriques [362]. Les PGPR ont été largement utilisées avec 48 cultures différentes dans plus de 3,35 millions d'ha en Chine [363], et la production a augmenté de 23% (patates douces) et de 22,5% (pommes de terre), avec des réductions de taux d'infection de 85,5% et de 80,3% causés par *Xanthomonas oryzae* et *Glomerella cingulata*, respectivement. Les produits commerciaux à base de PGPR utilisés pour lutter contre diverses maladies dans les cultures sont répertoriés dans le tableau I.3 [20].

Par rapport aux autres souches PGPR, les produits à base de *Bacillus* sont plus commercialisés, en raison de leur capacité à tolérer les conditions extrêmes telles que la température, le pH et l'exposition aux pesticides et aux engrais [360]. Dix-huit produits commerciaux d'origine *Bacillus* sont maintenant utilisés en Chine pour lutter contre les maladies d'origine tellurique, appliqués à une superficie de 20 millions d'hectares de différentes plantes cultivées [357, 364], 25 millions d'hectares de soja inoculés avec *B. japonicum* en Amérique du Sud et environ 500 000 hectares de blé et de maïs inoculés avec *Azospirillum* en Argentine et au Mexique [365]. Récemment, en Inde, l'utilisation de PGPR a considérablement augmenté en raison d'une plus grande sensibilisation à la lutte biologique. Aujourd'hui, plus de 40 parties prenantes de différentes provinces se sont inscrites pour la production en série de PGPR auprès du Central Insecticide Board (CIB) en collaboration avec l'Université Agronomique de Tamil Nadu, Coimbatore, Inde [366]. Le potentiel des PGPR en tant qu'agent phytobénéfique a encore été démontré à travers de nombreuses études réalisées en Inde [367], au Vietnam [368], en Amérique latine principalement l'Argentine et le Mexique [365, 369], et en Afrique [21, 370, 371, 372, 373].

Malgré les résultats prometteurs des études au laboratoire et en serre, les résultats sur terrain montrent un manque d'uniformité, les réponses varient d'un site à l'autre, d'une année à l'autre et pour les différentes cultures considérées. La raison de cette incohérence peut être attribuée au fait que les expériences au laboratoire et en serre sont conduites dans des conditions contrôlées ou semi-contrôlées, alors que les études sur terrain sont influencées par une multitude de

facteurs biotiques et abiotiques. L'hétérogénéité inhérente du sol est l'un des principaux obstacles, les bactéries introduites sont concurrencées par la microflore indigène qui souvent est mieux adaptée pour les nutriments et l'espace, et donc les PGPR inoculés ne peuvent pas résister à cette concurrence sévère, et par conséquent, peu de temps après leur introduction dans le sol, la population bactérienne diminue rapidement. Le nombre seuil de cellules essentiel pour obtenir une réponse positive attendue chez la plante est de  $10^6$ - $10^7$  cellules/plante pour *A. brasilense* et ce nombre varie selon les espèces [20, 374]. Ainsi, afin de démontrer leur impact phytobénéfique, ces PGPR doivent survivre et se multiplier dans des microhabitats associés à la surface des racines, en concurrence avec d'autres microbiotes, au moins le temps nécessaire pour exprimer leurs activités de promotion / protection des plantes [20].

Les facteurs qui déterminent le succès d'une inoculation sont (i) l'efficacité de la souche bactérienne introduite en termes de colonisation, (ii) la compatibilité avec la microflore indigène, (iii) l'espèce et la variété de la plante qui jouent aussi un facteur déterminant dans l'activité des microorganismes [375]. Il faut donc orienter davantage les recherches sur les PGPR vers la colonisation, leur écologie, leur survie et leur activité dans la rhizosphère des plantes. De plus, lorsqu'ils sont utilisés dans l'agriculture conventionnelle, les micro-organismes doivent également être compatibles avec les engrais chimiques et résister aux pesticides qui sont couramment utilisés sur les semences ou le feuillage. Par conséquent, une compréhension approfondie des mécanismes utilisés par le PGPR est impérative pour exploiter pleinement leur potentiel en agriculture, et l'avènement de nouvelles technologies garantit une meilleure compréhension de ces processus et facilitera ainsi leur application et leur réussite sur terrain [20].

## **5. FUSARIOSE VASCULAIRE DU POIS**

Les fusarioses vasculaires sont des maladies graves et fréquentes sur de nombreuses cultures agricoles d'une grande importance économique, telles que les légumineuses, les cucurbitacées, la tomate, la fraise et le coton [376, 377, 378]. *Fusarium oxysporum*, agent causal des fusarioses, est un champignon ubiquiste bien représenté au sein de la communauté microbienne tellurique, notamment dans la microflore rhizosphérique [11, 18, 379, 380, 381]. Cette espèce est l'un des agents pathogènes les plus importants du genre *Fusarium*, classée cinquième des dix agents phytopathogènes d'importance scientifique et économique [11, 382]. *Fusarium oxysporum* renferme plus de 150 formes spéciales, chacune d'elles peut être divisée en races qui provoquent des maladies

sur une gamme étroite de plantes hôtes [11, 27]. La forme spéciale *F. oxysporum* f. sp. *pisi* (Fop), cause le flétrissement vasculaire du pois (*Pisum sativum*) [377, 383]. Quatre races différentes sont identifiées chez Fop, nommées 1, 2, 5 et 6. Les races 1 et 2 sont largement répandues, alors que les races 5 et 6 sont particulièrement signalées à l'ouest de l'État de Washington [384].

À l'instar d'autres formes spéciales de *F. oxysporum*, Fop se comporte comme un agent pathogène classique transmis par le sol, avec des chlamydospores pouvant survivre dans le sol pendant de longues périodes en l'absence d'un hôte approprié [385].

Le cycle d'infection de *F. oxysporum* est initié par la germination des spores en réponse à des signaux spécifiques de la plante [386, 387]. Lors de la germination, les hyphes infectieux en croissance adhèrent aux racines de l'hôte et y pénètrent par des blessures ou en perçant l'épiderme [386, 388]. Le mycélium progresse de manière inter ou intracellulaire dans le cortex radiculaire jusqu'à ce qu'il atteigne les vaisseaux du xylème et les colonise à travers les fosses [389]. A ce stade, le champignon passe à un mode de colonisation endophyte de l'hôte, au cours duquel il progresse verticalement à travers les vaisseaux de xylème, pour envahir la plante [390], ainsi les symptômes caractéristiques de flétrissement apparaissent à la suite d'un stress hydrique grave, qui conduit finalement à la mort complète de la plante. Après la mort de la plante, le champignon atteint la surface de la plante où il produit des chlamydospores qui sont dispersées dans le sol pour un deuxième cycle d'infection [391].

**Tableau I.3 : Produits commerciaux à base de PGPR [20].**

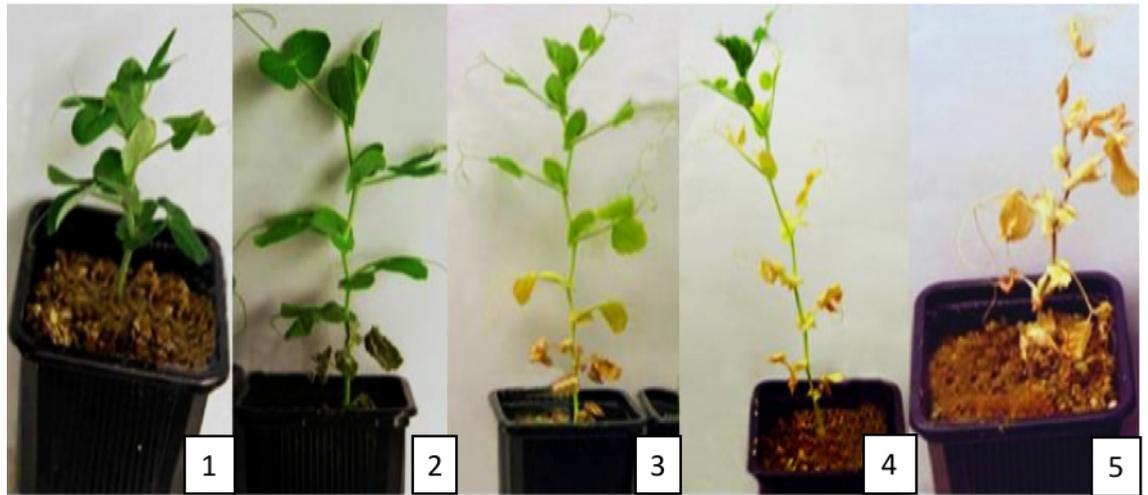
<b>PGPR</b>	<b>Nom Commercial</b>	<b>Culture</b>
<b><i>Agrobacterium radiobacter</i></b>	<b>Diegall, Galltrol-A, Nogall, Norbac 84C</b>	Fruits, noix, plantes et arbres ornementales
<b><i>Azospirillum brasilense</i></b>	<b>Azo-Green</b>	Gazon et cultures fourragères
<b><i>Bacillus cereus</i></b>	<b>Pixplus</b>	Coton
<b><i>Bacillus pumilus</i></b>	<b>Sonata ASO, Ballard</b>	Chênes et plantes ornementales
<b><i>Bacillus subtilis</i></b>	<b>Epic, HiStick N/T, Kodiak, Rhizo-Plus, Serenade, Subtilex, Quantum 4000, Rhapsody, System 3</b>	Orge, haricots, coton, arachide, pois, riz et soja
<b><i>B. subtilis</i></b>	<b>Companion</b>	Cultures horticoles et gazon
<b><i>B. subtilis</i> + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i></b>	<b>Bio Yield</b>	Tomate, concombre, poivron et tabac
<b><i>Burkholderia cepacia</i></b>	<b>Blue Circle, Deny, Intercept</b>	Luzerne, orge, haricots, coton, maïs, pois, sorgho et blé
<b><i>Pseudomonas auerofaciens</i></b>	<b>BioJect, Spot-less</b>	Gazon et autres cultures
<b><i>Pseudomonas sp.</i> + <i>Azospirillum</i></b>	<b>BioJect</b>	Gazon et autres cultures
<b><i>Pseudomonas chloroaphis</i></b>	<b>AtEze</b>	Plantes ornementales et Légumes
<b><i>P. chloroaphis</i></b>	<b>Cedomon</b>	Orge, avoine, blé et autres céréales
<b><i>Pseudomonas fluorescens</i></b>	<b>Blight Ban A506, Conquer, Victus</b>	Amande, pomme, cerise, pomme de terre
<b><i>Pseudomonas syringae</i></b>	<b>Bio-save 10, 11, 100, 110, 1000</b>	Fraises, tomates, agrumes et fruits à pépins
<b><i>Streptomyces griseoviridis K61</i></b>	<b>Pixplus</b>	Coton

## 5.1. Symptomatologie

Les plantes peuvent être attaquées par *F. oxysporum* f.sp. *pisi* à n'importe quel stade de leur développement, montrant divers symptômes dont les plus importants sont : le flétrissement et le brunissement du système vasculaire [392, 393]. L'infection débute par les racines et le collet, la plante cesse de croître puis meurt [28].

Les symptômes causés par les races 1, 5 et 6 de Fop entraînent un enroulement des feuilles et des stipules vers le bas, l'épaississement de l'entre-nœud basal ; les feuilles ainsi que les tiges deviennent plus fragiles. Ces symptômes sont accompagnés d'un jaunissement progressif suivi par la nécrose des feuilles de la base jusqu'au sommet de la plante. Par la suite, la fusariose se développe rapidement entraînant la mort de la plante (Figure 1.4). Bien que le système racinaire semble normal, les tissus vasculaires des racines et de la tige sont atteints et se décolorent en jaune-orangeâtre. Cette décoloration vasculaire s'étend souvent vers l'extérieur de la tige. Les plantes atteintes par la fusariose meurent plus rapidement par un temps sec que par un temps humide. Si l'infection se produit lorsque les plantes sont jeunes, celles-ci fanent et meurent souvent sans produire de gousses ; mais dans le cas où l'infection se fait lorsque les plantes sont matures, des gousses peu aplaties et non remplies peuvent se former [394, 395, 396].

Le flétrissement causé par la race 2 de Fop est aussi connu sous le nom de « near wilt » [32, 396]. Les symptômes provoqués par cette race sont similaires à ceux des autres races, avec un flétrissement unilatéral. L'infection peut également provoquer la pourriture du cortex secondaire des racines et des tiges. La décoloration vasculaire est généralement plus sévère que pour les autres races, allant de l'orange au rouge foncé [391, 395]. Cependant, les symptômes se produisent le plus souvent en fin de cycle, habituellement en temps de la floraison [28, 32, 396].



**Figure I.4 :** Evolution des symptômes de la fusariose vasculaire du pois (*Pisum sativum*) [28].

**1 :** Plante saine ; **2 :** Début de jaunissement, **3 :** Jaunissement de la plante ; **4 :** Début de flétrissement ; **5 :** Flétrissement et mort de la plante.

## **5.2. Interaction Plantes-*Fusarium oxysporum***

Les interactions entre les plantes et *Fusarium oxysporum* sont diverses, complexes et peuvent altérer la physiologie et la morphologie des deux partenaires. L'agent fongique se développe et détruit les tissus végétaux en inhibant ou désactivant les mécanismes de défense des plantes, tout en produisant des toxines spécifiques à l'hôte [397]. La pénétration dans la paroi cellulaire végétale est obtenue par l'action de plusieurs enzymes dégradant la paroi cellulaire, telles que les cellulases, les pectinases, les lipases et les xylanases [398, 399].

### **5.2.1. Enzymes de dégradation des parois cellulaires (CWDE)**

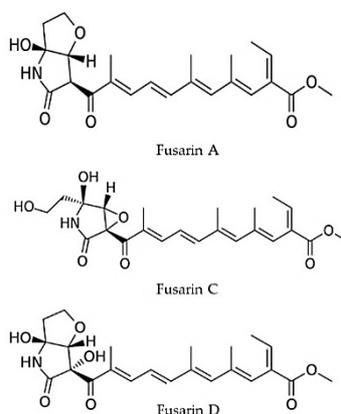
La mesure dans laquelle les CWDE contribuent au processus d'infection n'est pas encore entièrement comprise. Comme la plupart des champignons, *F. oxysporum* sécrète un éventail de CWDE, comme les polygalacturonases, les pectates-lyases, les xylanases et les protéases, pendant la pénétration des racines et la colonisation [390]. Bravo-Ruiz et al. [400], ont démontré que l'action combinée des exo-polygalacturonases et endo-polygalacturonases est essentielle dans l'infection des plantes par *Fusarium oxysporum*.

## 5.2.2. Mycotoxines

Les mycotoxines sont des produits chimiques toxiques produits par des espèces fongiques. Parmi les mycotoxines de *Fusarium oxysporum*, les plus concernées sont les Fusarines, les acides fusariques et les Moniliformins. Comprendre les voies de biosynthèse de ces mycotoxines est très important et peut avoir un grand impact sur la stratégie de biocontrôle [397].

### 5.2.2.1. Fusarines

Les fusarines sont des composés polycétides avec une 2-pyrrolidone substituée sur un chromophore polyénique [401]. Certains types, comme fusarine A, B, C et D (Figure I.5) ont été décrites depuis Wiebe et Bjeldanes [402] à Berkeley (Californie, États-Unis). Parmi les différents types, la fusarine C a été isolée et partiellement caractérisée et identifiée comme un mutagène pouvant inverser certaines souches auxotrophes en souches prototrophes [403]. La mutagénicité de la fusarine C est accréditée par la présence du cycle époxyde C13-14, alors que les fusarines A et D sont dépourvues de ce cycle et ne sont pas mutagènes [404].

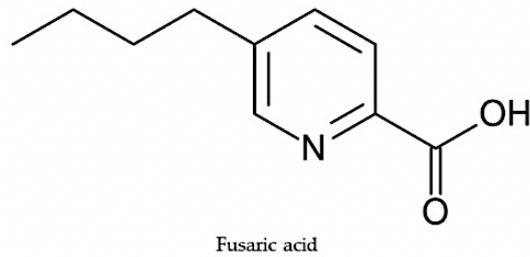


**Figure I.5 :** Structure chimique de la fusarine [397].

### 5.2.2.2. Acide fusarique

L'acide fusarique (AF) (Figure I.6), bien connu pour sa phytotoxicité, est l'une des premières phytotoxines signalées dans les symptômes de la fusariose vasculaire [405]. Il a été démontré que l'AF est capable d'induire à lui seul tous les symptômes de la fusariose vasculaire, et que la sévérité de la maladie est d'autant plus importante que la quantité de l'AF est élevée [406, 407]. La forte phytotoxicité induite par l'AF peut être réduite par l'apport exogène de cuivre, de fer et de zinc. L'application externe de l'AF réduit le niveau des pigments de chlorophylle et donc

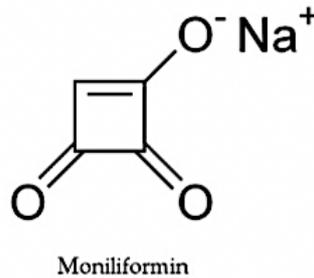
le taux de photosynthèse et du métabolisme cellulaire, provoquant ainsi une perturbation de la structure cellulaire qui entraîne le flétrissement [408].



**Figure I.6 :** Structure chimique de l'acide fusarique [397].

### 5.2.2.3. Moniliformins

Une autre mycotoxine produite par *Fusarium oxysporum* (Figure I.7), moniliformin a le potentiel d'inhiber la croissance des plantes en réduisant l'efficacité des pigments photosynthétiques [409], le développement des feuilles et également la biomasse végétale [410].



**Figure I.7 :** Structure chimique des moniliformins [397].

### 5.2.3. Réponse des défenses chez les plantes

Pendant l'invasion des racines et la colonisation, *F. oxysporum* est exposé à divers mécanismes de défense des plantes, tels que les barrières physiques et les composés antifongiques [390, 411]. Le composé antifongique  $\alpha$ -tomatine chez la tomate [412], est capable de former des complexes avec des stérols dans les membranes fongiques, provoquant ainsi des pores et des fuites du contenu cellulaire fongique [413, 414].

Lors des modifications chimiques de la paroi cellulaire végétale, les composés phénoliques solubles, liés à la paroi cellulaire, s'accumulent dans les

plantes suite à la colonisation fongique ou à des éliciteurs dérivés de champignons [415, 416, 417]. La plante présente une expression accrue des gènes de la voie phénylpropanoïde et une synthèse de la lignine, ce qui aide à épaissir la paroi cellulaire pour empêcher une nouvelle pénétration fongique [397]. Wu et *al.* [418, 419, 420] ont montré que les acides cinnamique, coumarique ou vanillique augmentaient la production de mycotoxines chez *F. oxysporum* (principalement l'acide fusarique) et l'activité des enzymes hydrolytiques, telles que la pectinase, la cellulose et l'amylase (uniquement en présence d'acides cinnamique et vanillique). En même temps, ces composés ont eu un effet inhibiteur sur la croissance et / ou la germination de *F. oxysporum*. Apparemment, les flavonoïdes et les composés phénoliques produits par les plantes peuvent avoir une fonction protectrice en réduisant la croissance fongique et donc la maladie, mais peuvent également avoir une fonction favorisant la maladie lorsque les niveaux de mycotoxines et les activités enzymatiques hydrolytiques augmentent excessivement [380]. Maier et *al.* [421] ont démontré que les souches fongiques productrices de la toxine désoxynivalénol (DON), empêchaient l'épaississement des parois des cellules hôtes ; par conséquent, il a été conclu que le DON facilite la propagation de l'infection [397].

### **5.3. Epidémiologie et lutte**

Fop peut survivre dans le sol durant plusieurs années [391]. Ce champignon peut être transmis d'un champ à l'autre de différentes façons, par le matériel agricole, le sol infecté, les plantes contaminées, l'eau, le vent et par l'homme. Il a été démontré que le facteur prédominant de la transmission de la fusariose reste les activités humaines [32, 422]. La transmission de la fusariose vasculaire du pois peut se faire aussi par les semences contaminées, en particulier dans le cas de la race 2 [32, 391].

Concernant les races 1, 5 et 6, le degré de pertes et de propagation de la maladie dépendent de la quantité d'inoculum, de la température ( $T^{\circ}$  optimale= 20-21°C), mais aussi des cultivars [32, 391]. Pour la race 2, elle provoque généralement la mort de 1- 3% des plantes dans les champs contaminés. Cependant dans des conditions idéales pour l'agent pathogène (Texture grossière du sol dont la température avoisine les 24°C), les pertes peuvent être plus importantes, et des champs entiers peuvent être détruits [32, 391, 395].

Parmi les méthodes de lutttes contre la fusariose vasculaire du pois (culturelle, génétique, chimique et biologique), celle qui reste performante à ce jour, lorsqu'elle est disponible, est l'utilisation des variétés résistantes [32, 378, 423]. Malheureusement cette méthode n'est pas toujours facile à obtenir en plus du développement de nouvelles races des agents pathogènes résistantes à l'hôte [378].

Pour compléter la résistance génétique, la rotation des cultures est une bonne pratique qui contribue à réduire les dégâts provoqués par l'agent pathogène. Cependant, la rotation de culture n'a que des effets minimes sur la réduction de la maladie, non seulement parce que les chlamydospores de Fop ont une durée de survie très longue, mais aussi parce que l'inoculum peut se multiplier sur les racines des plantes infectées et des plantes non-hôtes. Néanmoins, une rotation de cinq ans peut aider à prévenir la fusariose vasculaire du pois [396].

Face à une maladie vasculaire, l'utilisation de fongicides à action systémique est envisageable [424]. Cependant, la répartition des chlamydospores à des grandes profondeurs et sur de vastes étendus, ainsi que le coût élevé des opérations de lutte, font que toute tentative de traitement chimique est vouée à priori à l'échec. Le traitement chimique est considéré comme une solution de facilité, contrairement à la lutte biologique qui demande davantage de connaissance et d'observation, mais à long terme, elle est plus intéressante [425].

La lutte biologique vis-à-vis des champignons telluriques phytopathogènes, basée sur l'application des PGPR est considérée comme une méthode prometteuse. Un nombre important de biopesticides à base de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de *Rhizobium* ont déjà été commercialisés [208]. Avec un arsenal de métabolites secondaires, les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont désormais utilisées comme biopesticides [426], et sont commercialisés à l'échelle mondiale sous forme de bioinoculants [427, 428]. L'utilisation commerciale de bioformulations à base de *Pseudomonas* spp. est assez récente par rapport à l'utilisation des biofertilisants (*Rhizobiums*) ou de biopesticides (*Bacillus thuringiensis*) et n'a commencé que dans les années 1970 [429]. Mais bien que prometteurs, la part en pourcentage des produits de biocontrôle à base de microorganismes reste infime par rapport aux applications des intrants chimiques. L'utilisation de métabolites de PGPR pour la bioformulation est en plein développement. Il n'y a aucun doute sur leurs performances, cependant, le besoin

est de les utiliser de manière bien meilleure avec des bioproduits fiables. Cela peut être réalisé par une approche globale qui permet l'utilisation d'outils métabolomiques, moléculaires et bioinformatiques pour le développement les bioformulations futures [1].

# CHAPITRE II- MATERIEL ET METHODES

## 1- PRESENTATION DES EXPERIMENTATIONS

Le pathosystème *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop) / *Pisum sativum* / Rhizobactéries (*Rhizobia*, *Pseudomonas* spp.), au niveau de la rhizosphère, est soumis aux actions directes de nombreux facteurs, notamment le génotype végétal et les mécanismes déployés chez les microorganismes impliqués : que ce soit le pathogène (Fop) ou les antagonistes (rhizobactéries). En raison de la complexité d'une telle interaction, il devient difficile d'évaluer les paramètres recherchés ; donc nous avons adopté une démarche expérimentale, basée sur des approches *in vitro* et *in situ* pour, éventuellement, mieux corrélérer et mettre en évidence les effets de biocontrôle des *Rhizobiaceae* et des *Pseudomonas* vis à vis de la fusariose vasculaire du pois. En plus des observations portant sur les modifications phénotypiques symptomatologiques, traduisant l'expression des infections, nous avons recherché à évaluer la colonisation et les effets de la pathogénèse par voie histologique, biochimique et moléculaire. En somme, nous avons réalisé :

1. Essais *in vitro* pour étudier le potentiel de nos souches rhizobactériennes sur l'inhibition de la croissance mycélienne, de la germination conidienne et de l'élongation du tube germinatif de Fop.
2. Essais *in situ*, où le taux d'infection de la maladie (fusariose vasculaire du pois), sa sévérité et son évolution ont été évalués.
3. Quantification de Fop au niveau du collet (plants de pois) par PCR quantitative (qPCR).
4. Etude histologique, sur des plants de pois, en présence et en absence de Fop et/ou de rhizobactéries.
5. Détection et quantification, par HPLC, de métabolites secondaires chez des plants de pois, en présence et en absence de Fop et/ou de rhizobactéries.

## 2. ESSAIS D'ANTAGONISME

Les essais ont été réalisés au niveau du Laboratoire de Protection et de valorisation de Ressources Agro-Biologiques (Faculté SNV, Université Blida 1), durant les années 2016-2018. Il s'agit de mettre en évidence *in vitro* et *in situ* les potentialités phytoprotectrices et phytostimulantes de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de pois.

### 2.1. Souches bactériennes

Les expérimentations ont été réalisées avec des souches sélectionnées de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium leguminosarum* (Tableau II.1). Deux souches de *P. fluorescens* : BB10 et F21, ayant fait l'objet de nombreux travaux antérieurs, permettant leur sélection sur la base de leurs potentialités d'antagonisme et de phytostimulation [372, 373, 430]. Deux autres souches rhizobiennes sont également expérimentées pour leurs potentialités phytoprotectrice, phytostimulante et éventuellement symbiotique : *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv) et son mutant (MRlv), dont le gène nodulant a été supprimé.

La pureté des souches a été vérifiée, après plusieurs repiquages, sur le milieu B de King (KB) [431], pour *P. fluorescens* et sur YMA (Yeast Mannitol Agar) [432], pour *R. leguminosarum* bv. *viceae* (Annexe A). Les cultures bactériennes obtenues, après incubation de 24 à 48 heures à 25 °C, sont purifiées et conservées à 4°C.

**Tableau II.1** : Souches bactériennes

PGPR	Souche	Origine
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Pf BB10	Laboratoire de Protection et de valorisation de Ressources Agro-Biologiques de l'université de Blida 1 (LPVRAB).
	Pf F21	
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Rl. bv. <i>viceae</i> (Rlv)	Laboratoire de l'amélioration génétique des plantes contre les stress biotiques et abiotiques de l'institut de l'agriculture durable (IAS-CSIC, Cordoue, Espagne).
	Rl. bv. <i>viceae</i> (mutant) (MRlv)	

## 2.2. Souches fongiques

Dans les essais phytopathologiques, nous avons utilisé quatre souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, dont trois sont de la race 2 (R2F42, Arg1, Arg3) et une de la race 1 (R1) (Tableau II.2).

La purification de ces isolats fongiques a été réalisée après plusieurs repiquages, de disques mycéliens de chaque culture, en boîtes Pétri sur le milieu PDA (Potato-dextrose-Agar) [433] (Annexe A). L'incubation a été effectuée à 25°C pendant sept jours, pour s'assurer de la stabilité des caractères macromorphologiques.

**Tableau II.2 :** Isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (Fop)

Isolats de <i>Fop</i>	Races	Origine
Fop R1	Race 1	Institut de l'agriculture durable IAS-CSIC, Cordoue, Espagne
Fop R2F42	Race 2	
Fop Arg1	Race 2	Laboratoire de Protection et de valorisation de Ressources Agro-Biologiques (Université de Blida 1).
Fop Arg3	Race 2	

## 2.3. Matériel végétal

Les essais sont conduits avec trois génotypes de pois (*Pisum sativum* L): deux génotypes sélectionnés à l'établissement IAS-CSIC (Cordoue, Espagne) et un génotype cultivé localement en Algérie (Tableau II.3).

**Tableau II.3 :** Origine des trois génotypes de pois (*Pisum sativum*)

Code des génotypes	Origine
Jl 1412	Institut de l'agriculture durable (IAS-CSIC, Cordoue- Espagne)
P21	
Kelvedone Wonder Peas (KWP)	Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC, Sétif – Algérie)

## 2.4. Antagonisme *in vitro*

Les tests d'antagonisme *in vitro* ont été effectués avec *P. fluorescens* BB10 et F21 vis-à-vis des quatre isolats de Fop, agent causal de la fusariose vasculaire du pois (Tableau II.2). Ces tests concernent l'inhibition des activités de la croissance mycélienne, de la germination conidienne et de l'élongation du tube germinatif.

Nous avons également testé les potentialités antagonistes des deux souches de *Rhizobiums* face aux deux races de Fop (R1 et R2F42), par des tests d'inhibition de la croissance mycélienne.

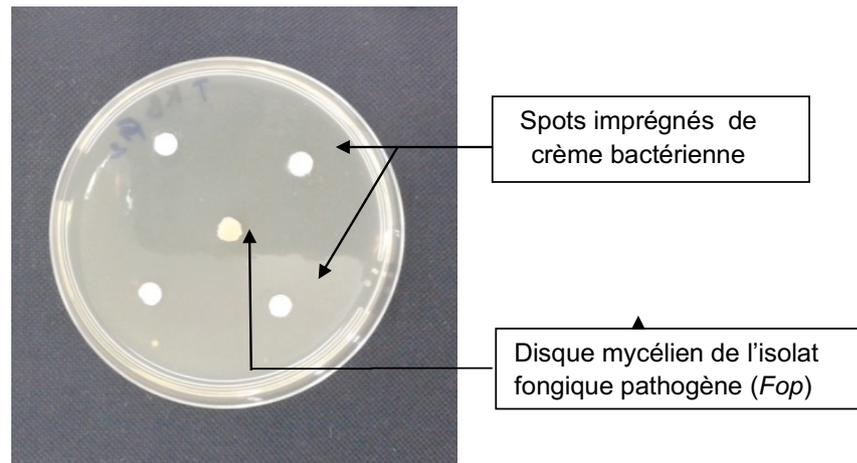
### 2.4.1. Inhibition de la croissance mycélienne

Pour la comparaison, nous avons utilisé les cultures fongiques seules. Les inhibitions de la croissance mycélienne ont été effectuées en trois répétitions sur cinq milieux gélosés :

- Les milieux favorables au développement des bactéries : KB (pour *Pseudomonas*) et YMA (pour *Rhizobium*),
- Le milieu PDA, favorable au développement de l'agent fongique.
- Les deux mixtures des milieux précédents : mixte 1 (50% KB + 50% PDA) pour l'interaction *P. fluorescens* - Fop, et mixte 2 (50% YMA + 50% PDA pour l'interaction *R. leguminosrum* bv. *viceae* - Fop).

L'évaluation de l'activité inhibitrice est testée selon la méthode des spots [433] (Figure II.1), qui consiste à mettre au centre de la boîte Pétri un disque gélosé de Fop ( $\phi$  0.5 cm), issu d'une culture de 7 jours sur milieu PDA. Quatre disques de papier filtre ( $\phi$  0.5 cm) stériles imbibés d'une suspension bactérienne d'une concentration de  $10^6$  CFU/ml ont été déposés sur la surface des milieux gélosés à la périphérie de la boîte Pétri contenant le milieu gélosé testé.

Après 7 jours d'incubation à 25 °C, les mensurations des diamètres de croissance de Fop ont été effectuées afin d'évaluer les effets de l'activité inhibitrices des PGPR testés.



**Figure II.1** : Essai d'antagonisme *in vitro* entre les souches bactériennes et *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*.

#### 2.4.2. Inhibition de la germination conidienne

L'inhibition de la germination conidienne des isolats fongiques de Fop (R1, R2F42, Arg1 et Arg3) a été testée par leur confrontation avec *P. fluorescens* (BB10 et F21). Pour ces essais, les milieux de cultures, utilisées précédemment, sont préparés à l'état liquide sans gélose (KB, PDB, mixte 1). L'évaluation des actions inhibitrices de la germination conidienne a été testée selon la méthode décrite par Fuches et Defago [434], qui consiste à mettre 1ml de suspension de la bactérie antagoniste ( $10^6$  CFU/ml), âgée de 24 heures dans le milieu liquide, 24 h avant l'introduction d'un volume identique de la suspension conidienne de Fop ( $5 \cdot 10^6$  conidies / ml). Les témoins sont préparés dans les mêmes conditions mais sans les souches bactériennes.

La germination des conidies a été observée au microscope optique (G: 10×40) après 6h, 12h et 24h, à la température ambiante (18 à 23 °C), sous agitation continue durant quatre jours (170 rpm). Trois échantillons par traitement ont été observés, en calculant le pourcentage de conidies germées, sur trois prélèvements indépendants. Pour chaque prélèvement, les observations portent sur trois champs, aléatoires, visionnés différemment. La germination est effective si la longueur du tube germinatif est au moins 2 fois supérieur à la longueur de la conidie. L'évaluation de l'inhibition de la germination conidienne est calculée selon le rapport établi entre la germination des conidies de Fop, ayant été confrontées aux souches bactériennes, et la germination moyenne des témoins incubés sans interaction avec les bactéries.

### 2.4.3. Inhibition de l'élongation du tube germinatif

Le but de cet essai est de vérifier le pouvoir inhibiteur des deux souches bactériennes BB10 et F21 sur l'élongation du tube germinatif de Fop. Après étalonnage du microscope optique (1 graduation sur lame micrométrique correspond à 9,58  $\mu\text{m}$ , G : 10 x 40), nous avons mesuré la longueur des tubes germinatifs des conidies germées, à raison de trois répétitions par traitement. Les taux d'inhibition sont calculés relativement aux témoins, sans bactéries, dans chaque milieu de culture.

## 2.5. Antagonisme *in situ*

Les PGPR, symbiotiques et non symbiotiques, stimulent la croissance des plantes et leur résistance aux stress, par le biais de divers mécanismes d'action (absorption d'éléments nutritifs, antibiose, compétition, ISR, ...etc), agissant directement et/ou indirectement. Avec ces essais d'antagonisme *in situ*, l'objectif étant d'évaluer les potentialités antagonistes de nos rhizobactéries vis-à-vis de la fusariose vasculaire du pois et de sa phytostimulation. Les essais ont été conduits en conditions semi-contrôlées, sous serre en verre, selon les combinaisons suivantes :

- *P. fluorescens* (BB10 ou F21) vis-à-vis de Fop (R1, R2F42, Arg1 ou Arg3), en interaction avec trois génotypes de pois (Tableau II.3) sélectionnés par le laboratoire Espagnol (Projet de coopération), suite à des études préliminaires visant à étudier le comportement d'une sélection de génotype de pois.
- *R. leguminosarum* bv. *viciae* (Rlv ou MRlv) vis-à-vis de R1 ou R2F42, en interaction avec les mêmes génotypes de pois.
- Application de la combinaison de deux souches rhizobactériennes (Pf F21 + Rlv) face à Fop R2F42, testée antérieurement comme la plus agressive, en interaction avec les trois génotypes de pois.

### 2.5.1. Désinfection des semences

Les graines de pois sont désinfectées par trempage dans l'hypochlorite de sodium (1%, 30 min), suivi de deux rinçages à l'eau distillée stérile durant 20 min chacun, puis séchées sur papier filtre stérile. Ces graines sont enveloppées dans du papier Whatman humide stérile en boîtes Pétri, couvertes avec du papier aluminium à l'abri de la lumière. Les boîtes sont placées à 4 °C (réfrigérateur) pendant quatre jours pour stratifier les graines et synchroniser leur germination,

avant leur incubation à 20 °C pendant deux jours. Les graines germées sont transférées dans des pots en plastique (50 cl) contenant 20 g de perlite.

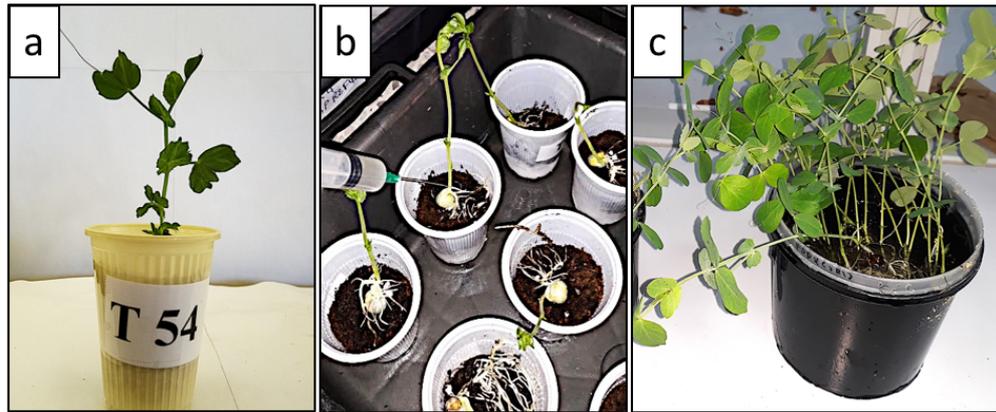
### **2.5.2. Préparation des inoculums microbiens**

L'inoculum bactérien est préparé avec une crème bactérienne, âgée de 24h, cultivée sur le milieu KB pour *P. fluorescens* et sur YMA pour *R. leguminosarum* bv. *viceae*. Les suspensions bactériennes sont préparées dans de l'eau distillée stérile, ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre (Shimadzu) à  $10^6$  CFU/ml (D.O  $\approx$  0,8). Dans chaque pot de perlite nous avons déposé un lit de tourbe (épaisseur de 1cm), arrosé avec 10 ml de cette suspension bactérienne,

Afin de préparer l'inoculum nécessaire à l'infection des plants de pois, les isolats de Fop (R1, R2F42, Arg1 et Arg3) ont été d'abord cultivés sur milieu PDA pendant sept jours à 25 °C. Les cultures obtenues sont raclées et mises sous agitation continue (170 rpm) dans le milieu PDB durant quatre jours. La concentration de chaque suspension conidienne a été ajustée à  $5 \times 10^6$  conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez, observée au microscope optique (G : 10  $\times$  40).

### **2.5.3. Inoculation des plantes**

Au stade deux à trois nœuds (Figure II.2.a), nous avons appliqué la bactérisation des plantules avec les suspensions bactériennes (BB10, F21, Rlv ou MRlv) 24h avant l'inoculation de chaque isolat de Fop (Figure II.2.b). L'inoculation fongique s'est effectuée par immersion des racines, coupées à 1/3 de leur volume, durant 5 min, selon la méthode « trimmed root dipping » (Figure II.2.c) [435]. Les plants témoins ont été maintenus sans bactérisation : les témoins négatifs (T-) sont inoculés uniquement avec de l'eau distillée stérile et les témoins positifs (T+) sont inoculés avec chaque suspension conidienne des quatre isolats de Fop.



**Figure II.2. :** Inoculation des plantes

a. Stade d'inoculation ; b. Inoculation bactérienne ; c. Inoculation fongique

#### 2.5.4. Dispositif expérimental

Les essais expérimentaux *in situ* ont été conduits selon un dispositif composé de deux blocs aléatoires complets. Chaque bloc renferme 66 traitements (T1 à T66) : Facteur 1 (22 inoculations) x Facteur 2 (3 géotypes de pois) Tableau II.4:

Les 22 inoculations (EDS, 4 souches fongiques, 4 souches bactériennes et 13 interactions bactéries-Fop) pour chaque géotype (JI1412, P21 ou KWP). Chaque traitement est représenté par 6 plants de pois, soit un total de 132 plants / bloc, c'est-à-dire 264 plants au total (Figure II.3 et Tableau II.4).



**Figure II.3. :** Dispositif expérimental

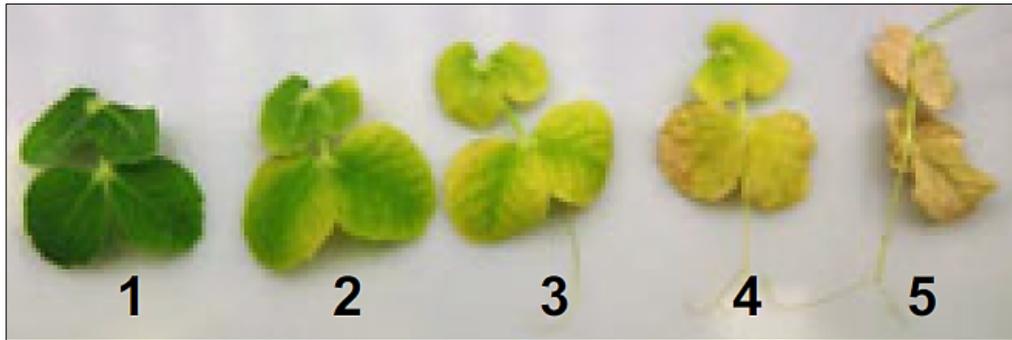
**Tableau II.4 : Traitements étudiés**

Inoculations	Génotypes			Inoculations	Génotypes		
	Jl1412	P21	KWP		2	P21	KWP
<b>EDS</b>	T1	T23	T45	<b>R1 X Rlv</b>	T12	T34	T56
<b>Fop R1</b>	T2	T24	T46	<b>R1 X MRlv</b>	T13	T35	T57
<b>Fop R2F42</b>	T3	T25	T47	<b>R2F42 X BB10</b>	T14	T36	T58
<b>Fop Arg1</b>	T4	T26	T48	<b>R2F42 X F21</b>	T15	T37	T59
<b>Fop Arg3</b>	T5	T27	T49	<b>R2F42 X Rlv</b>	T16	T38	T60
<b>BB10</b>	T6	T28	T50	<b>R2F42 X MRlv</b>	T17	T39	T61
<b>F21</b>	T7	T29	T51	<b>R2F42 X Rlv X F21</b>	T18	T40	T62
<b>Rlv</b>	T8	T30	T52	<b>Arg1 X BB10</b>	T19	T41	T63
<b>MRlv</b>	T9	T31	T53	<b>Arg1 X F21</b>	T20	T42	T64
<b>R1 X BB10</b>	T10	T32	T54	<b>Arg 3 X BB10</b>	T21	T43	T65
<b>R1 X F21</b>	T11	T33	T55	<b>Arg3 X F21</b>	T22	T44	T66

### 2.5.5. Paramètres étudiés

Concernant les activités d'antagonisme bactérien (biocontrôle), le suivi de l'apparition et de l'évolution de la fusariose vasculaire du pois, a été évalué selon trois paramètres : le taux d'infection (TI %), la sévérité (S) de la maladie et le calcul de l'AUDPC (Area Under the disease progress curve). Les effets de phytostimulation sont mesurés avec des pesées des biomasses fraîches et sèches des parties aériennes et souterraines des plants, ainsi que le dénombrement des nodules éventuellement formés sur les racines.

Le suivi de la fusariose vasculaire du pois commence dès l'apparition des premiers symptômes caractéristiques (7 jours après l'inoculation fongique), durant tous les trois jours jusqu'au jour 31. Les notations du développement de la maladie sont réalisées à l'aide de l'échelle symptomatologique, adaptée, à cinq degrés différentiels représentant les symptômes typiques de la fusariose vasculaire du pois (Figure II.4) [430, 436, 437, 438].



**Figure II.4** : Echelle de l'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de pois : (1) feuille verte saine ; (2) début de jaunissement de la feuille ; (3) jaunissement total de la feuille ; (4) début de flétrissement ; (5) flétrissement total et mort de la feuille [437] (Bani et al., 2012).

#### 2.5.5.1. Taux d'infection

Le taux d'infection (indice de la maladie), a été évalué au jour 31 après inoculation, en calculant le pourcentage des feuilles symptomatiques sur le nombre total des feuilles de chaque plant :

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

#### 2.5.5.2. Sévérité de la maladie (S)

La sévérité, exprime le degré de virulence atteint selon le stade d'observation, est calculé comme suit :

$$S = \frac{(1 \times f1) + (2 \times f2) + (3 \times f3) + (4 \times f4) + (5 \times f5)}{F}$$

Avec :

- 1, 2, 3, 4 et 5 : représentent le degré symptomatologique (Figure II.4)
- f1, f2, f3, f4 et f5 : nombre de feuilles atteintes, successivement, selon les degrés symptomatologiques (1 à 5)
- F : nombre total des feuilles

Pour s'assurer de la présence de symptômes internes, typiques de la fusariose vasculaire, des coupes longitudinales au niveau du collet ont été réalisées pour détecter le brunissement des vaisseaux conducteurs de xylème.

### 2.5.5.3. AUDPC

L'AUDPC (Area under the disease progress curve) (Teng et James, 2002), consiste à mesurer l'aire de progression de la maladie durant la période d'expérimentation, c'est à dire le temps de suivi et de déroulement de l'expérimentation.

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

Avec :

$x_i$  : sévérité de la maladie au temps  $i$

$x_{i+1}$  : sévérité de la maladie au temps  $i+1$

$t_{i+1} - t$  : nombre de jours entre  $i$  et  $i+1$

### 2.5.5.4. Biomasses fraîche et sèche

A la fin de l'expérimentation (31 jours), les poids frais et secs des racines et de la partie aérienne des plantes ont été mesurés, sur des plants coupés au niveau du collet. Les poids frais de la partie aérienne (tige + feuilles), et de la partie souterraine (racines) ont été déterminés immédiatement après les coupes. Les matières sèches, des biomasses aérienne et racinaire, sont pesées après étuvage (65°C) jusqu'à ce que le poids final se stabilise (48h).

### 2.5.5.5. Dénombrement des nodules

Afin de déterminer l'action de la fusariose vasculaire, s'il y a nodulation, un dénombrement des nodules est effectué sur les racines des plants bactérisés, avec les souches *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv).

### 2.5.6. Analyse statistique

Chaque paramètre (Taux d'infection, sévérité de la maladie, AUDPC et biomasses) a été exprimé en moyenne  $\pm$  Ecart type, et analysé statistiquement en utilisant le test ANOVA (Analyse de la variance), à l'aide du logiciel SPSS (version 25.0). Dans les traitements où les différences sont significatives, les moyennes ont été comparées par le test de Tukey, selon la plus petite différence significative (ppds) au risque d'erreur de 5 % ( $P < 0,05$ ).

Une analyse de corrélation (test de Pearson), entre les taux d'infection et les sévérités de la maladie, a été réalisée avec le même logiciel.

### 3. DETECTION ET QUANTIFICATION DE LA MALADIE

Certes les expressions symptomatologiques sont une étape indispensable pour les observations et le suivi de la maladie (fusariose vasculaire du pois), néanmoins les techniques de détection et de quantification des agents microbiens (bactéries et champignon) peuvent donner plus de certitude scientifique à nos expérimentations. A cet effet, nous avons réalisé au niveau du laboratoire de l'amélioration génétique des plantes (IAS-CSIC, Cordoue -Espagne) des analyses portant sur :

1. Quantification de Fop au niveau du collet des plants de pois infectés (bactérisés et non bactérisés).
2. Amplification du gène *nod* de la souche *Rhizobium* Rlv.
3. Comportement histologique chez des plants de pois bactérisés (en présence et en absence de Fop).
4. Détection et quantification des métabolites secondaires.

#### 3.1. Quantification de Fop

L'objectif de ces tests est de déterminer l'effet de la bactérisation sur la progression et la densité de Fop au niveau du collet des plants infectés. Ainsi, après 7 jours de l'inoculation, nous avons recherché le pathogène Fop, à travers la quantification de son ADN, en présence et en absence de *Pseudomonas fluorescens*.

##### 3.1.1. Bactérisation et inoculation des plants tests

La souche PGPR utilisée dans cette expérimentation face à Fop R2F42, est *Pseudomonas fluorescens* C7R12, isolée en France de la rhizosphère du lin (*Linum usitatissimum*). Cette souche se caractérise par sa grande aptitude de biocontrôle et a fait l'objet de nombreux travaux expérimentaux [166, 439, 440, 441]. Le génotype de pois « Alexandra » est considéré parmi les plus cultivés. Les opérations de bactérisation et d'inoculation du pathogène ont été effectuées, selon les procédures appliquées précédemment (cf. : 2.5.3), en trois répétitions, avec ces traitements :

- **EDS** : plants inoculés uniquement avec de l'eau distillée stérile.
- **C7R12** : plants inoculés uniquement avec la souche bactérienne PGPR.
- **FopR2F42** : plants inoculés avec la suspension conidienne de la souche Fop.

- **FopR2F42 X C7R12** : plants correspondant à l'interaction agent pathogène-PGPR.

Le taux d'infection et la sévérité de la maladie ont été évalués (**cf. : 2.5.5.1 et 2.5.5.2**), afin de mettre en relation l'expression symptomatologique avec la quantité d'ADN de FopR2F42, éventuellement présent, au niveau du collet des plants de pois testés.

### **3.1.2. Extraction de l'ADN fongique**

La procédure d'extraction d'ADN a été adoptée, avec quelques modifications, à partir de la méthode de Raeder et Broda [442]. Les collets des plants, selon les traitements étudiés, ont été broyés en une poudre fine sous azote liquide avec un mortier et un pilon stériles. 1 ml du tampon d'extraction CTAB [100ml H<sub>2</sub>O + 1,21 Tris-HCl (pH 8,0) + 0,744g EDTA + 8,18g NaCl + 2g CTAB] est additionné à 200mg de la poudre obtenue, et homogénéisés dans des tubes (5 min à vitesse maximale du vortex). 4µl de β-mercaptoéthanol ont été ajoutés, suivi d'1ml de chloroforme-octanol (24 :1, v/v). Les mélanges obtenus sont passés au vortex (15 s), puis incubés, consécutivement, à 65 °C (30 min) et à 21 °C (15 min), avant leur centrifugation à 21 °C (5 min, 7000 g). Les surnageants ont été récupérés dans des Eppendorf, remplis avec de l'éthanol (100%) et incubés à - 80 °C pendant 30 min. Les tubes ont été centrifugés à 21 °C (5 min, 13000 g). Après élimination des surnageants, les culots sont récupérés, auxquels 1ml d'éthanol (70-74%) a été ajouté, avant de subir une autre centrifugation à 21 °C (10 min, 10000 g). Les surnageants ont été éliminés, et chaque culot a été séché au speedvac durant 2h. Les culots ont été resuspendus dans 50 µl d'H<sub>2</sub>O extra-pure + 4ul d'ARNase A, puis incubés à 37°C pendant 1h. Avant de procéder à la qPCR. Afin de contrôler la pureté de l'ADN, 1 µl de chaque échantillon a été séparé par électrophorèse sur gel d'agarose (0,7%), en parallèle tous les échantillons ont été dilués à 10 ng/µl et ont été quantifiés trois fois à l'aide d'un Nanodrop.

### **3.1.3. Réactions qPCR**

Les réactions qPCR ont été réalisées dans un système de détection PCR en temps réel Applied Biosystems StepOne™ (système StepOne™). La réaction PCR (10 µl de Meastermix, 0,4 µl de chaque amorce FOR1/FOF1, 4 µl d'ADN, et 5,2µl H<sub>2</sub>O extra-pure) est soumise à 40 cycles (95 °C, 2 min ; 65 °C, 30 sec ; 72 °C, 30 sec ; et 79 °C, 10 sec ; 95 °C, 1 min). Après le cycle d'amplification final, une courbe de fusion a été réalisée en mesurant la fluorescence en continu, lors du chauffage progressif de 60 °C à 95 °C à la vitesse de 0,5 °C par seconde.

Pour quantifier l'ADN, une grille de 48 puits a été utilisée (**Tableau II.5**), où l'ADN référence de Fop R2F42 a été soumis à la qPCR à différentes concentrations (10 ng/μl, 1 ng/μl, 0,1 ng/μl, 0,01 ng/μl et 0,001 ng/μl). Deux autres concentrations d'ADN de *Pisum sativum* (génotype messire) (1ng/μl et 0,01 ng/μl) ont été rajoutées à la grille pour s'assurer que les tissus végétaux n'interfèrent pas dans les résultats de la qPCR. Les valeurs de quantification ont été automatiquement déterminées par le logiciel du système optique StepOne™ (Software v2.1) et les valeurs du cycle de seuil Ct (Threshold Cycle) ont ainsi été obtenues. La courbe standard est un tracé de la concentration d'ADN (Ct) en fonction du logarithme log(ADN).

Dans toutes les expériences, des témoins négatifs appropriés ne contenant pas de matrice ont été soumis à la même procédure, pour exclure ou détecter une éventuelle contamination d'ADN.

**Tableau II.5.** : Grille de qPCR

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0	0	0	EDS1	EDS1	EDS2	EDS2	EDS3
B	EDS3	Fop1	Fop1	Fop2	Fop2	Fop3	Fop3	FopC7R12-1
C	Fop - C7R12-1	FopC7R12-2	FopC7R12-2	FopC7R12-3	FopC7R12-3	C7R12-1	C7R12-1	C7R12-2
D	C7R12-2	C7R12-3	C7R12-3	Messire (4ng/μl)	Messire (4ng/μl)	Messire (0,04ng/μl)	Messire (0,04ng/μl)	ADN Fop (40ng/μl)
E	ADN Fop (40ng/μl)	ADN Fop (40ng/μl)	ADN Fop (4ng/μl)	ADN Fop (4ng/μl)	ADN Fop (4ng/μl)	ADN Fop (0,4ng/μl)	ADN Fop (0,4ng/μl)	ADN Fop (0,4ng/μl)
F	ADN Fop (0,04ng/μl)	ADN Fop (0,04ng/μl)	ADN Fop (0,04ng/μl)	ADN Fop (0,004ng/μl)	ADN Fop (0,004ng/μl)	ADN Fop (0,004ng/μl)	/	/

Lignes (1 à 8) et colonnes (A à F) correspondent aux dépôts de la plaque qPCR

### 3.1.4. Analyse statistique

Chaque paramètre (Taux d'infection, sévérité de la maladie, quantification ADN de Fop R2F42) a été exprimé en moyenne ± Ecart type, et analysé statistiquement par le test ANOVA (Analyse de la variance), à l'aide du logiciel SPSS (version 25.0). Pour les traitements dont les différences sont significatives, les moyennes ont été comparées par le test de Tukey, selon la plus petite différence significative (ppds) au risque d'erreur de 5 % (P < 0,05).

## 3.2. Amplification des gènes *nod*

L'amplification des gènes *nod*, chez la souche *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv) (Tableau II.1), a été réalisée, avec comparaison au profil génétique de la souche de référence *R.*

*leguminosarum* bv. *viceae* 384. Ainsi, la comparaison des principales séquences génétiques, codant pour le processus de nodulation, sont analysées par PCR (Polymérase Chain Reaction).

L'extraction des ADN génomiques de la souche rhizobienne s'est effectuée suivant le protocole (cf. : **3.1.2**) rapporté par Reader et Broda [442].

L'amplification par PCR a été réalisée avec quatre amorces spécifiques :

- Rvsym1F : 5'-CCCCAAGGCCTGCTTTTATG-3'
- Rvsym1R : 5'-CATCAACCTCAGCCAACCCGC-3'
- Rvsym2F : 5'-TGGGCGACGAAACAACCTT-3'
- Rvsym2R : 5'-ATCGTTAAGCAGCATTTCATCAC-3'

Rvsym1F/Rvsym1R correspondant à la région *Nod L* → *Nod D*

Rvsym2F/Rvsym2R correspondant à la région *Nod A* → *Nod J*

Chaque mélange réactionnel de 20 µl contient 50 ng d'ADN, ADN polymérase BioTaq (BIOLINE), tampon PCR, 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de dNTP et 15 µM de chaque amorce, est soumis à une amplification de 30 cycles (95 °C, 30 sec ; 54 °C, 30 sec ; 72 °C, 5 min) suivi d'une étape finale à 72 °C pendant 10 min).

Après l'amplification, la visualisation des ADN est réalisée par électrophorèse sur gel d'agarose (0,7g d'agarose dans 100ml de Tris-acétate "TAE"), la tailles des fragments du gène *nod* de notre souche Rlv est comparée à celle de la souche de référence.

### **3.3. Détection des métabolites secondaires**

Cette expérimentation a été réalisée en deux parties : la première, effectuée en 2016, visait à déterminer le comportement histologique de deux génotypes de pois (Jl1213 et Messire) infectés avec Fop R2F42 en présence et en absence de *Pseudomonas fluorescens*. La seconde partie, réalisée en 2019, pour la détection et la quantification des métabolites secondaires par des analyses HPLC (High Performance liquid chromatography) chez le génotype de pois (Alexandra) bactérisé (en présence et en absence de Fop).

A la fin de cette expérimentation, un essai *in vitro* a été effectué, afin de déterminer l'effet de certains composés phénoliques sur le pathogène Fop R2F42.

### 3.3.1. Détection histologique

Au préalable, nous avons sélectionné deux génotypes de pois avec des comportements variables vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop) : (JI1213) est sensible alors que (Messire) est partiellement résistant. Les inoculations ont été réalisées avec Fop R2F42, en présence et en absence des deux souches de *Pseudomonas fluorescens* (B32 ou B9) (Tableau II.6).

Nous avons expérimenté 10 traitements au total, soit cinq traitements par génotype, en trois répétitions (Tableau II.6) :

- Traitements bactérisés uniquement, selon les souches : T2, T3, T7 et T8 ;
- Traitements inoculés avec le pathogène uniquement Fop R2F42 : T1 et T6 ;
- Traitements des interactions pathogène-bactéries : T4, T5, T9 et T10.

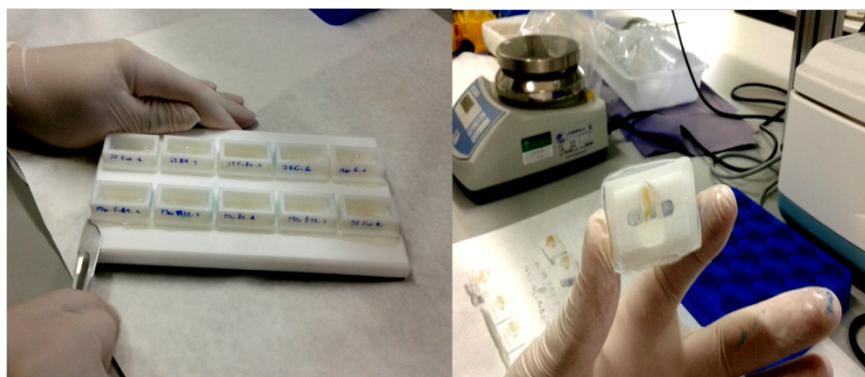
**Tableau II.6:** Traitements étudiés

Interactions :	Fop R2F42	Pf B32	Pf B9	Fop R2F42- Pf B32	Fop R2F42- Pf B9
<b>Génotypes de pois</b>					
<b>Messire</b>	T1	T2	T3	T4	T5
<b>JI1213</b>	T6	T7	T8	T9	T10

La visualisation du comportement histologique a été réalisée selon les étapes suivantes :

- **Fixation** : de longs fragments de racines, de chaque traitement, ont été fixés avec une solution de Karnovsky (5% glutaraldéhyde + 4% de formaldéhyde dans 0,025 M de tampon cacodylate + 0,5 mg CaCl<sub>2</sub>), durant quatre heures à température ambiante. Puis les échantillons ont été lavés trois fois avec 0.025 M de tampon cacodylate pendant 20 min chacun, avant d'être déshydratés dans une série de concentration croissante éthanol - eau (50%, 80%, 95% pendant 12h chacun).

- **Infiltration** : Les échantillons ont été transférés dans une solution 1 :1 éthanol – solution d'imprégnation (résine de base Leica Historessin + activateur de résine de base Leica Historessin) durant 12h, puis dans la solution d'imprégnation pure durant au moins quatre heures à température de 4 à 10 °C.
- **Inclusion** : les fragments racinaires ont été mis dans une solution de 15ml de solution d'imprégnation pure à laquelle on ajoute 1 ml de solidificateur Leica Historessin durant 24h (Pérez-De-Luque et *al.*, 2007), formant ainsi des blocs (Figure II.5).
- **Coupes** : elles ont été réalisées à l'aide d'un microtome rotatif semi-automatique, fixées sur lame en verre à l'aide de FAA (Formalin-Acide acétique-Ethanol), et colorées avec 0.1 % de Toluidine blue (TBO) pendant 5 min, suivi de deux rinçages à l'eau, puis séchées.
- **Observations** : les coupes sont observées au microscope (G : 10X40 et 10X100) (Leica DMLB, Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Wetzlar, Germany), et photographiées avec un appareil numérique (Nikon DXM1200F; Japan) [443] (Pérez-De-Luque et *al.*, 2007).



**Figure II.5** : Blocs de résine

### 3.3.2. Recherche des métabolites secondaires

Dans cette expérimentation, le but est la mise en relation du comportement des plants de pois (taux d'infection, sévérité de la maladie, biomasses fraîche et sèche) avec la quantification des métabolites secondaires, selon les traitements étudiés (EDS, Fop R2F42, C7R12, et FopR2F42 X C7R12).

#### 3.3.2.1. Extraction des substances organiques

Selon la méthode de Treki et *al.* [444], les racines de chaque traitement ont été broyées en poudre fine, sous azote liquide, avec un mortier et un pilon stériles,

et mises dans des tubes. 20 ml de la solution [50% méthanol et 0,5% NaCl] a été ajouté à chaque échantillon, puis mis sous-agitation durant 12h. Le surnageant a été récupéré dans une ampoule à décanter auquel est ajouté approximativement le double de son volume en Ethyle-Acétate (Figure II.6 a). Après agitation manuelle de l'ampoule, deux phases sont formées : La phase apolaire (phase d'au-dessus) a été récupérée, et le quart du volume précédemment utilisé en Ethyle-Acétate a été ajouté à la phase aqueuse (phase d'au-dessous). Ces dernières sont ainsi récupérées trois fois par utilisation de l'ampoule à décanter, auxquelles est ajouté par la suite 5g du sodium sulfate afin d'éliminer toutes traces d'H<sub>2</sub>O restantes. Les phases apolaires sont filtrées par utilisation d'un cheese-cloth. L'extrait obtenu est concentré à l'aide d'un Rotavapeur à 30 °C durant 45min, puis dilué à 10 mg/ml dans du méthanol et analysé par HPLC.

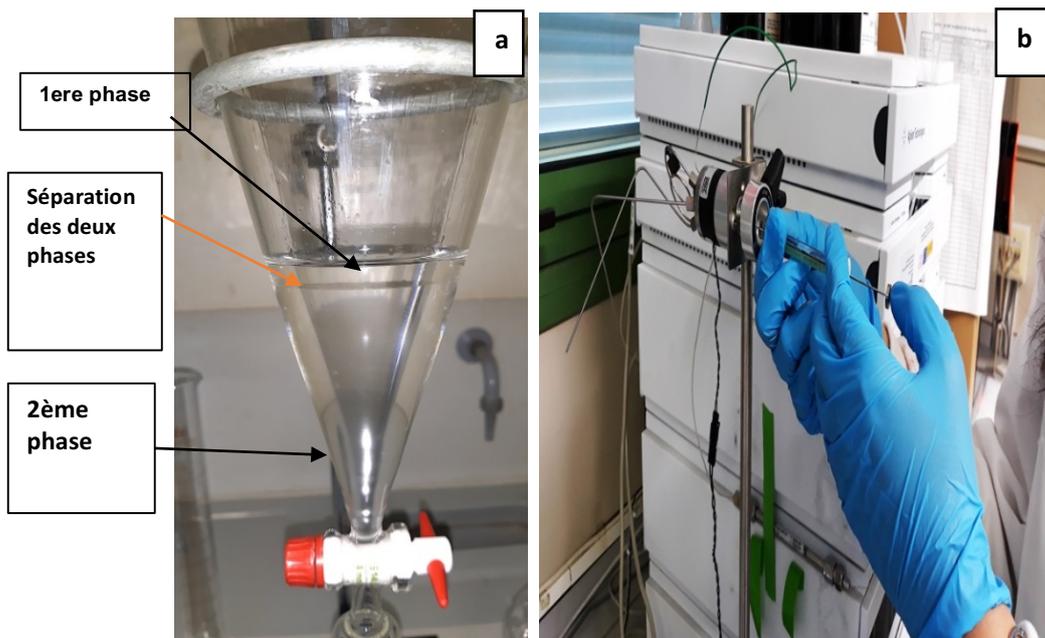
### **3.3.2.2. Quantification des métabolites secondaires**

La teneur en métabolites secondaires, dans les extraits organiques obtenus, a été quantifiée selon la méthode de Preisig et *al.* [445], par HPLC (Agilent série 1200) équipée d'un détecteur à barrette de photodiodes (309 nm). Les extraits organiques dissous dans le méthanol ont été séparés sur une colonne (Agilent Eclipse XDB-C18) avec une phase mobile d'Acétonitrile : Eau (46 :54, v/v). Chaque échantillon (20 µl) a été injecté trois fois dans la colonne d'HPLC (Figure II.6 b). La détermination quantitative des métabolites secondaires a été calculée en interpolant la zone des pics chromatographiques avec les données des courbes d'étalonnage.

### **3.3.3. Effets des composés phénoliques sur Fop**

Afin de déterminer l'influence directe d'éventuels composés phénoliques sur la croissance mycélienne de Fop R2F42, des mixtures contenant le milieu minimum Puhalla (MMP) [446] (Annexe A) et des solutions étalons (acide caféique, vanilline, p-coumarique et d'hydrocinnamique) ont été préparés en deux concentrations (100 et 50 µM). Comme témoins, les milieux MMP seuls ont été utilisés.

Un disque gélosé de Fop R2F42 ( $\phi$  0.5 cm) issu d'une culture de 5 jours sur milieu PDA, a été mis au centre de chaque boîte Pétri. Après 7 jours d'incubation à 25 °C, les taux d'inhibition ont été calculés, relativement à la croissance mycélienne maximale enregistrée chez les témoins. Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque traitement.



**Figure II.6. :** Extraction des métabolites secondaires

- a. Séparation des deux phases dans l'ampoule à décanter
- b. Injection des échantillons dans l'HPLC

#### **3.3.4. Analyse statistique**

Chaque paramètre étudié (quantité de métabolites secondaires et les taux d'inhibition de la croissance mycélienne de Fop R2F42 par les composés phénoliques) a été exprimé en moyenne  $\pm$  Erreur Standard, et analysé statistiquement par le test ANOVA (Analyse de la variance), à l'aide du logiciel SPSS (version 25.0). Pour les traitements où les différences sont significatives, les moyennes ont été comparées par le test de Tukey, selon la plus petite différence significative (ppds) au risque d'erreur de 5 % ( $P < 0,05$ ).

# CHAPITRE III- RESULTATS ET DISCUSSIONS

## 1. ESSAIS D'ANTAGONISME

### 1.1. Antagonisme *in vitro*

Les tests d'antagonisme *in vitro* montrent que les quatre souches rhizobactériennes (Pf BB10, Pf F21, Rlv et Mutant Rlv), exercent des effets antagonistes vis-à-vis des quatre souches de Fop (Fop R1, Fop R2F42, Fop Arg1 et Fop Arg3), avec des intensités et des degrés variables. Les variations observées dépendent des potentialités des souches antagonistes appliquées, mais aussi certainement des milieux de culture où les interactions ont été effectuées (KB ou YMA, PD, et milieu KB+PD ou milieu YMA+PD).

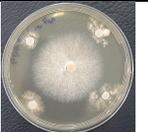
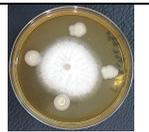
#### 1.1.1. Inhibition de la croissance mycélienne

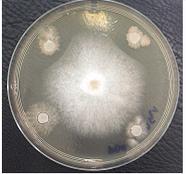
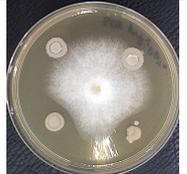
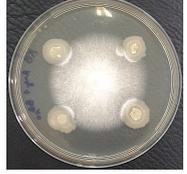
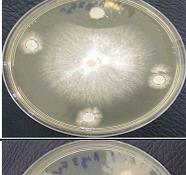
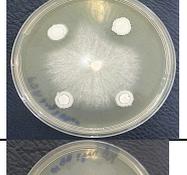
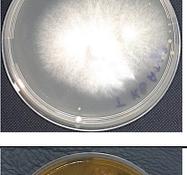
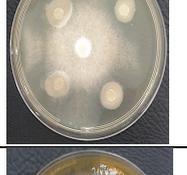
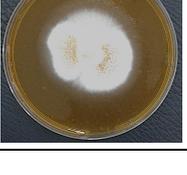
Même à des taux variables, les souches bactériennes ont montré des effets antagonistes vis-à-vis des souches fongiques de Fop sur les cinq milieux de culture (KB ou YMA, PDA, mixte1, mixte2). Cette inhibition est détectable durant les 72h d'observation, par la formation de zones d'inhibition (spots) selon la méthode expérimentée (Figure II.1).

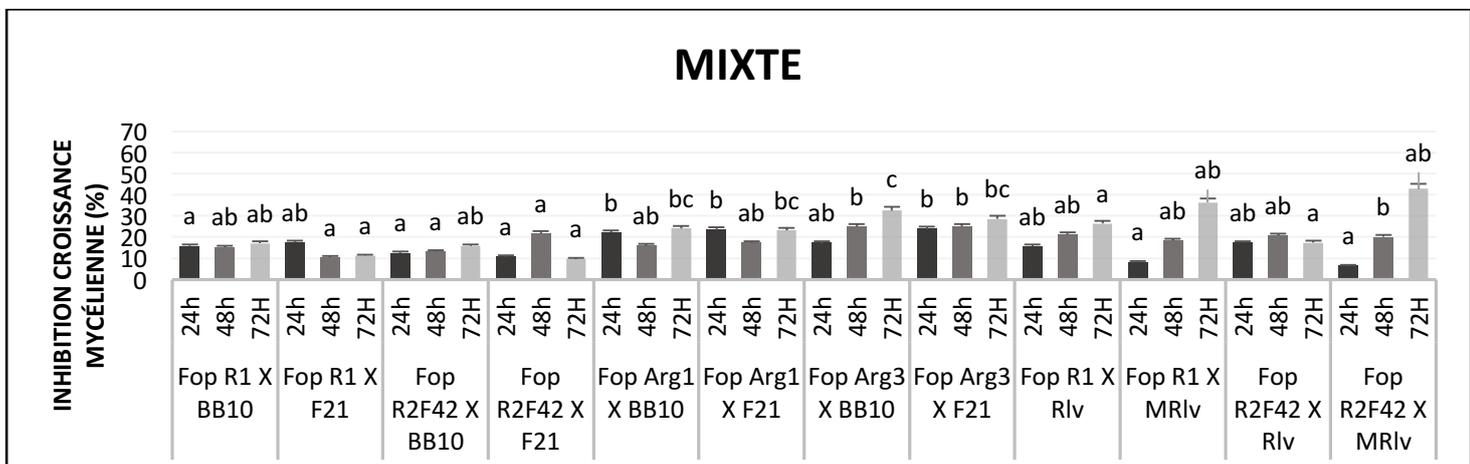
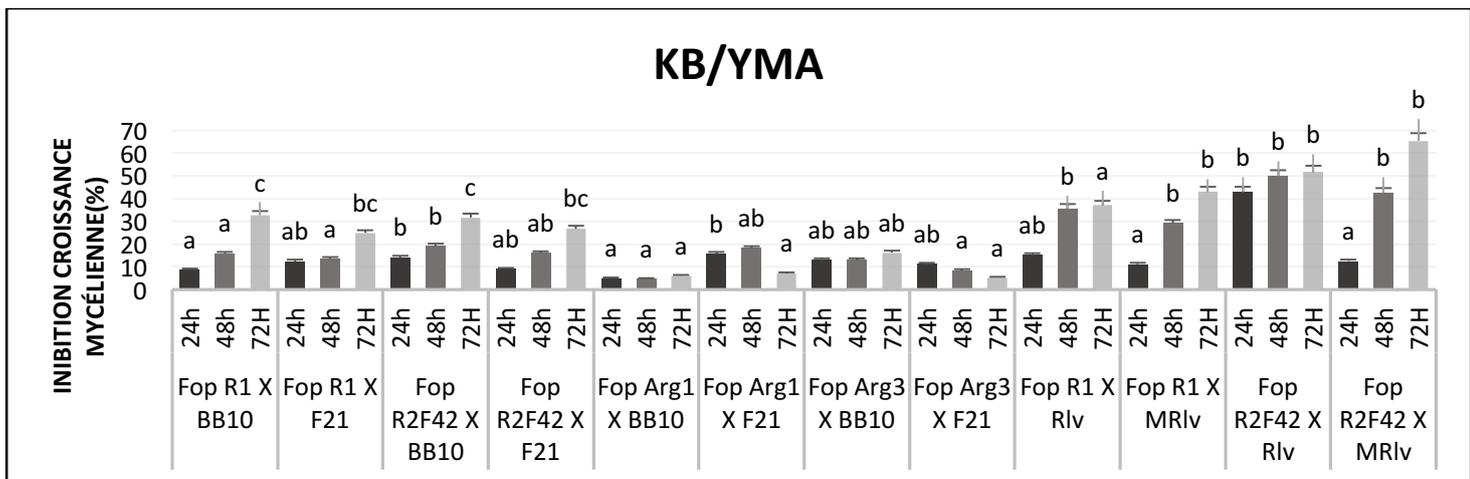
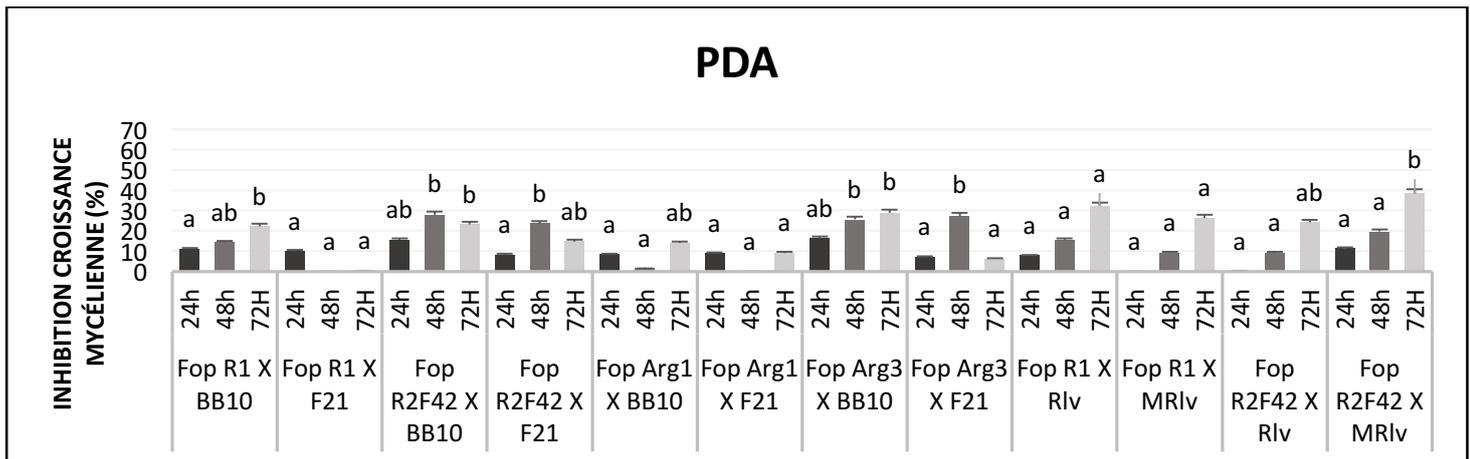
En comparant l'inhibition de la croissance mycélienne, nous constatons que les taux les plus élevés ont été enregistrés, dans les confrontations de la souche rhizobienne MRlv - Fop R2F42 (65,37%) et MRlv - Fop R1 (43,02%). La souche Rlv a inhibé la croissance mycélienne de ces mêmes deux isolats de Fop, avec respectivement, des taux de 51,76% et de 37,11%. Les souches de *Pseudomonas fluorescens* ont induit des niveaux d'inhibition, moindres par rapport aux souches rhizobiennes, variant de 23,59% à 32,77% (Tableau III.1, Figure III.1, Annexe B). L'isolat de Fop ayant été le plus sensible à l'action antagoniste est Fop R2F42, avec une inhibition, régression de sa croissance, de 65,37% (MRlv).

Sur le milieu KB, nous remarquons que l'effet inhibiteur augmente généralement avec le temps d'incubation comparé aux deux autres milieux ; à titre d'exemple l'interaction F21-FopR1 passe de 12,50 % à 25 % (KB), de 10 % à 30 % (PDA) et de 11,26 % à 17,50 % (milieu mixte). La comparaison de l'ensemble des interactions, dans les cinq milieux de cultures confondus, montre que les activités inhibitrices les plus élevées ont été obtenues sur les milieux Mixte 1 et YMA (Tableau III.1, Figure III.1).

**Tableau III.1 :** Antagonisme (croissance mycélienne *in vitro*) des souches rhizobactériennes vis-à-vis de Fop

Souche fongique Fop	Milieux	Témoins	Bactérisés			
			F21	BB10	Rlv	MRlv
R2F42	PDA					
	KB					
	YMA					
	Mixte1 (50%PDA/ 50%KB)					
	Mixte2 (50%PDA/ 50%YMA)					
R1	PDA					
	KB					
	YMA					
	Mixte1 (50%PDA/ 50%KB)					
	Mixte2 (50%PDA/ 50%YMA)					

Souches fongiques	Milieux	F21	Bactéries	
			F21	BB10
Arg1	PDA			
	KB			
	Mixte (50%PDA/ 50%KB)			
Arg3	PDA			
	KB			
	Mixte (50%PDA/ 50%KB)			



Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de cinq groupes homogènes dont 3 groupes individuels et 2 groupes intermédiaires (a, b, ab, c et bc).

**Figure III.1 :** Inhibition de la croissance mycélienne (%) sur les cinq milieux de culture (PDA, KB, YMA, Mixte 1 « KB+PDA » et Mixte 2 « YMA+PDA »)

### 1.1.2. Inhibition de la germination conidienne

Selon les résultats obtenus (Figure III.3, Annexe B), nous remarquons que les deux souches bactériennes BB10 et F21 sont antagonistes, avec des intensités variables selon les milieux de cultures testés.

Sur les trois milieux liquides, la germination conidienne est fortement inhibée. L'effet inhibiteur apparaît plus important sur les milieux KB et mixte. En effet, des taux très élevés dépassant 90% ont été notés avec les interactions FopR1-BB10 (KB) et FopArg3-F21 (KB et mixte) (Figure III.3).

Après 24h d'inhibition, il apparaît que les deux souches ont généralement montré des niveaux rapprochés (F21 : 93,98% ; BB10 : 91,21%), néanmoins dans certains cas la souche F21 a eu plus d'action que la souche BB10 (Figure III.2).



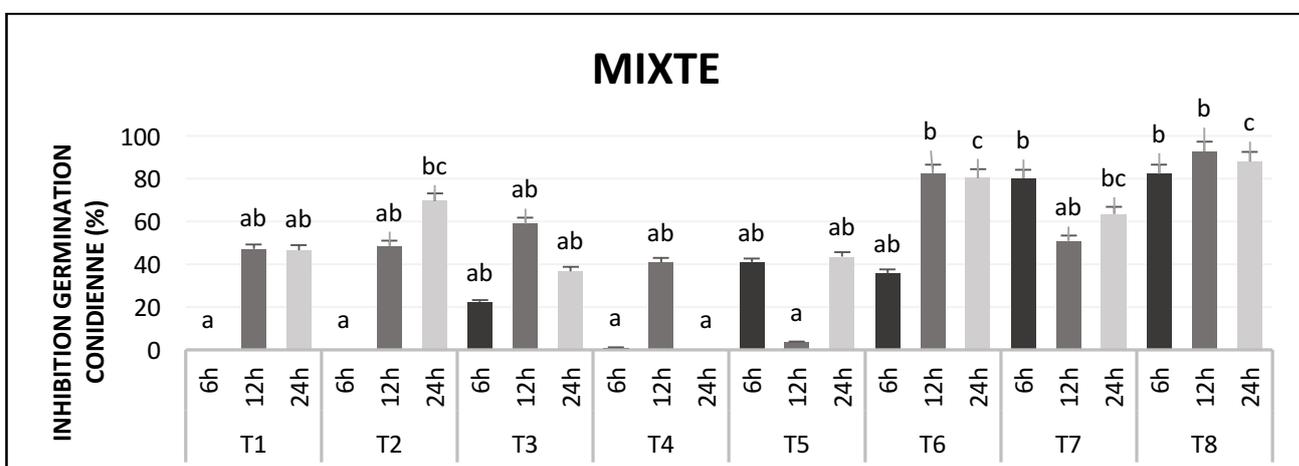
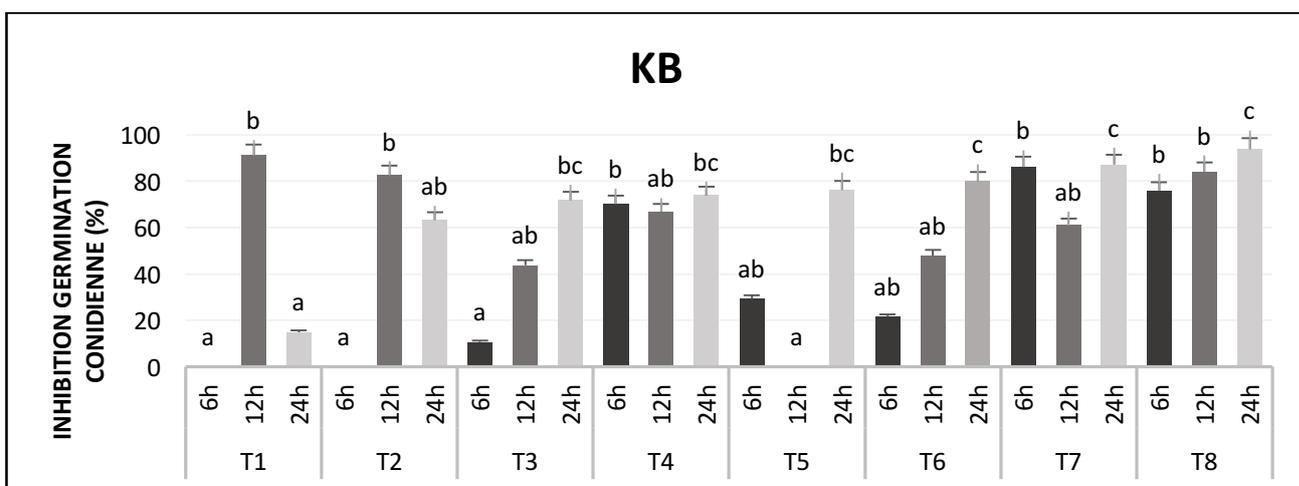
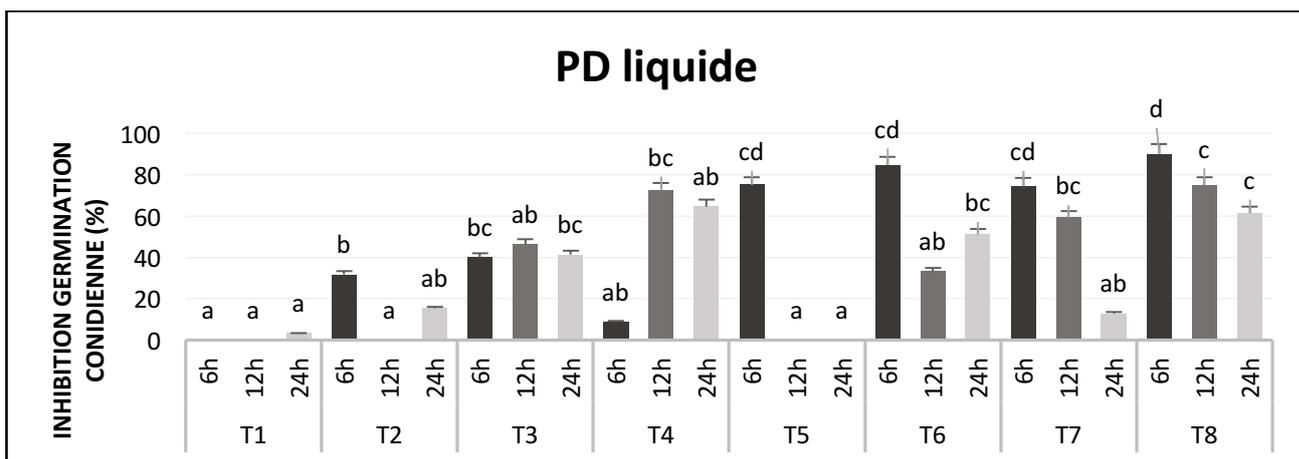
**Figure III.2 :** Inhibition de la germination conidienne et du tube germinatif de Fop Arg1 par les souches antagonistes (BB10 et F21) après 48h sur milieu mixte « KB + PD ».

### 1.1.3. Inhibition de l'élongation du tube germinatif

Concernant l'inhibition de l'élongation du tube germinatif des quatre isolats fongiques de Fop, les deux souches de *Pseudomonas* BB10 et F21 ont montré une activité antagoniste visible et appréciable selon les milieux de culture (Figure III.4, Annexe B).

L'élongation est fortement inhibée dans les trois milieux de culture et plus précisément entre 12h et 24h, dans les milieux mixtes et KB (Figure III.4).

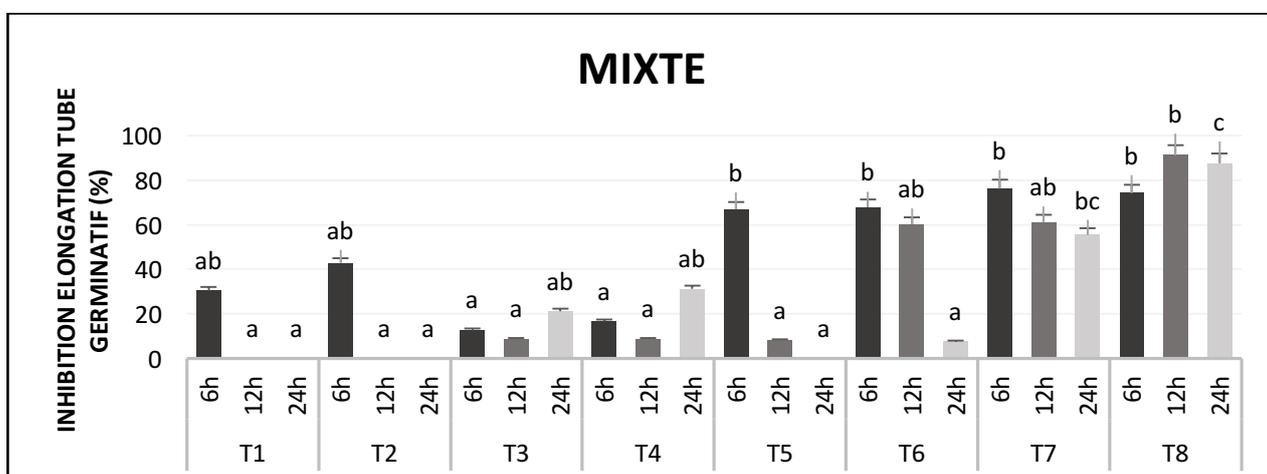
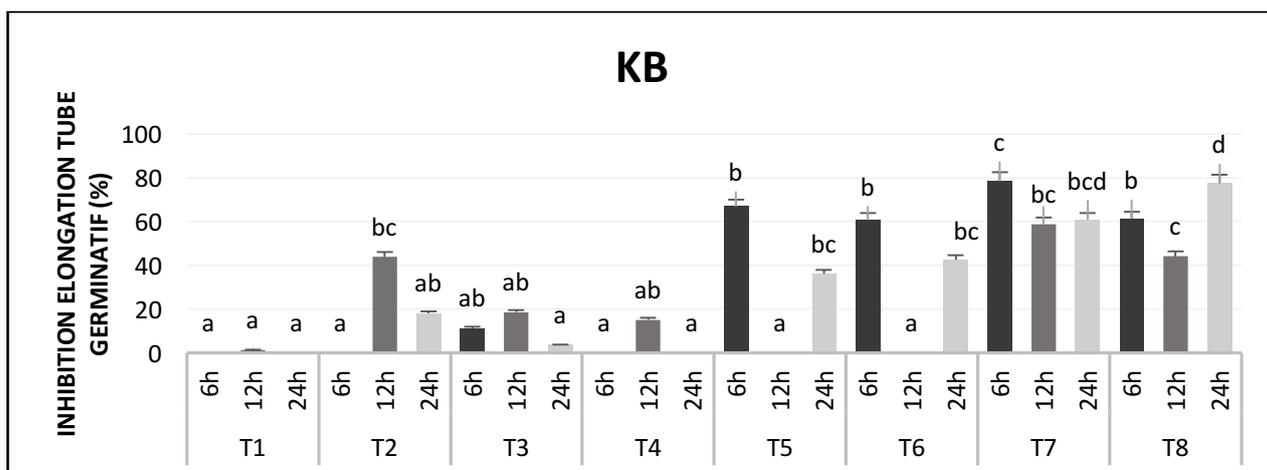
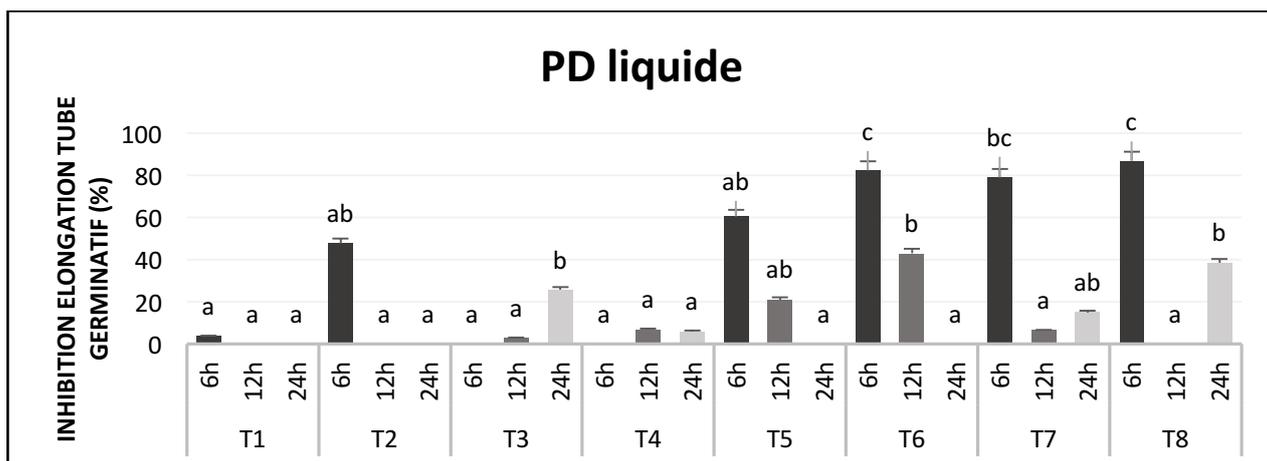
La souche F21 a induit une activité antagoniste de 77,56% (KB), 91,21% (mixte) et 87,07% (PD). Pour la souche BB10, les taux atteignent 78,55% (KB), 76,32% (mixte) et 79,07% (PD) (Figure III.4).



**Figure III.3 :** Inhibition de la germination conidienne (%) sur les trois milieux de culture (PD liquide, KB et Mixte « KB + PD »).

**T1 :** FopR1XBB10 ; **T2 :** FopR1XF21 ; **T3 :** FopR2F42XBB10 ; **T4 :** FopR2F42XF21 ; **T5 :** FopArg1XBB10 ; **T6 :** FopArg1XF21 ; **T7 :** FopArg3XBB10 ; **T8 :** FopArg3XF21

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de sept groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 3 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, bc, d et cd).



**Figure III.4 :** Inhibition de l'élongation du tube germinatif (%) sur les trois milieux de culture (PD liquide, KB et Mixte « KB + PD »)

T1 : FopR1XBB10 ; T2 : FopR1XF21 ; T3 : FopR2F42XBB10 ; T4 : FopR2F42XF21 ; T5 : FopArg1XBB10 ; T6 : FopArg1XF21 ; T7 : FopArg3XBB10 ; T8 : FopArg3XF21

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de huit groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 4 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d et bcd).

## 1.2. Antagonisme *in situ*

Les observations portant sur les activités antagonistes *in situ*, montrent clairement les effets de biocontrôle en mettant à l'évidence les performances notées, en termes d'inhibition de la fusariose vasculaire du pois. En effet, des régressions appréciables ont été enregistrées, à travers les paramètres étudiés : le taux d'infection, la sévérité et l'AUDPC. Par rapport aux activités phytostimulatrices, induites par la bactérisation, le constat est exprimé à travers les gains en biomasses fraîche et sèches des parties aériennes et racinaires des plants de pois. Les effets de nodulation, associés aux activités des deux souches de *Rhizobium*, étaient négatifs sans formation de nodosités sur les racines végétales.

### 1.2.1. Taux d'infection et sévérité

D'après nos résultats (Figures III.5, III.6, III.7, III.8, Annexe C), nous constatons que les niveaux d'infection engendrés par les inoculations artificielles, chez les trois génotypes du pois, sont en net recul chez les traitements bactérisés par rapport aux témoins positifs.

Face à la souche pathogène FopR1, la bactérisation, toutes souches rhizobactériennes confondues, a réduit l'infection. En effet, dans le cas du génotype de pois JI1412, la souche MRlv a induit un net recul (37,67%), alors que le témoin atteint 66,11%. Dans le cas du génotype P21, le taux d'infection a marqué une stagnation aux seuils de 84,02% avec la bactérie F21 et 85,12% avec Rlv, alors que chez les témoins respectifs il est total (100%) dès le 25<sup>ème</sup> jour suivant les inoculations (Figure III.5).

Dans le cas de la souche FopR2F42, nous constatons une diminution remarquable du taux d'infection engendré par la combinaison des deux souches bactériennes P21 et Rlv par rapport aux autres traitements. L'application combinée des deux bactéries a enregistré des taux de 59,10% (JI1412), de 37,14% (P21) et de 31,73% (KWP), alors que les témoins, respectifs, atteignent 69,44%, 100% et 64,21%. Egalement il y a un net recul du taux d'infection chez le génotype KWP, suite à sa bactérisation avec la souche MRlv où le seuil d'infection est à 16,67% à la dernière observation, sans aucun symptôme durant les dix premiers jours. La comparaison de ce dernier avec son témoin, un développement brusque et rapide de la fusariose, en commençant d'emblée par le taux de 20,56% lors de la première observation, pour atteindre le maximum de 64,21% (Figure III.6).

Face aux souches pathogènes, FopArg1 et FopArg3, nous constatons également une réduction du taux d'infection chez les traitements bactérisés avec les bactéries F21 et BB10. A titre d'exemple, avec le génotype P21, les taux d'infection sont de 55,55 %

(FopArg1XBB10), de 56,37% (FopArg1XF21), de 60,09% (FopArg3XBB10) et de 55,19% (FopArg3XF21) ; alors que les témoins sont à 70,40% (FopArg1) et 73,84% (FopArg3) (Figure III.7, Figure III.8).

Les tests de corrélation, effectués entre les taux d'infection et les sévérités, (Figure III.9), mettent en évidence une corrélation positive moyenne hautement significative avec les trois génotypes de pois ( $0,4 \leq r \leq 0,7$ ). En effet, la bactérisation a permis de réduire nettement la gravité des symptômes, en dépit de la présence de l'infection. Ce constat est confirmé chez les témoins positifs, respectifs (R1, R2F42, Arg1 et Arg3), qui présentent des niveaux de 1 à 2 dès les premières observations, avec une évolution plus dynamique, atteignant souvent des valeurs supérieures au niveau 2, en terminant au niveau 5 au jour 31 (Figures III.10, III.11, III.12, III.13, III.14 et Annexe C).

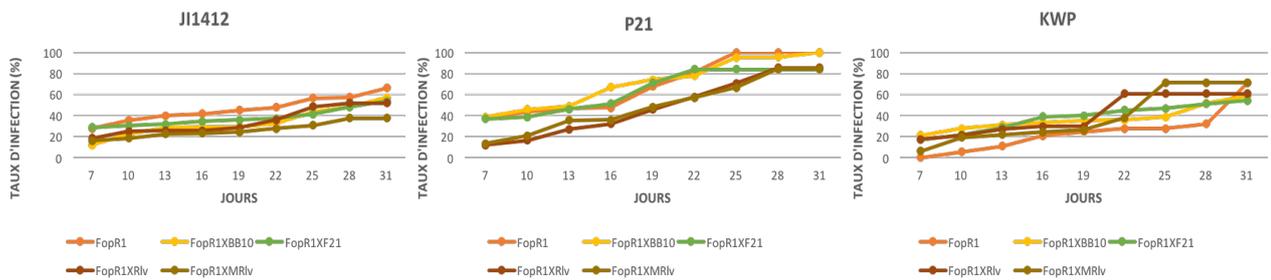


Figure III.5 : Taux d'infection (%) avec FopR1 sur les trois génotypes de pois.

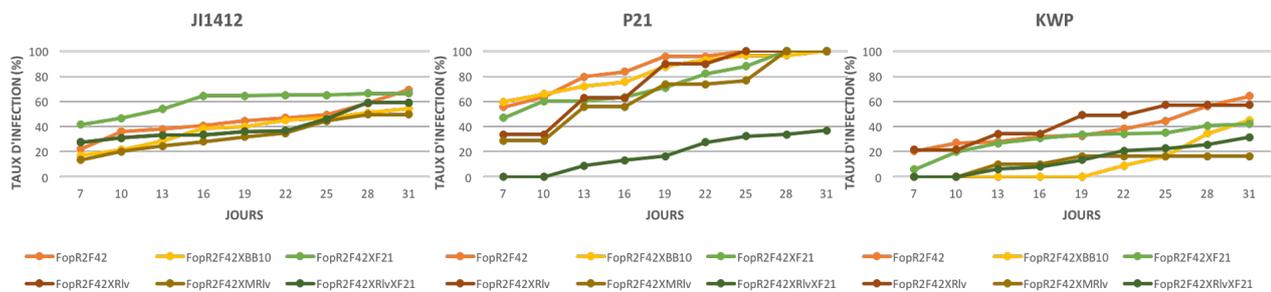


Figure III.6 : Taux d'infection (%) avec FopR2F42 sur les trois génotypes de pois.

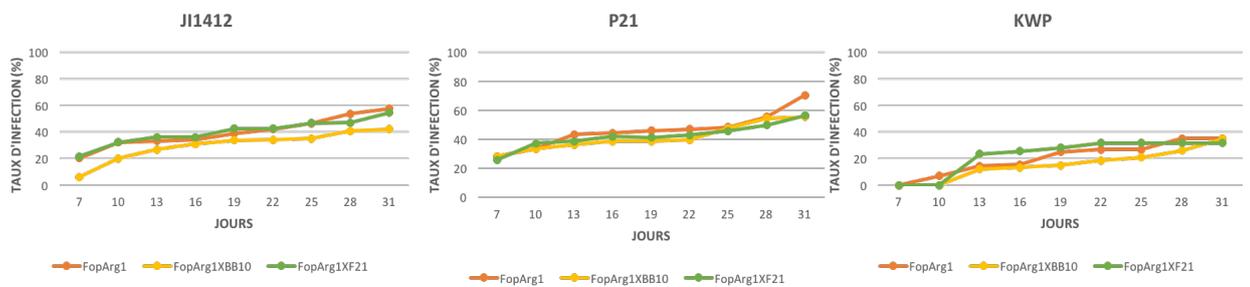
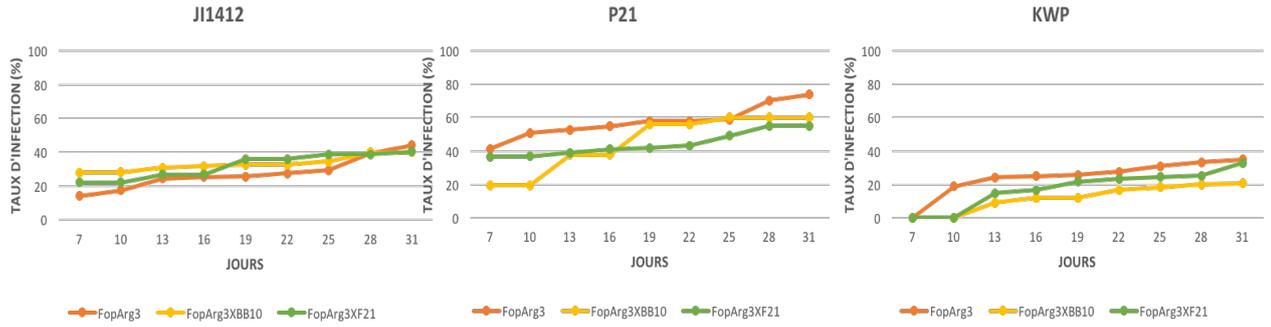
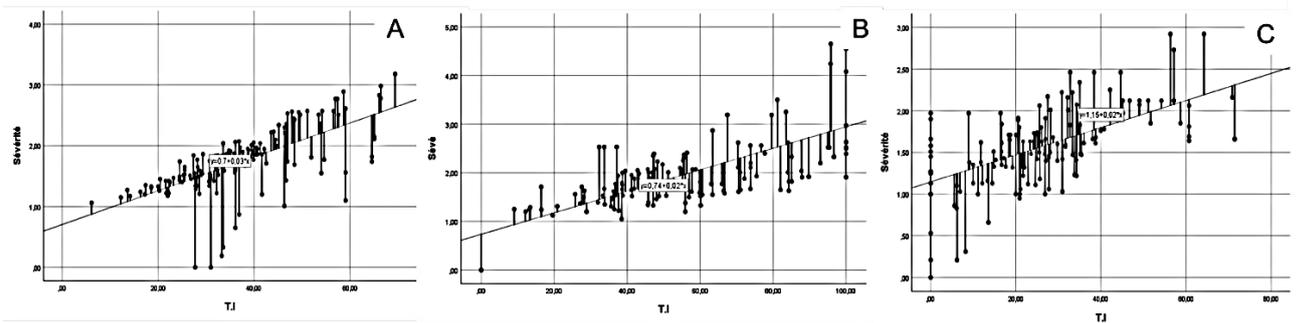


Figure III.7 : Taux d'infection (%) avec FopArg1 sur les trois génotypes de pois.



**Figure III.8 :** Taux d'infection (%) avec FopArg3 sur les trois génotypes de pois.



**Figure III.9 :** Corrélation entre les taux d'infection et les sévérités des trois génotypes.

**A :** JI1412 ( $r=0,674^{**}$ ) ; **B :** P21 ( $r=0,682^{**}$ ) ; **C :** Kelvedon Wonder Peas ( $r=0,601^{**}$ )



**Figure III.10 :** Expression symptomatique sur le génotype P21.

Dans les traitements associés à la bactérisation avec l'une des souches rhizobactériennes (BB10, F21, Rlv, MRlv), ou lors de l'application combinée de *Pseudomonas* et de *Rhizobium* (PfF21 + Rlv), les symptômes ne sont qu'à des stades préliminaires. Même en fin de nos observations (31<sup>ème</sup> jour) les niveaux enregistrés étaient de 1,56 à 2,98 (Figure III.11, III.12, III.13 et III.14).

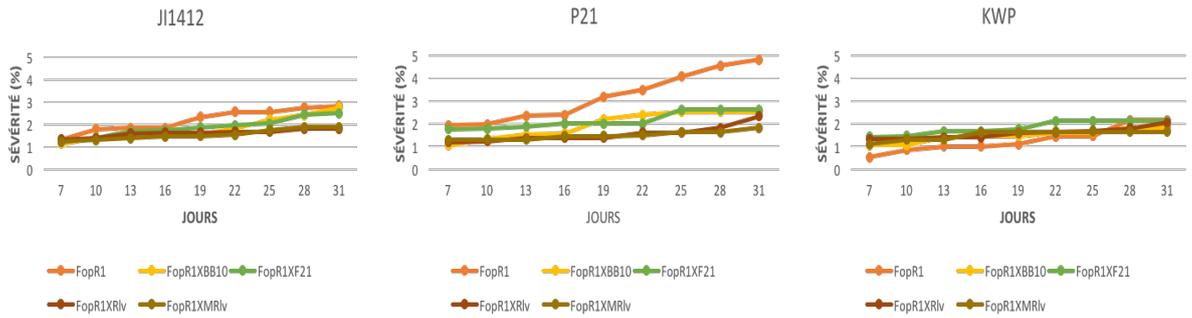


Figure III.11 : Sévérité de la maladie (%) avec FopR1 sur les trois génotypes de pois.

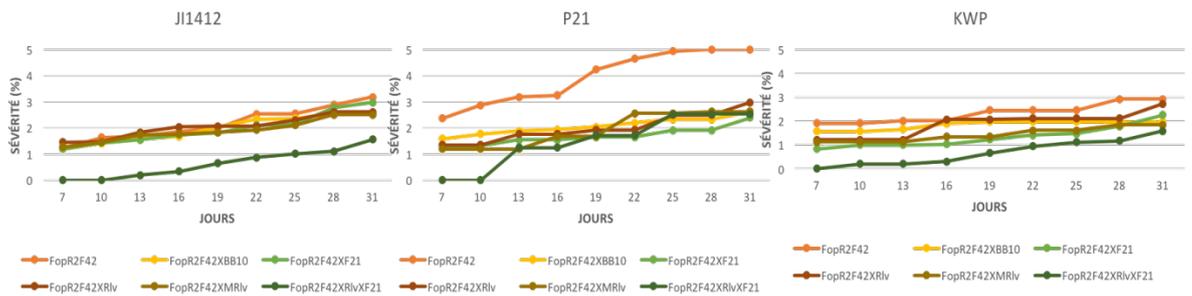


Figure III.12 : Sévérité de la maladie (%) avec FopR2F42 sur les trois génotypes de pois.

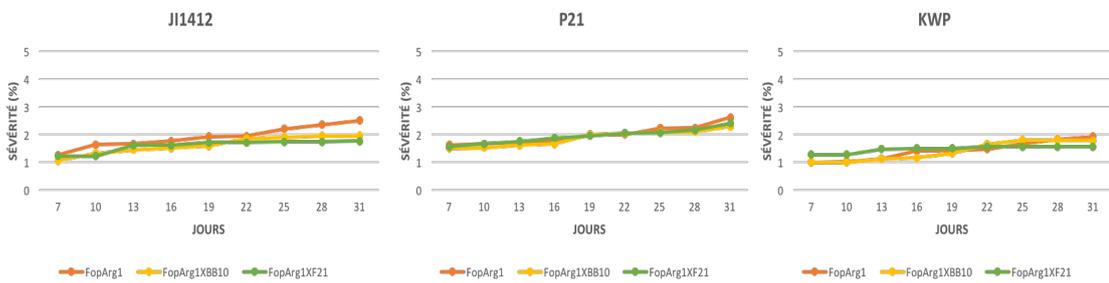


Figure III.13 : Sévérité de la maladie (%) avec FopArg1 sur les trois génotypes de pois.

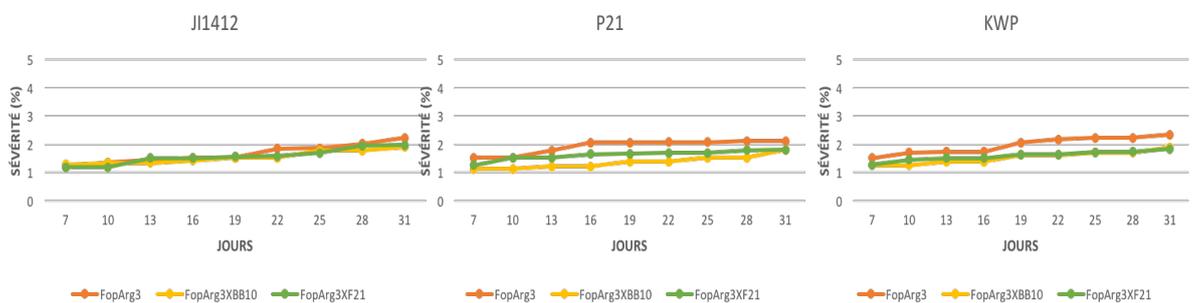
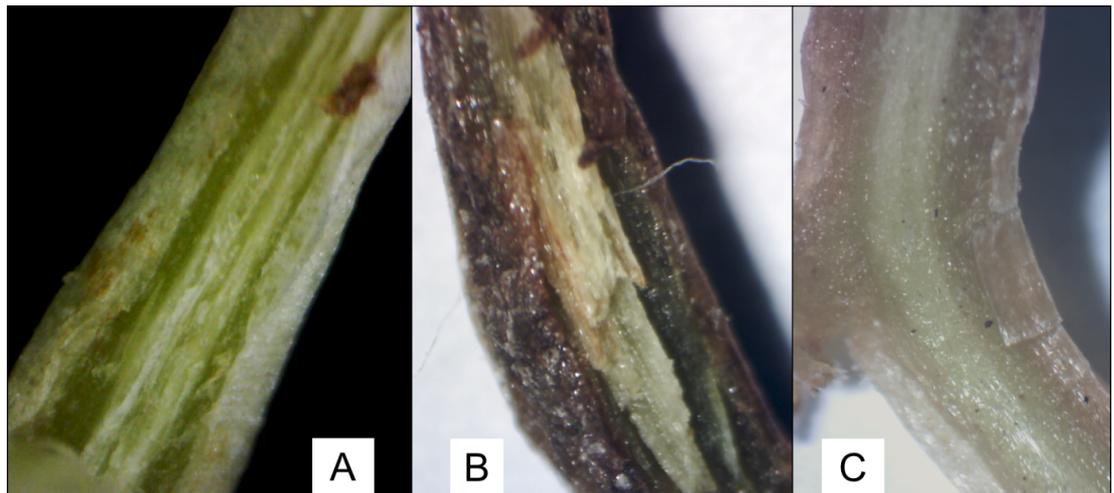


Figure III.14 : Sévérité de la maladie (%) avec FopArg3 sur les trois génotypes de pois.

Les coupes longitudinales, effectuées sur les collets des plants infectés, confirment la sévérité des infections, brunissement intense et avancé, signe d'obstruction

et d'atteinte interne vasculaire (Figure III.15 B). Avec les mêmes profils, nous constatons chez les témoins sains des tissus verdâtres et un système vasculaire clair (Figure III.15A). Le constat est presque similaire avec les plants infectés et bactérisés (Figure III.15C), dont les coupes ont révélé une légère décoloration, sans incidence apparente sur le système vasculaire et la circulation de la sève.



**Figure III.15:** Coupes longitudinales au niveau du collet du génotype Kelvedon Wonder Peas.

**A:** EDS; **B:** Fop R2F42; **C:** Fop R2F42 X F21 X Rlv

### 1.2.3. AUDPC

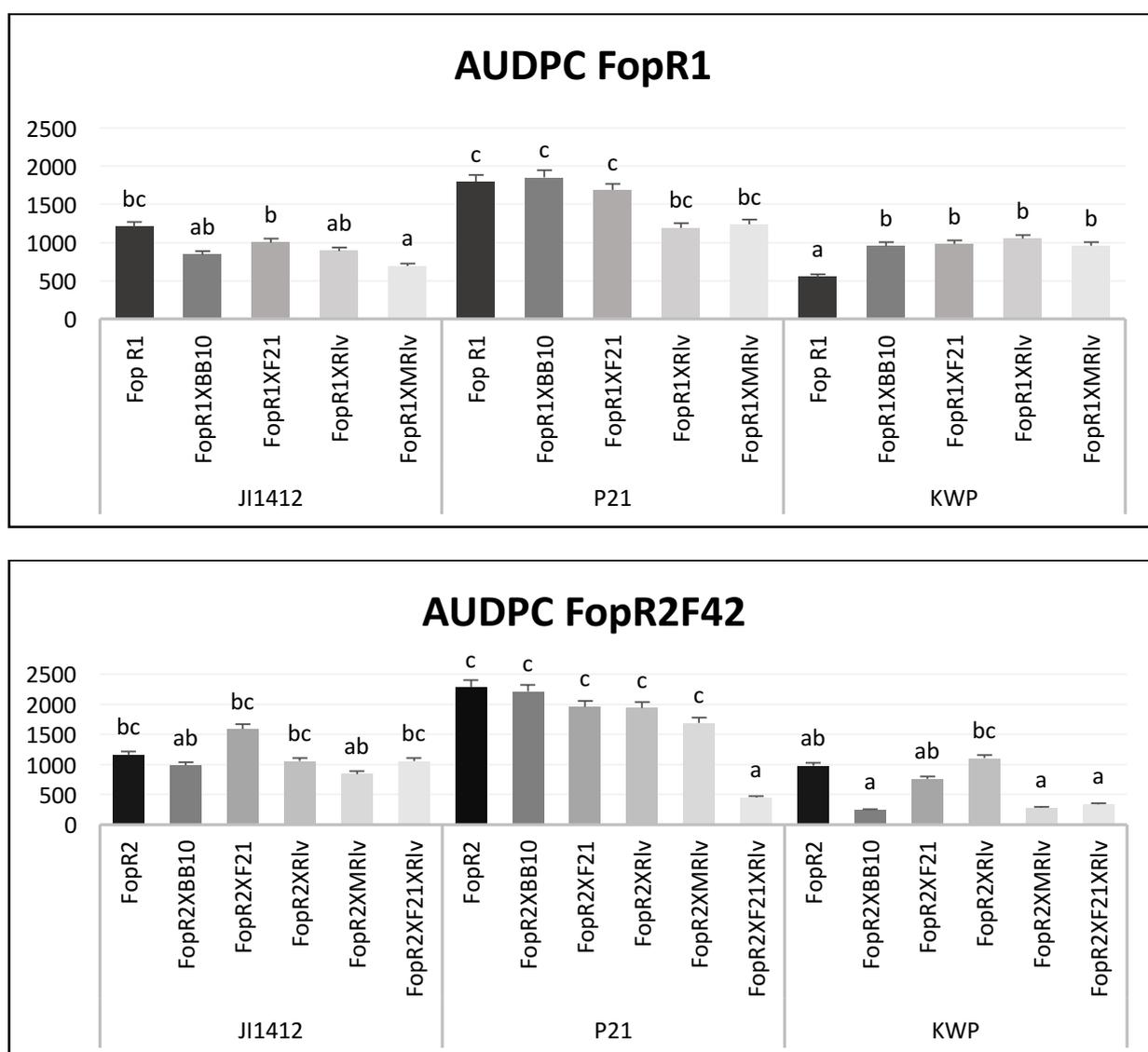
Les quatre souches bactériennes, (BB10, F21, Rlv et MRlv), ont exercé une activité antagoniste vis-à-vis des quatre souches de *Fusarium oxysporum* f.sp *pisi* (Fop) (R1, R2F42, Arg1 et Arg3), en interaction avec les trois génotypes de pois confondus (JI1412, P21 et KWP). Cette inhibition est détectable durant les 31 jours de suivi du développement de la maladie, par le calcul de l'AUDPC, ayant permis d'évaluer la progression de la maladie durant toute la période d'expérimentation (Figures III.16, Annexe C).

D'après les résultats obtenus (Figure III.16), en comparant l'action des quatre agents phytopathogènes, nous constatons que l'évolution de l'AUDPC montre clairement que FopR2F42 (247,48 à 2282,36) et FopR1 (692,22 à 1796,67) sont plus virulents par rapport à FopArg3 (428,23 à 1524,34) et FopArg1 (369,9 à 1089,12).

Quelque soient les isolats fongiques testés, lors des inoculations, il apparaît clairement que le génotype P21 est d'un comportement homogène et régulier et semble

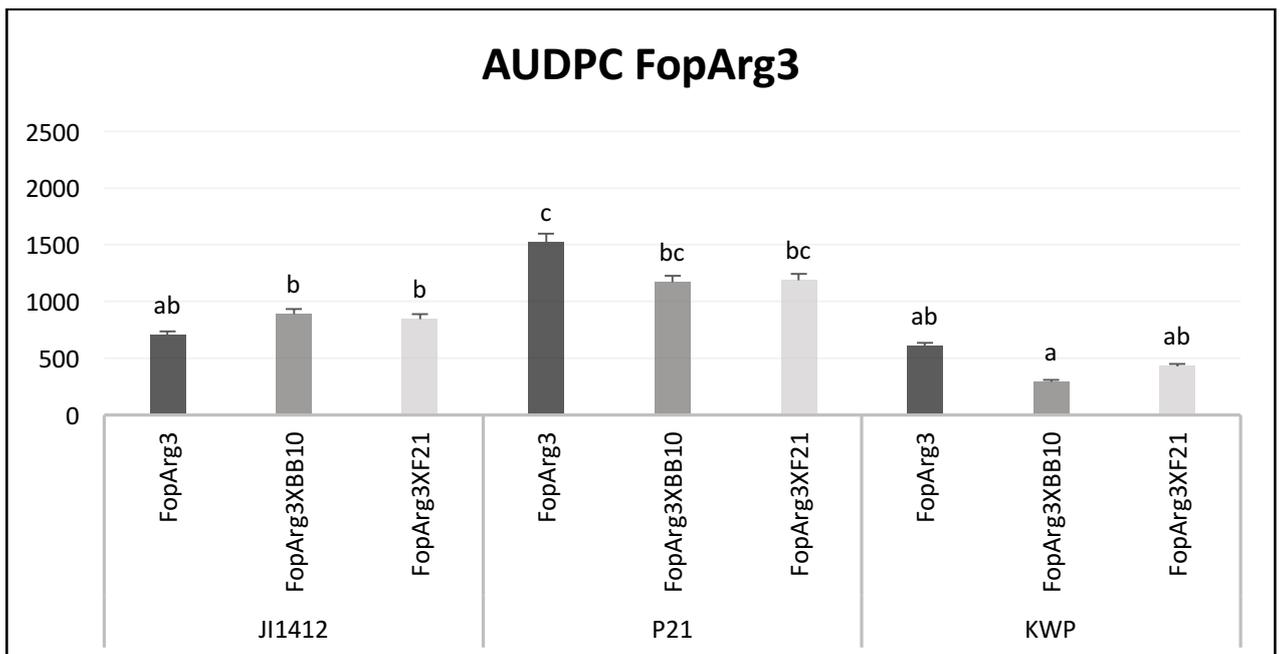
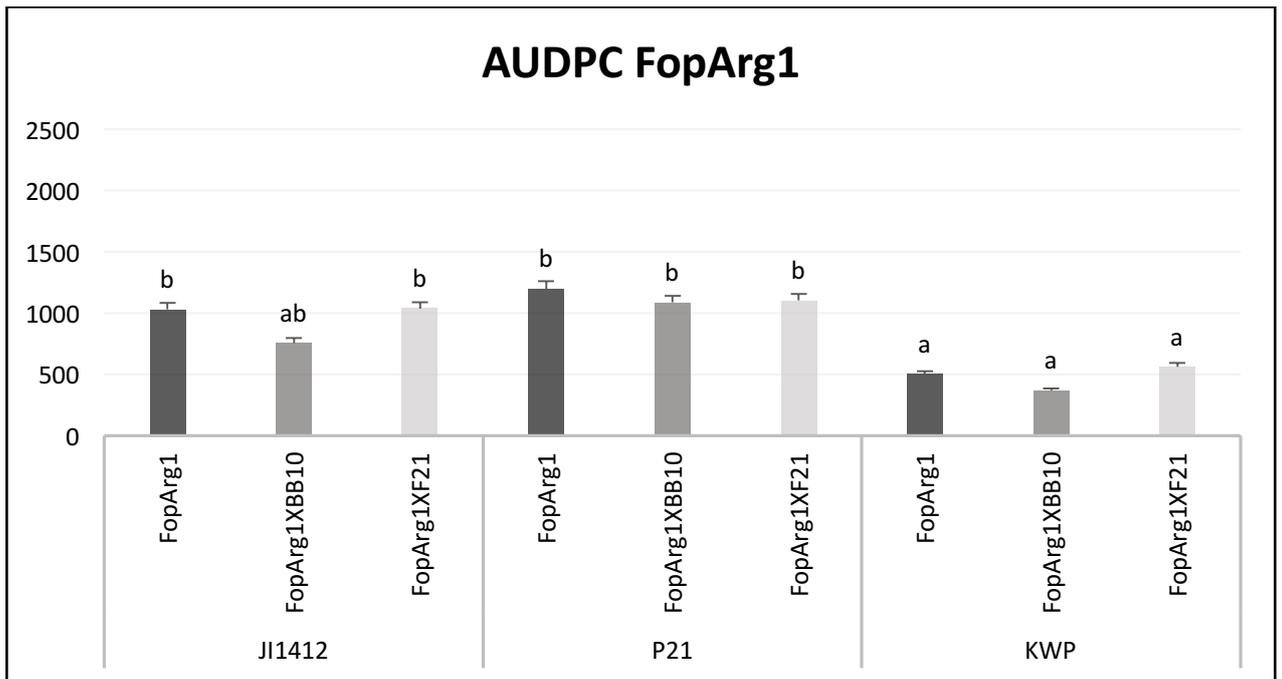
plus sensible. En effet, ses valeurs en AUDPC restent les plus élevées par rapport aux deux autres génotypes JI1412 et KWP (Figure III.16).

La combinaison des deux souches bactériennes (PfF21 + Rlv) a procuré plus d'effet de biocontrôle dans le temps. D'ailleurs, il y a diminution des valeurs en AUDPC vis à vis de FopR2F42 de 2282,36 à 452,64, en interaction avec le génotype P21. Le même constat s'est reproduit avec le génotype KWP, dont l'ADUPC a régressé de 977,52 à 339,85 (Figures III.16 et III.17).



**Figure III.16** : AUDPC de Fop R1 et Fop R2F42 sur les trois génotypes de pois.

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de cinq groupes homogènes dont 3 groupes individuels et 2 groupes intermédiaires (a, b, ab, c et bc).



**Figure III.17** : AUDPC de Fop Arg1 et Fop Arg3 sur les trois génotypes de pois.

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de cinq groupes homogènes dont 3 groupes individuels et 2 groupes intermédiaires (a, b, ab, c et bc).

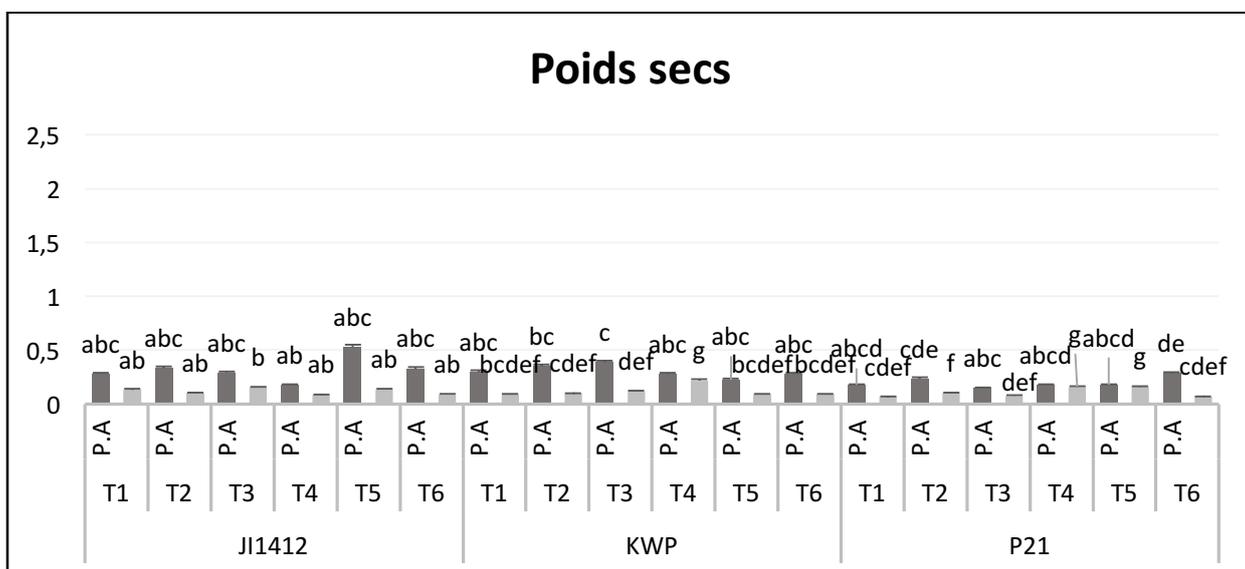
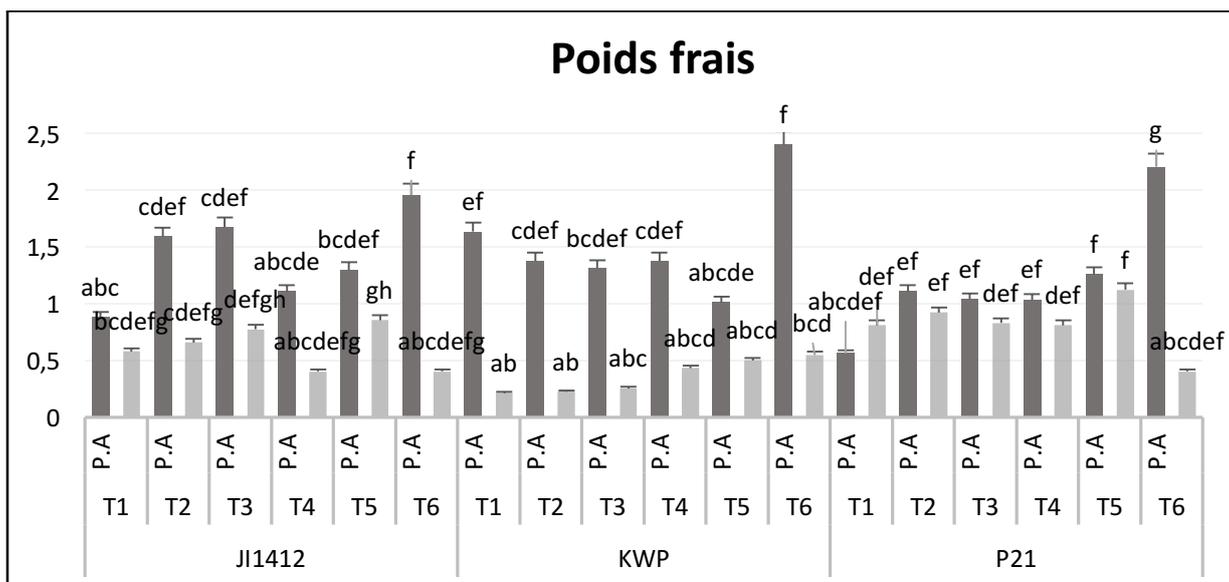
#### 1.2.4. Biomasse fraîche et sèche

D'après les résultats obtenus (Figures III.18, III.19, III.20 et Appendice C), nous remarquons que la bactérisation des trois génotypes de pois (JI1412, P21 et KWP) avec les souches rhizobactériennes (BB10, F21, Rlv et MRlv), a induit des augmentations considérables, chez quelques traitements, les biomasses fraîches et sèches des parties aérienne et souterraine.

Les effets de la phytostimulation sont notables en comparant les traitements bactérisés aux témoins sains (EDS). A titre d'exemple avec le génotype JI1412, les gains en poids frais de la partie aérienne sont de 79,88% (F21), de 89,26% (BB10), de 25,42% (Rlv), et de 46,89% (MRlv). L'interaction des deux types de rhizobactéries (F21 X Rlv) a induit plus de gains allant jusqu'à 121,35%. Les pesées des parties racinaires, chez le génotype Kelvedon Wonder Peas, montrent aussi des gains en poids frais de 4,65% (F21, BB10), de 101,39% (Rlv), de 132,55% (MRlv) et de 155,81% (F21 X Rlv). En poids secs, les gains sont de 10% (F21), de 31,81% (BB10) et de 145,45% (Rlv) (Figure III.18).

Nous remarquons également certains effets de bioprotection des bactéries utilisées, surtout chez le génotype JI1412 où les poids frais de la partie aérienne ont considérablement augmenté chez les traitements bactérisés par rapport aux témoins malades (FopR2F42XF21 : 377,20%, FopR2F42XBB10 : 242,55%, FopR2F42XRlv - FopR2F42XMRlv : 216,10% et FopR2F42XF21XRlv : 286,01%). Donc les effets de phytostimulation sont plus apparents et notables en situation de stress biotique causé par le pathogène.

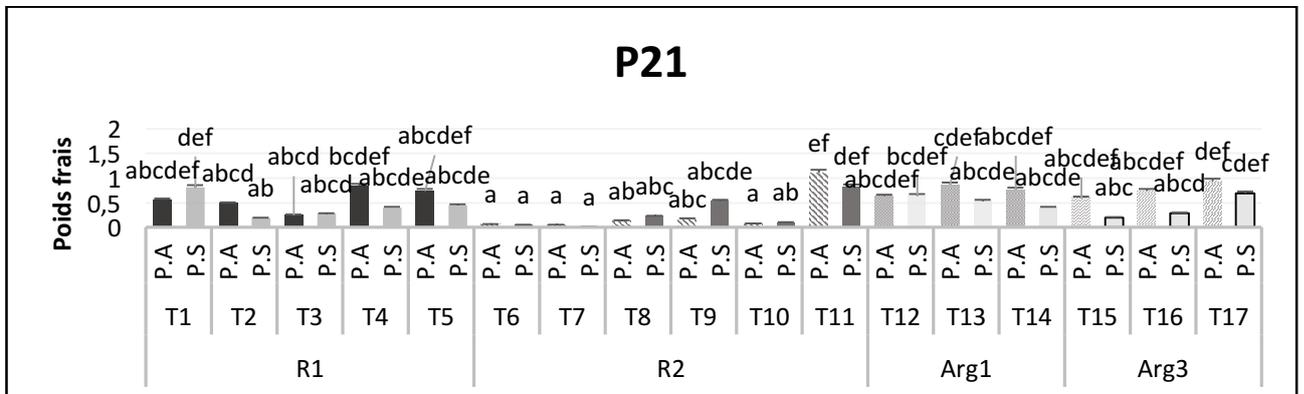
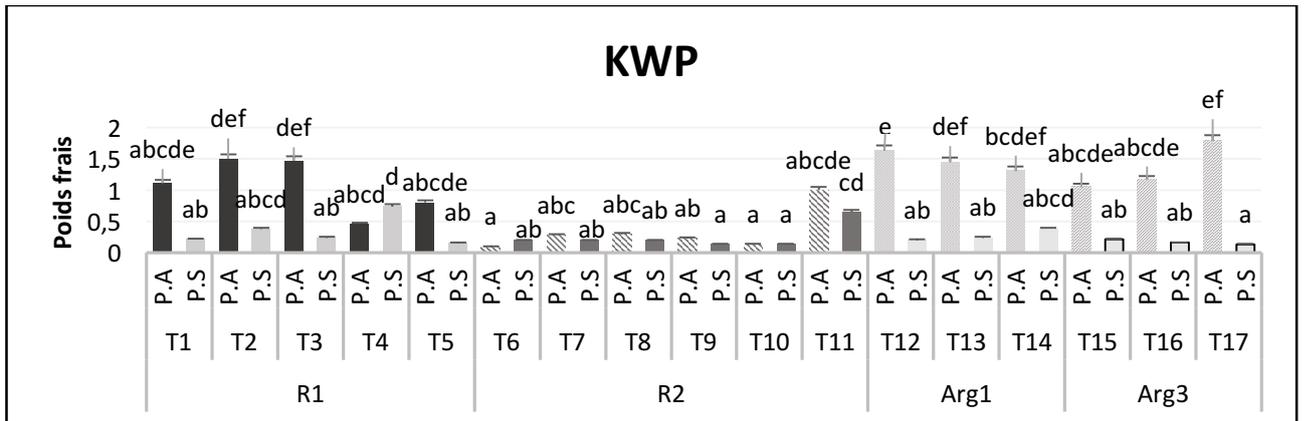
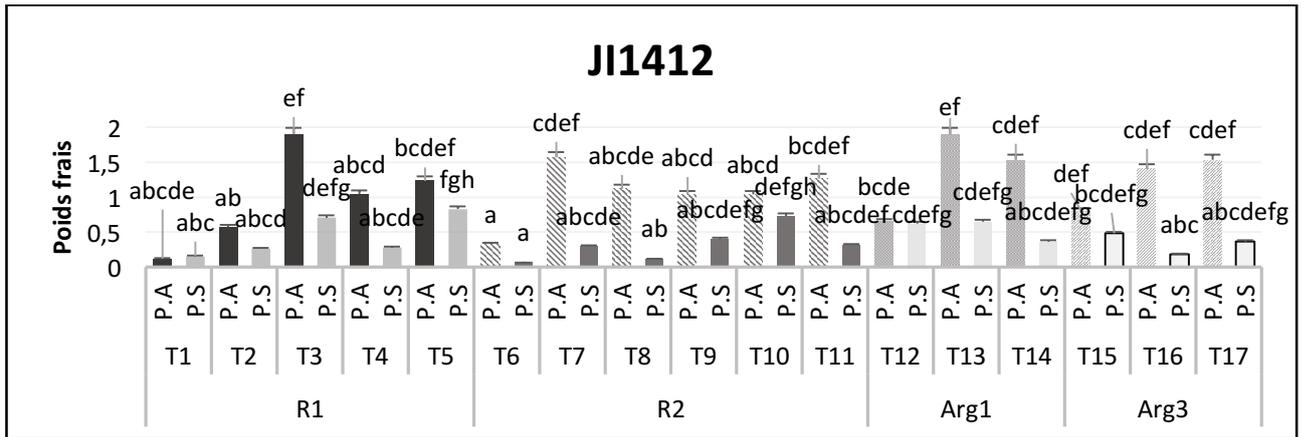
En comparant l'effet de phytostimulation et de biocontrôle des différentes souches bactériennes, nous constatons que la combinaison des deux souches bactériennes PfF21 et Rlv augmente considérablement les biomasses par rapport aux autres traitements bactérisés. Pour l'effet de phytostimulation des gains arrivant aux seuils de 46,91% (KWP), 171,41% (JI1412) et 293,23% ont été enregistrés ; quant à l'effet de biocontrôle, la plus grande différence de poids a été observée chez le génotype P21 avec une biomasse sèche de la partie souterraine d'ordre de  $3,8 \times 10^3$  % par rapport au témoin malade (FopR2F42) (Figure III.18, III.19 et III.20).



**Figure III.18** : Effet de phytostimulation des rhizobactéries étudiées sur la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine des trois génotypes (JI1412, KWP et P21)

T1 : EDS ; T2 : F21 ; T3 : BB10 ; T4 : Rlv ; T5 : MRlv ; T6 : F21XRlv.

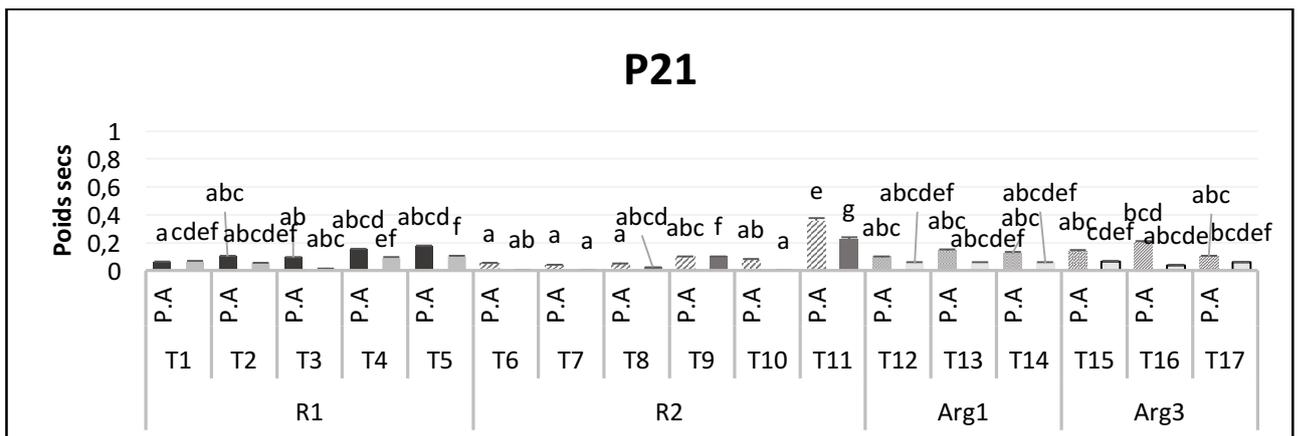
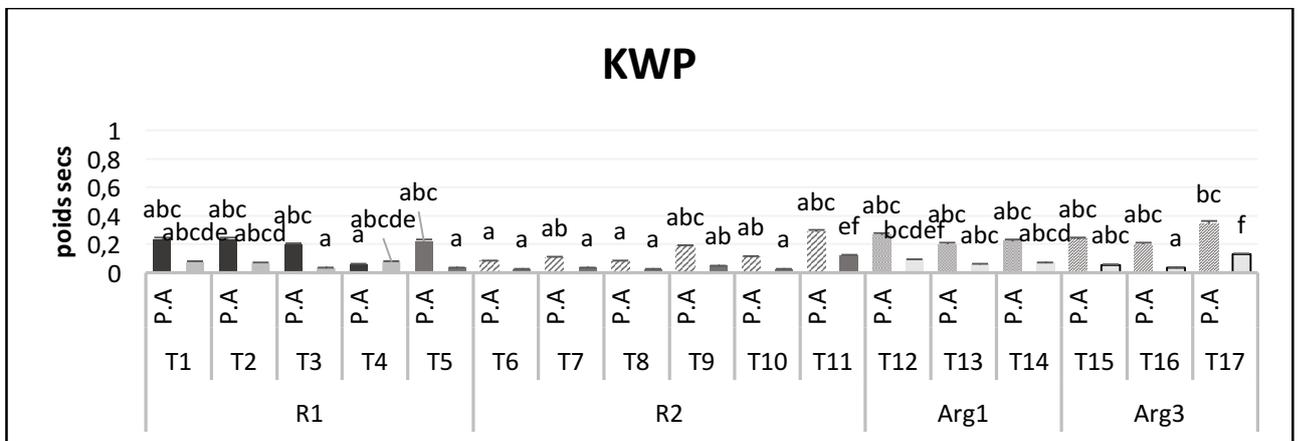
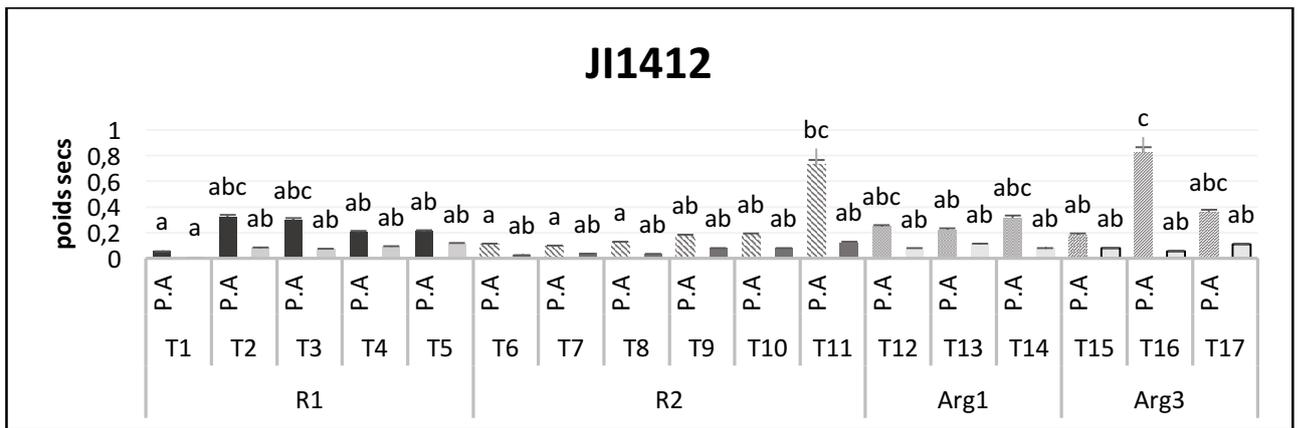
Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de 23 groupes homogènes dont 8 groupes individuels et 15 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, abcd, e, abcde, cde, de, f, abcdef, bcdef, cdef, def, ef, g, bcdefg, cdefg, h, defgh et gh).



**Figure III.19** : : Effet de biocontrôle des rhizobactéries étudiées sur la biomasse fraîche de la partie aérienne et souterraine des trois génotypes (JI1412, KWP et P21)

**T1** : FopR1 ; **T2** : FopR1XF21 ; **T3** : FopR1XBB10 ; **T4** : FopR1XRlv ; **T5** : FopR1XMRlv ; **T6** : FopR2F42, **T7** : FopR2F42XF21 ; **T8** : FopR2F42XBB10 ; **T9** : FopR2F42XRlv ; **T10** : FopR2F42XMRlv ; **T11** : FopR2F42XF21XRlv ; **T12** : FopArg1 ; **T13** : FopArg1XF21 ; **T14** : FopArg1XBB10 ; **T15** : FopArg3 ; **T16** : FopArg3XF21 ; **T17** : FopArg3XBB10 ;

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de 27 groupes homogènes, dont 8 groupes individuels et 19 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, abcd, cd, e, abcde, cde, de, f, abcdef, bcdef, cdef, def, ef, g, abcdefg, bcdefg, cdefg, defg, h, defgh et fgh)



**Figure III.20** : : Effet de biocontrôle des rhizobactéries étudiées sur la biomasse sèche de la partie aérienne et souterraine des trois génotypes (JI1412, KWP et P21)

**T1** : FopR1 ; **T2** : FopR1XF21 ; **T3** : FopR1XBB10 ; **T4** : FopR1XRlv ; **T5** : FopR1XMRlv ; **T6** : FopR2F42, **T7** : FopR2F42XF21 ; **T8** : FopR2F42XBB10 ; **T9** : FopR2F42XRlv ; **T10** : FopR2F42XMRlv ; **T11** : FopR2F42XF21XRlv ; **T12** : FopArg1 ; **T13** : FopArg1XF21 ; **T14** : FopArg1XBB10 ; **T15** : FopArg3 ; **T16** : FopArg3XF21 ; **T17** : FopArg3XBB10 ;

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de 15 groupes homogènes dont 5 groupes individuels et 10 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, abcd, bcd, abcde, f, abcdef, bcdef, cdef, ef et g).

### 1.2.5. Dénombrement des nodules

Après dépotage, nous avons constaté que dans les applications de bactérisation avec les souches rhizobiennes, individuellement ou en combinaison avec les souches de *Pseudomonas fluorescens*, il n'y a pas de développement de nodosités sur les racines des plantes. Donc, ce paramètre n'a pas été pris en considération, vu l'effet nodulant de la souche Rlv qui s'est avéré négatif après un mois de suivi.

### 1.3. Discussion

Les résultats obtenus à partir des tests d'inhibition de la croissance mycélienne, de la germination conidienne ainsi que l'élongation du tube germinatif des quatre souches de Fop, ont montré que les quatre rhizobactéries inhibent considérablement le développement des agents fongiques sur les trois milieux de culture (KB ; PD ; milieu mixte).

Il a été démontré lors de précédentes recherches [373], que ces mêmes souches rhizobactériennes ont la capacité de synthétiser des métabolites secondaires phytobénéfiques. De nombreux chercheurs ont corrélé cette capacité au pouvoir antagoniste exercé par les PGPR [20, 447, 448]. Les effets antagonistes observés sont attribués en partie aux sidérophores produits par ces bactéries [166]. Le fer est un élément indispensable à la germination conidienne, la production en quantité importantes de métabolites chélateurs de  $Fe^{3+}$  permet aux rhizobactéries de s'approprier du fer ionique par le biais d'une meilleure affinité concurrentielle, en le rendant inaccessible aux microorganismes vivants dans le même milieu [449]. La concurrence pour le fer ionique, chez les *Pseudomonas*, a été intensément étudiée et le rôle, particulier, du sidérophore pyoverdine, produit par de nombreuses espèces, a été clairement démontré dans la lutte contre les pourritures racinaires causées par les espèces de *Pythium* et de *Fusarium* [20]. Diverses études ont été réalisées sur les bactéries productrices de sidérophores appartenant aux genres *Bradyrhizobium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* et *Streptomyces* [20, 65, 66].

Nos résultats indiquent que malgré que les milieux PDA et (PDA+KB ou PDA+YMA) ne favorisent pas la production du pigment fluorescent pyoverdinique, les souches bactériennes ont montré des activités antagonistes appréciables. Ceci peut s'expliquer par l'implication d'autres mécanismes d'action, en montrant que la

fluorescence, signe de synthèse de sidérophores, n'est pas subordonnée obligatoirement à l'activité antagoniste. Des constatations similaires ont été révélées par plusieurs travaux avec des essais en milieux non carencés en fer [450, 451, 452]. L'effet antagoniste des PGPR peut-être dû à la synthèse d'antibiotique et/ou à d'autres métabolites à effet inhibiteur. Ces principaux mécanismes d'action des PGPR peuvent agir séparément ou simultanément dans l'inhibition de la croissance des populations de Fop dans la rhizosphère [38]. Les variations des zones d'inhibition peuvent être expliquées par d'éventuelles intensités de production de métabolites secondaires à 24h et 48h, et leur probable dégradation après 72h.

L'inhibition, de la germination conidienne et de l'élongation du tube germinatif, est un processus qui diminue considérablement les populations pathogènes au niveau des racines, elle représente donc un bon mécanisme de biocontrôle.

Les résultats obtenus dans les essais de biocontrôle *in situ*, montrent l'effet bénéfique des *Pseudomonas* spp. (BB10 et F21) et des *Rhizobiums* (Rlv et MRlv) en tant qu'agent de biocontrôle contre les pathogènes telluriques (Fop). Toutefois, l'action de biocontrôle est plus apparente avec l'utilisation combinée des deux souches bactériennes (PfF21 et Rlv) que par leur application individuellement. Plusieurs études suggèrent que la combinaison des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium* sp. sur des légumineuses pourrait être plus efficace que l'application de ces souches indépendamment [453, 454, 455]. La combinaison des deux souches PGPR, peut avoir un effet synergique sur la diminution et l'atténuation des différents stress chez la plante [38]. Les rhizobactéries ont de nombreux effets bénéfiques (*Pseudomonas fluorescens* pour l'antibiose et la concurrence par rapport aux nutriments et les *Rhizobiaceae* pour la symbiose fixatrice d'azote) pouvant être complémentaires par différents processus interactifs, notamment biochimiques [456].

Les rhizobactéries ont provoqué une bioprotection significative des plantes de pois contre les quatre souches de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop). Malgré l'apparition des symptômes de la maladie, néanmoins, toutes les plantes bactérisées et inoculées par le pathogène ont montré une réduction significative de la sévérité et des taux d'infection de la fusariose. Ce constat est nettement confirmé par un effet positif direct sur la réduction des valeurs de l'AUDPC. En comparant les résultats de ce paramètre, nous constatons que les valeurs les plus élevées ont été enregistrées avec le génotype P21, qui est considéré comme le plus sensible. Les valeurs d'AUDPC les plus faibles ont été obtenues avec le génotype le plus résistant Kelvedon Wonder Peas.

Le brunissement des tissus chez les plants témoins malades (inoculés par Fop), par rapport aux traitements bactérisés, ne fait que confirmer d'avantage l'effet de biocontrôle exercé par les souches bactériennes vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. Le brunissement des tissus est reconnu comme étant un symptôme typique de la fusariose vasculaire du pois [394].

La bactérisation a induit des effets bénéfiques considérables sur la promotion de la croissance. Cette dernière s'est traduite par une augmentation appréciable et significative de la biomasse végétale. Les génotypes résistants en interaction avec les pathogènes, enregistrent des biomasses plus importantes que chez le génotype sensible. Ceci peut s'expliquer par le fait que les génotypes résistants présentent une structure morphologique agissant comme des systèmes de défense primaire vis-à-vis de l'agression du pathogène, alors que les structures du génotype sensible sont plus fragiles et donc peuvent être surmontées facilement par l'invasion du pathogène, dès les premiers stades suivant sa pénétration racinaire.

Par rapport au pouvoir nodulant de la souche de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, l'absence de formation de nodules sur les racines des plans bactérisés, peut s'expliquer par plusieurs raisons. Entre autre, le substrat utilisé (perlite) qui peut être défavorable à la formation de nodosités ; les conditions de conduite des essais ( $T=18\pm 5^{\circ}\text{C}$ ,  $50 < H\% < 70$ ). Dans le cas de combinaison *Pseudomonas fluorescens* et *Rizobium leguminosarum* bv. *viceae*, des altérations des mécanismes de nodulation sont possibles que ce soit dans la perception des signaux chimiques (flavonoïdes) ou l'exercice des activités bactériennes relatives au métabolisme secondaire.

En plus, l'établissement d'une symbiose réussie exige que les deux partenaires symbiotiques (plante + Rhizobium) soient compatibles tout au long du processus de développement symbiotique. Cependant, des incompatibilités surviennent fréquemment, de sorte qu'une souche bactérienne est incapable de noduler une plante hôte particulière ou former des nodules incapables de fixer l'azote. Les mécanismes génétiques et moléculaires qui régulent la spécificité symbiotique sont divers et impliquent un large éventail de gènes / signaux hôtes et bactériens avec différents modes d'action [280]. Outre ces exigences, ils doivent pouvoir s'adapter dans un sol selon ses caractéristiques pédologiques, et surtout au niveau de la rhizosphère qui est influencée directement par le génotype végétal et les conditions fortement sélectives et spécifiques du rhizoplan tellurique entourant les racines [275].

Les PGPR favorisent la croissance et le développement des plantes, directement ou indirectement, via divers mécanismes: en libérant des régulateurs de la croissance

végétale (phytohormones) ou d'autres substances biologiquement actives, en modifiant positivement les niveaux endogènes des phytohormones, en améliorant la disponibilité et l'absorption de nutriments par la fixation et la mobilisation, ou en réduisant les effets néfastes de microorganismes pathogènes sur les plantes [20]. En conséquence, une compréhension approfondie des mécanismes utilisés par les PGPR est impérative pour exploiter pleinement leur potentiel dans les systèmes agricoles, et l'avènement de nouvelles technologies pour l'étude des différentes interactions microbiennes dans la rhizosphère ne peut que garantir une meilleure analyse de ces processus, afin de faciliter la réussite de leur application, sur terrain et dans les conditions pratiques, qui reste comme ultime objectif.

## **2. DETECTION ET QUANTIFICATION DE LA MALADIE**

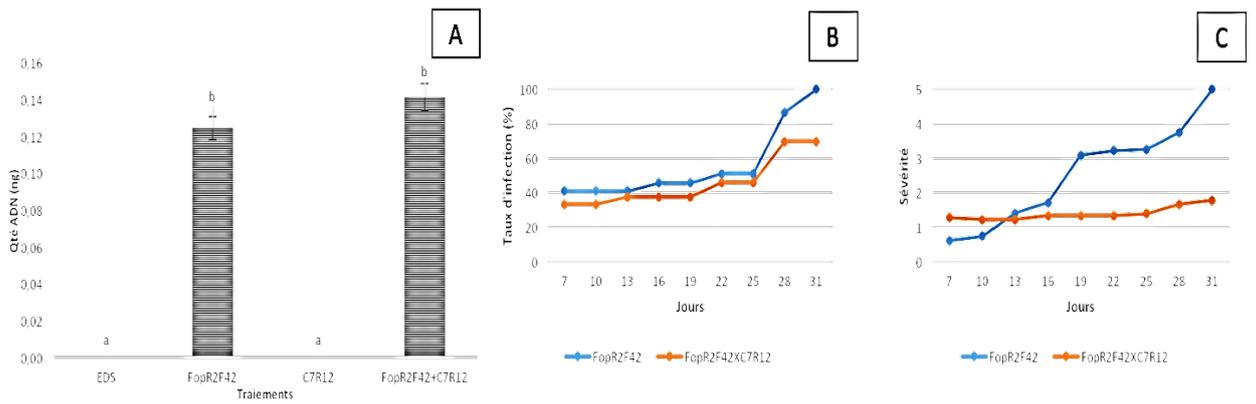
### **2.1. Quantification de Fop**

D'après les résultats obtenus, nous constatons l'effet de biocontrôle est considérable avec la souche C7R12, marqué par une réduction importante de la maladie (T.I : 30,16%, sévérité : 35,4%). Toutefois, la bactérisation n'a eu aucun effet sur la quantité d'ADN de FopR2F42 détectée au niveau du collet des plants infectés (FopR2F42 : 0,12 ng ; FopR2F42 X Pf C7R12 : 0,14 ng).

Les témoins négatifs, sans pathogène, (EDS et C7R12), confirment la pureté des échantillons utilisés avec des valeurs nulles en ADN de FopR2F42 (Figure III.21).

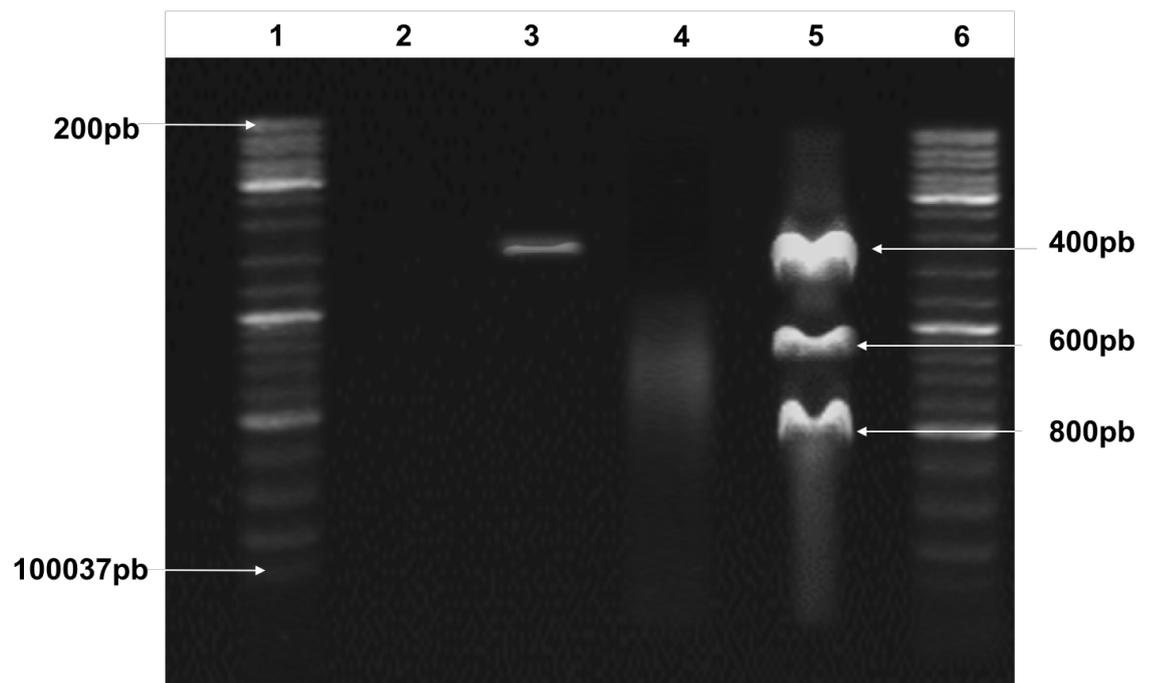
### **2.2. Amplification des gènes *nod***

Après amplification PCR, le fragment génétique NodA-NodJ de la souche Rhizobienne est de 400 pb, et le fragment NodL-NodD varie de 400 à 800 pb ; alors que chez la souche de référence (Rlv 3841,) chacun des deux fragments font de 4000 à 4500 pb (Figure III.22).



**Figure III.21 : A :** Quantités d'ADN (ng) de FopR2F42 présente au niveau du collet des traitements (EDS, FopR2F42, FopR2F42 X C7R12 et C7R12). **B :** Taux d'infection (%) des traitements bactérisés et non bactérisés. **C :** Sévérité des symptômes des traitements bactérisés et non bactérisés.

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de deux groupes homogènes (a et b).



**Figure III.22 :** Amplification des fragments NodL-NodD et NodA-NodJ

1 et 6 : Marqueur de taille ; 2 : Contrôle ; 3 : NodA-NodJ ; 4 : Contrôle ; 5 : NodL-NodD.

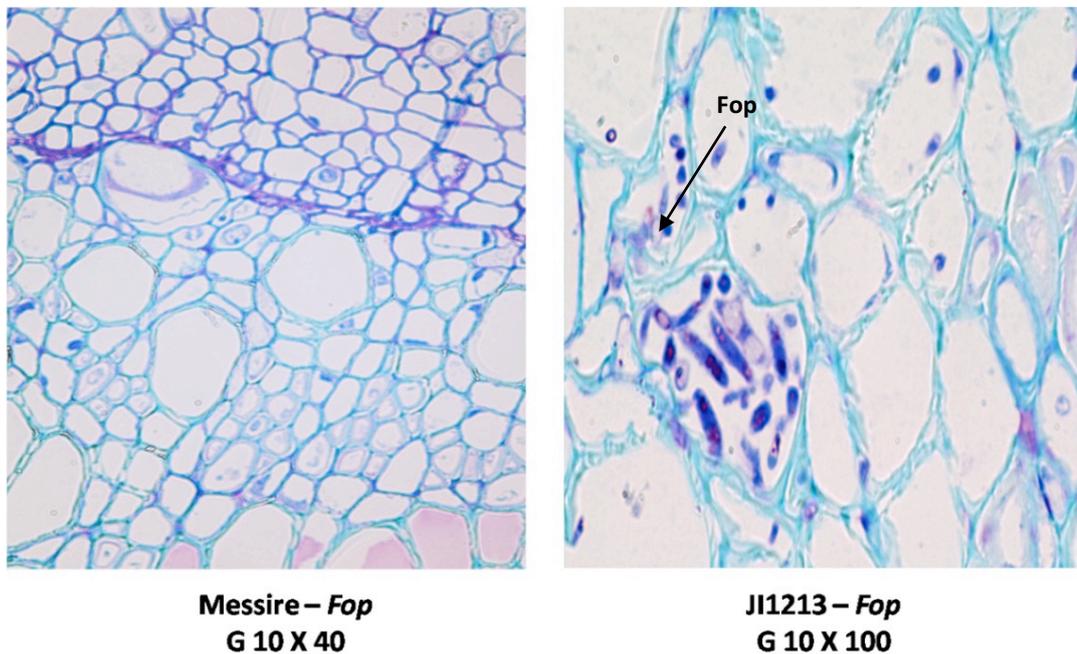
## 2.3. Détection des métabolites secondaires

### 2.3.1. Détection histologique

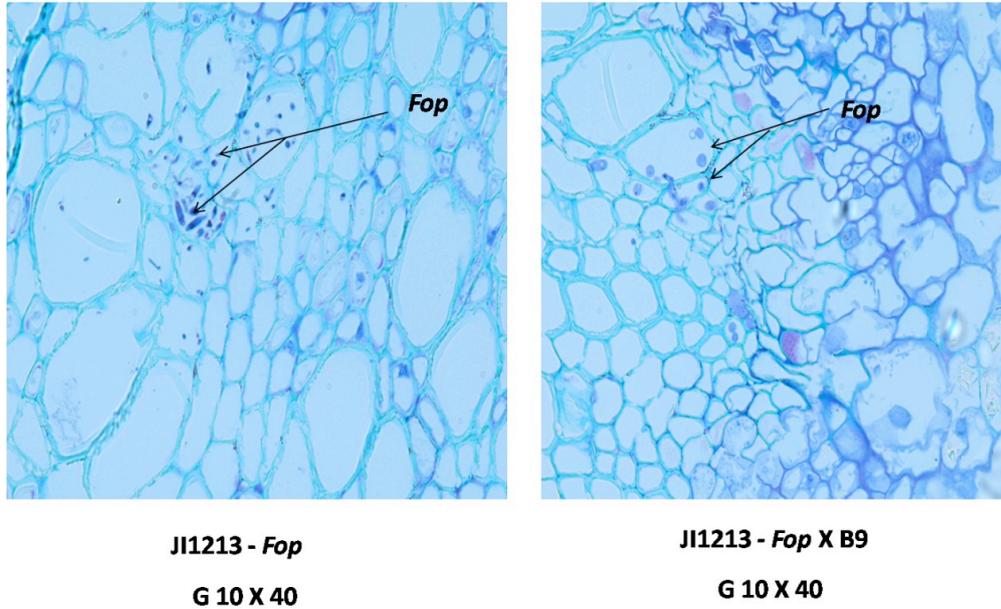
D'après les résultats (Figures III.23, III.24 et III.25), en comparant le génotype sensible (JI1213) au génotype partiellement résistant (Messire), nous remarquons que les racines du génotype sensible ont été largement colonisées par le champignon, au niveau

de l'exoderme, des cellules épidermiques, arrivant même au cortex et au niveau du système vasculaire. Pour le génotype partiellement résistant, le champignon a été observé dans l'exoderme des cellules épidermiques, du cortex et du péricycle. En revanche, l'agent pathogène bien qu'il a pu atteindre les vaisseaux du xylème, son intensité de colonisation semble nettement inférieure à celle observée chez le génotype sensible (Figure III.23).

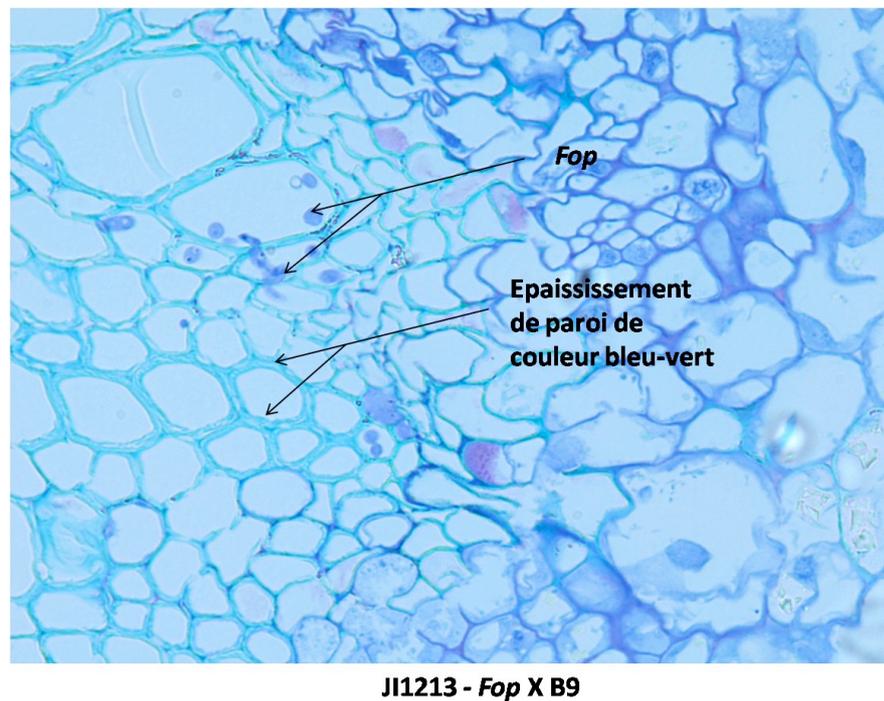
Dans le cas de la bactérisation du génotype sensible (JI1213), avec *Pseudomonas fluorescens* B9 et B32 en interaction avec l'isolat fongique phytopathogène Fop R2F42, nous constatons une diminution considérable de la colonisation des tissus racinaires par ce champignon (Figure III.24). Dans cette dernière situation, il y a la formation d'un épaissement de la paroi cellulaire végétale, qui apparaît de couleur bleu-vert après coloration au Toluidine blue (TBO) (Figure III.25). Donc, la présence des souches B9 et B32 ont induit un effet antagoniste efficace vis-à-vis de l'agent pathogène (Fop), s'exprimant par une diminution considérable de son intensité au niveau des tissus, de façon plus prononcée chez le génotype sensible. Globalement il n'y a pas de différence notable entre les effets antagonistes des deux souches bactérienne B9 et B32.



**Figure III.23:** Coupes transversales des racines du génotype Messire et JI1213 infectés avec Fop R2F42, colorées avec TBO.



**Figure III.24:** Coupes transversales des racines du génotype sensible JI1213 infectés avec Fop R2F42 en présence et en absence de la bactérie PfB9, colorées avec TBO.



**Figure III.25:** Coupe transversale de la racine du génotype sensible JI1213 infectés avec Fop R2F42 en présence de la bactérie PfB9, colorées avec TBO.

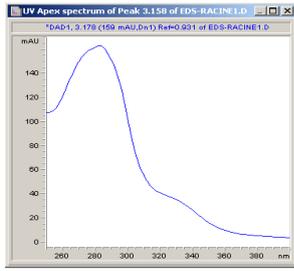
### 2.3.2. Recherche des métabolites secondaires

Les chromatogrammes HPLC des extraits organiques des différents traitements étudiés (EDS, FopR2F42, FopR2F42 X C7R12 et C7R12) chez le génotype « Alexandra », ont mis en évidence huit principaux pics correspondant à des molécules flavonoïdes et acides phénoliques (Figure III.26).

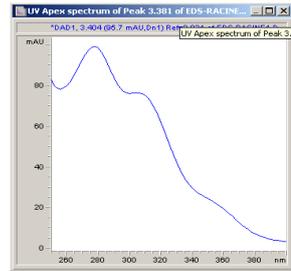
D'après nos résultats, nous constatons que l'effet de phytostimulation et de biocontrôle de la souche bactérienne Pf C7R12, est accompagné par une modification quantitative des polyphénols (Figures III.27 et III.28).

L'effet de phytostimulation est observé chez les traitements bactérisés par une amélioration de la biomasse par rapport aux témoins sains (EDS) (Figure III.27 B). A titre d'exemple la biomasse fraîche de la partie souterraine du traitement bactérisé (C7R12) a atteint 0,467g, alors que chez le témoin sain (EDS) est de 0,290 g, soit un gain de 61,03 %. Parallèlement à cette stimulation de la croissance végétale, nous constatons une diminution des composés flavonones et des acides phénoliques (acides hydroxycinnamique et triméthylebenzoïque), et l'augmentation des composés de type flavone et isoflavone (Figure III.27 A).

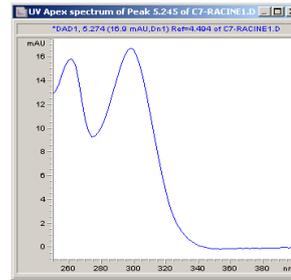
Nous remarquons également un effet de biocontrôle exercé par la souche C7R12, qui s'est traduit par une diminution considérable du taux d'infection et de la sévérité de la maladie, tout en augmentant les biomasses des traitements bactérisés et inoculés par le pathogène (Figure III.28 B, C et D). Le taux d'infection a marqué une stagnation au seuil de 69,84% tout en ayant des symptômes préliminaires du niveau 1,77 au 31<sup>ème</sup> jour chez FopR2F42 X C7R12, alors que chez le témoin non bactérisés (FopR2F42), l'évolution de l'infection était brusque, rapide et maximale (100%), accompagnée aussi du maximum de sévérité (niveau 5). Dans ces traitements, la biomasse végétale enregistrée était beaucoup plus faible par rapport aux traitements bactérisés (Ex : un gain de 92,92% a été enregistré en poids frais de la partie souterraine chez l'interaction FopR2F42 X C7R12). L'effet de biocontrôle, quant à lui, est accompagné par une diminution des composés flavonones, isoflavone et de l'acide triméthylebenzoïque, et l'augmentation des flavones et de l'acide phénolique hydroxycinnamique (Figure III.28 A).



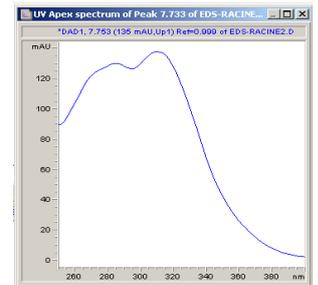
1) Flavonone  
3,098 ≥ T ≥ 3,336



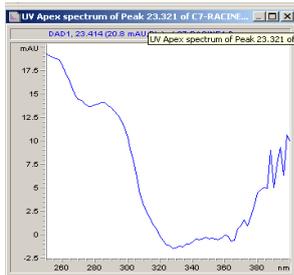
2) Flavonone  
3,285 ≥ T ≥ 3,684



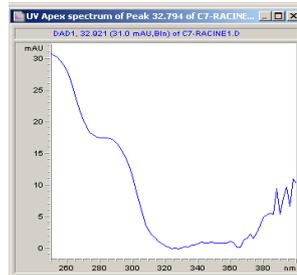
3) Flavone  
5,137 ≥ T ≥ 5,627



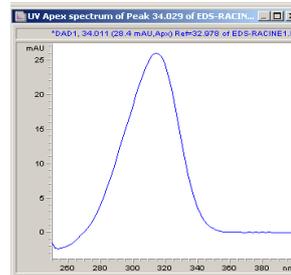
4) Flavonone  
6,974 ≥ T ≥ 7,882



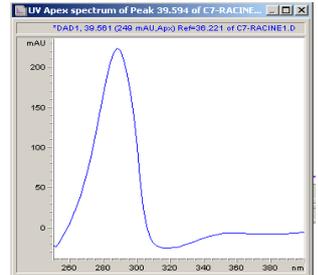
5) Isoflavone  
23,019 T ≥ 23,562



6) Isoflavone  
32,297 T ≥ 33,024

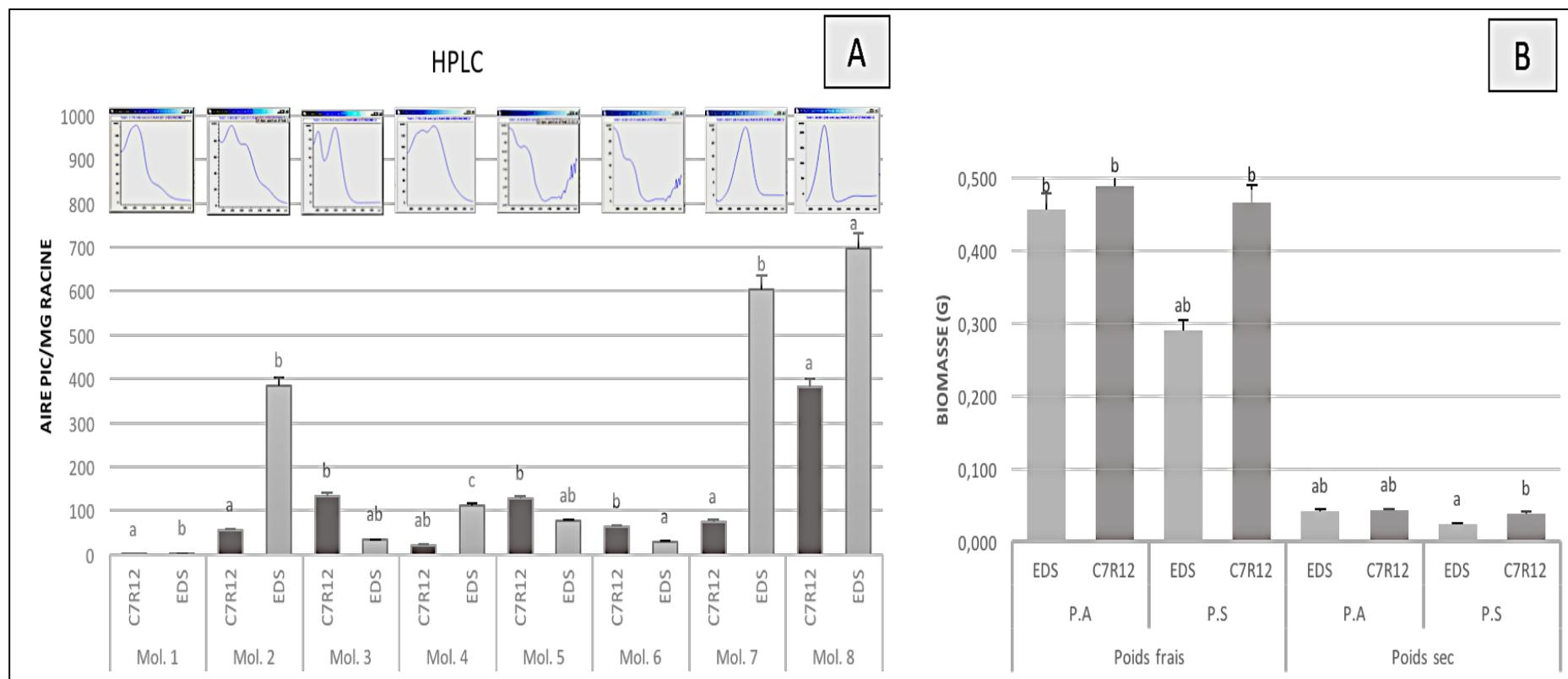


7) Acide  
Hydroxycinnami  
que  
33,545 T ≥ 34,912



8) Acide  
Triméthylbenzoïque  
(A. gallique)  
39,398 T ≥ 39,866

**Figure III.26** : Huit pics révélés par l'HPLC à partir des échantillons étudiés (FopR2F42, FopR2F42 X C7R12, C7R12 et EDS)

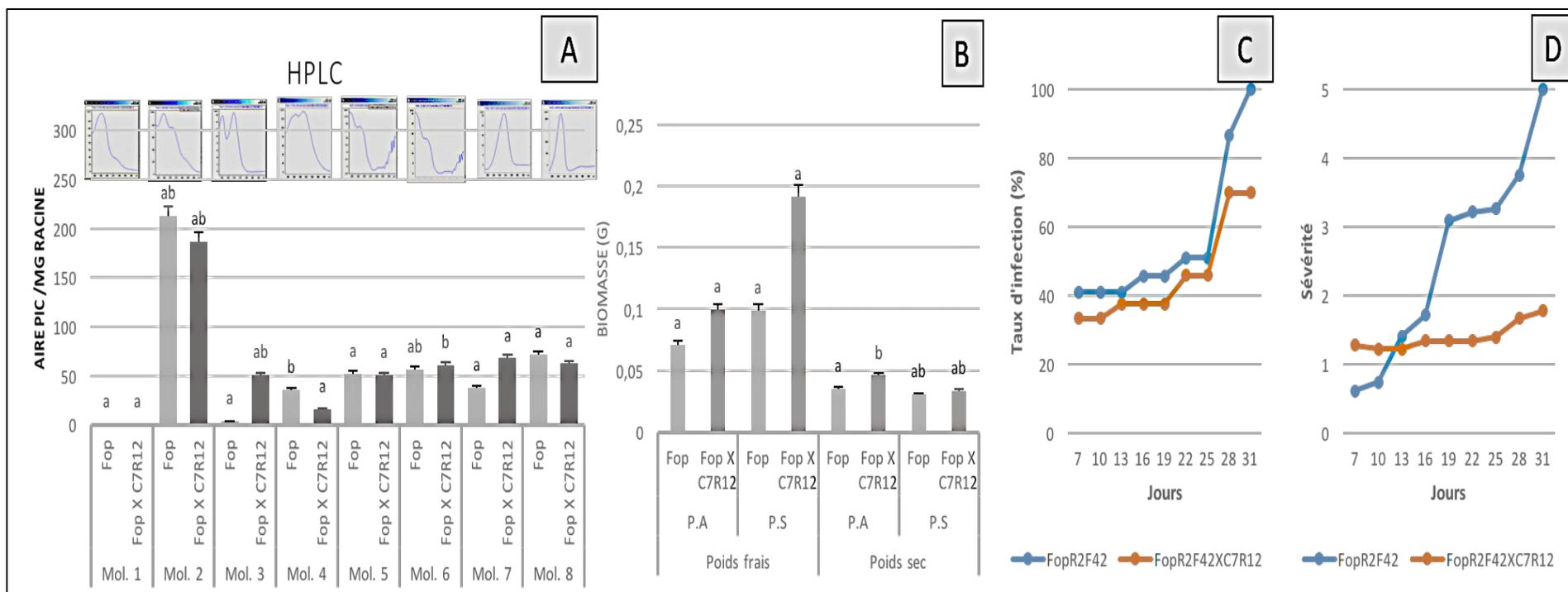


**Figure III.27 : A :** Quantification des polyphénols par HPLC chez les traitements bactérisés (C7R12) et non bactérisés (EDS).

**B :** Effet de phytostimulation de la souche C7R12.

**Mol.1, Mol.2 et Mol.4 :** Flavonones ; **Mol.3 :** Flavone ; **Mol.5 et Mol.6 :** Isoflavones ; **Mol.7 :** Acide Hydroxycinnamique ; **Mol.8 :** Acide Triméthylbenzoïque.

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de trois groupes homogènes, dont 2 groupes individuels et 1 groupe intermédiaire (a, b et ab).



**Figure III.28 :** **A :** Quantification des polyphénols par HPLC chez les traitements FopR2F42 et FopR2F42 X C7R12. **B :** Effet de phytostimulation de la souche C7R12. **C :** Taux d'infection (%) des traitements bactérisés et non bactérisés. **D :** Sévérité des symptômes des traitements bactérisés et non bactérisés.

**Mol.1, Mol.2 et Mol.4 :** Flavonones ; **Mol.3 :** Flavone ; **Mol.5 et Mol.6** Isoflavones ; **Mol.7 :** Acide Hydroxycinnamique ; **Mol.8 :** Acide Triméthylbenzoïque.

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de trois groupes homogènes dont 2 groupes individuels et 1 groupe intermédiaire (a, b et ab).

### 2.3.3. Effets des composés phénoliques sur Fop

Les tests *in vitro*, des acides phénoliques utilisés (caféique, vanillique, p-coumarique et hydrocinnamique) vis-à-vis de Fop R2F42, ont révélé un effet inhibiteur sur sa croissance mycélienne, avec des intensités variables selon les concentrations appliquées (100, 50  $\mu$ M) (Tableau III.2).

D'après les résultats obtenus (Tableau III.2), à l'exception de l'acide vanillique, les autres acides phénoliques testés induisent l'inhibition de la croissance mycélienne de façon plus importante à 50  $\mu$ M qu'à 100  $\mu$ M. Le taux d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec l'acide hydroxycinnamique (35,63%), alors que le plus faible est avec l'acide vanillique à 50  $\mu$ M (14,47%) et qui augmente par la suite à 100  $\mu$ M (20,87%).

**Tableau III.2 :** Taux d'inhibition (%) de la croissance mycélienne de FopR2F42 avec les acides phénoliques (50  $\mu$ M et 100  $\mu$ M) sur milieu MMP.

Acides phénoliques	Taux d'inhibition (%)	Taux d'inhibition (%)
	(50 $\mu$ M)	(100 $\mu$ M)
A. Coumarique	25,48 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	19,66 $\pm$ 0,06 <sup>ab</sup>
A. Hydroxycinnamique	35,63 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	14,56 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
A. Caféique	27,00 $\pm$ 0,23 <sup>ab</sup>	21,36 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>
A. Vanillique	14,47 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	20,87 $\pm$ 0,05 <sup>ab</sup>

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de trois groupes homogènes dont 2 groupes individuels et 1 groupe intermédiaire (a, b et ab).

## 2.4. Discussion

Les résultats obtenus, à partir de la PCR quantitative, ont montré que la bactérisation n'a eu aucun effet sur la quantité d'ADN de FopR2F42 détecté au niveau du collet, malgré une diminution importante de la maladie en réduisant son taux d'infection et sa sévérité (Figure III.22). Dans ce cas, le mécanisme qui peut expliquer cette situation peut être l'activation et l'induction de la résistance systémique des plants de pois, par la souche rhizobactérienne Pf C7R12. Selon Jain et al. [457], les PGPR induisent une forme de résistance indirecte, qui est la résistance systémique par des modifications physiques et chimiques chez les plantes, et comprennent : (1) la promotion de la croissance, (2) la

tolérance physiologique, (3) l'induction du renforcement de la paroi cellulaire et (4) l'augmentation de la production des phytoalexines, d'enzymes de défense, d'antioxydants et de la modulation des phénols ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Plusieurs souches de *Pseudomonas* peuvent induire cette résistance systémique chez plusieurs plantes contre les champignons, les bactéries et les virus [458, 459, 460].

L'absence de formation de nodules sur les racines des plants bactérisés avec *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, peut-être dû soit aux facteurs environnementaux (cf. : 1.3.), soit aux facteurs génétiques. L'amplification des deux fragments NodL-NodD et NodA-NodJ de la souche utilisée lors de nos expérimentations, dans le but de détecter les gènes de nodulation, nous a montré des bandes de tailles fortement inférieures à celle du profil génétique de la souche référence Rlv 3841. Cela peut être due à la perte du plasmide pRL10 ou une grande partie de celui-ci, ce qui expliquera éventuellement le phénotype non nodulant de cette souche.

Lors d'une relation symbiotique entre des légumineuses et des bactéries fixatrices d'azote, plusieurs incompatibilités surviennent dans les étapes de développement des nodules, de sorte que la réussite et l'efficacité de la fixation de l'azote diffère de manière significative entre les différentes combinaisons plante – bactérie [280, 289, 305, 306, 309]. La spécificité symbiotique résulte des différents signaux émis par la plante et le *Rhizobium*; en tant que tels, les mécanismes de reconnaissance génétiques et moléculaires de la spécificité symbiotique, représentent l'outil le plus important de la formation des nodules et donc de l'efficacité de la fixation d'azote [280].

La souche de référence *R. leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv 3841) est multipartite, son génome, de 7750 kb, est réparti en un chromosome circulaire de 5057 kb et six grands plasmides (pRL12, pRL11, pRL10, pRL9, pRL8 et pRL7). Parmi ces plasmides, pRL10 est le responsable de l'effet symbiotique [461].

Concernant les symptômes internes de la fusariose vasculaire du pois, nous avons observé que tous les tissus racinaires du génotype sensible ont été colonisés par l'agent pathogène Fop, en commençant par les cellules épidermiques, endodermiques, le cortex et jusqu'à au système vasculaire. Cependant, certaines réactions de défense légères ont été observées chez le génotype sensible, dont l'épaississement de la paroi cellulaire au niveau du cylindre central. Ce type de réactions de défense n'étant pas assez efficaces pour bloquer la progression de l'agent pathogène dans les tissus vasculaires. Cependant, le génotype sensible (Jl1213) en interaction avec les souches bactériennes (B9 et B32), a montré un fort épaississement au niveau des parois cellulaires parenchymateuses vasculaires, formant une barrière freinant la progression du pathogène Fop dans le

cylindre central (Figure III.25). Quant au génotype partiellement résistant, des colonies de Fop ont été détectées au niveau des tissus vasculaires, mais à une moindre intensité comparée au génotype sensible sans bactérisation. Seules quelques colonies ont été détectées au niveau du xylème, toutefois un fort épaissement des cellules endodermiques a été observé, tout comme chez les traitements bactérisés en formant une barrière efficace réduisant la colonisation par *F. oxysporum*.

L'épaississement des parois des vaisseaux, chez de nombreuses espèces végétales, est reconnue comme une réaction de défense typique contre *F. oxysporum* [462, 463, 464, 465, 466]. Ce processus peut s'exprimer par trois mécanismes : la lignification, la formation de papilles et/ou l'accumulation des composés (poly) phénoliques et glucidiques [467].

Les résultats chromatographiques (HPLC), des traitements bactérisés et inoculés avec le pathogène (FopR2F42 X Pf C7R12), ont mis en évidence des composés (poly)phénoliques dont trois flavonoïdes (Flavonone, Flavone et Isoflavone) et deux acides phénoliques (A. Hydroxycinnamique et A. Triméthylbenzoïque). Cependant, nous constatons que l'effet de phytostimulation et de biocontrôle de la souche bactérienne Pf C7R12 est accompagné par une modification quantitative de ces composés. Cette expérimentation contribue donc, à notre compréhension de l'un des mécanismes responsables de l'épaississement des parois des vaisseaux des traitements bactérisés, par l'intervention des composés (poly) phénoliques et précisément de type flavonoïde et acide phénoliques.

Chez les plantes, ces composés, cités précédemment sont considérés comme des métabolites secondaires synthétisés par la voie phénylpropanoïde et sont divisés en deux groupes : les phénylpropanoïdes flavonoïdes (flavones, flavonols, flavanols et flavanones) et les phénylpropanoïdes non flavonoïdes (stilbènes, lignans et acides phénoliques) [118]. Le premier groupe comprend près de plus de 100 flavonoïdes présumés identifiés par des approches métabolomiques, pour jouer un rôle dans les mécanismes de résistance contre *Fusarium*. Bon nombre de ces métabolites sont des dérivés glucosidiques du kaempférol et de la quercétine, appartenant à la classe des flavonols. De plus, plusieurs composés des classes flavanol, flavanone (naringénine), flavone (apigénine et vitexine) et anthocyanes sont également mis en évidence [115].

Le rôle des flavonoïdes et des acides phénoliques dans la défense des plantes a fait l'objet de nombreuses études [114, 115, 117, 118, 468]. La plupart de ces composés sont bioactifs et contribuent aux mécanismes de défense contre les stress abiotiques et biotiques [119, 120] et jouent un rôle important dans la régulation et la signalisation

physiologique [121]. Dans ce contexte, notre expérimentation sur l'évaluation *in vitro* de l'influence des composés phénoliques sur la croissance de Fop ne fait que confirmer ce genre d'action, en démontrant leur inhibition sur la croissance mycélienne de l'agent pathogène FopR2F42. Les études *in vitro* réalisées par Atanasova-Pénichon et *al.* [118], montrent que l'effet inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* est plus faible par rapport à celui des acides phénoliques.

## DISCUSSION GÉNÉRALE

Les ressources microbiennes telluriques sont reconnues par leurs rôles indispensables et moteurs dans la fertilité des sols, le maintien et l'amélioration de l'équilibre des caractéristiques pédologiques. Ainsi le sol est fortement fragilisé, ces dernières années, par une agriculture intensive à outrance de plus en plus exigeante en intrants chimiques, que ce soit pour la fertilisation ou la protection phytosanitaire. Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR), un groupe diversifié de bactéries du sol, affecte considérablement la croissance et le développement des plantes. La productivité agricole repose sur les fondements de la diversité microbienne du sol et, ces dernières années, les PGPR sont devenus un outil important et prometteur, pouvant intégrer les pratiques de l'agriculture durable, orientation actuelle pour la sauvegarde et la restauration des sols agricoles. Les PGPR interagissent de manière phytobénéfique pour la croissance des plantes, directement ou indirectement. En plus de constituer une voie attrayante sur le plan économique et écologique pour augmenter l'apport en éléments nutritifs et se protéger contre les agents pathogènes du sol, les PGPR sont parmi les principaux acteurs des efforts visant à préserver la fertilité des sols [20]. Plusieurs études sur l'isolement, l'identification et l'application des PGPR en tant que méthode alternative d'utilisation de produits chimiques ont été rapportées [47, 275, 469].

Notre étude s'est intéressée à mettre en évidence les effets de biocontrôle et de phytostimulation de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rizobium leguminosarum* bv. *viceae* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de pois. A travers nos expérimentations, *in vitro* et *in situ*, il nous a été possible de constater l'impact des potentialités rhizobactériennes et l'expression des effets positifs recherchés. En effet, les souches rhizobactériennes étudiées, inhibent considérablement la croissance de l'agent pathogène, tout en réduisant le taux d'infection et de la sévérité de la maladie. Cependant, les effets phytobénéfiques sont d'autant plus important, lors de la coinoculation (*Pseudomonas* + *Rhizobiums*).

Les *Pseudomonas* fluorescents et les *Rhizobiums* spp., sont considérées comme faisant partie des groupes les plus prometteurs dans la biostimulation et la bioprotection des plantes [142, 47, 461]. La production de métabolites antifongiques, l'induction de la résistance systémique des plantes, ainsi que leur capacité de concurrencer efficacement les autres microorganismes du sol sont considérées comme des préalables pour une performance optimale de ces agents de lutte biologique [108].

La souche de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, utilisée dans notre expérimentation, a montré un effet phytobénéfique positif, bien qu'elle n'ait pas produit de nodules. Les membres du genre *Rhizobium* contiennent de manière caractéristique un

génomique multipartite avec plusieurs grands plasmides, qui hébergent des gènes de résistance aux antibiotiques, de propriétés symbiotiques ou de capacités métaboliques spécifiques, conférant d'autres propriétés adaptatives leur permettant de se développer aisément dans diverses conditions écologiques [470]. L'organisation génomique multipartite reflète probablement la nécessité d'un vaste inventaire de gènes afin de maximiser leur croissance et leur survie dans l'environnement complexe du sol, ainsi que des exigences génétiques supplémentaires pour la physiologie des bactéroïdes imposées par l'environnement hôte de la plante [471]. Les *Rhizobiaceae* associées aux plantes ont des génomes plus grands que ceux non associées aux plantes, avec, respectivement, 6,81 Mo contre 4,47 Mo, [472]. De telles études pourraient aider à définir ce que l'on a appelé le « symbiome », c'est-à-dire les gènes essentiels requis par tous les rhizobia pour la nodulation et la fixation de l'azote [473]. Cependant, la conclusion qui se dégage de ces rapports est que le concept de symbiome est encore difficile à définir [461].

Il semble qu'il n'y ait pas un seul symbiome central, ce qui pourrait refléter les différentes stratégies développées par les rhizobia pour interagir avec succès avec les hôtes de légumineuses correspondants. Ainsi, la disponibilité de séquences génomiques rhizobiennes complètes et entièrement annotées est un outil précieux pour affiner cette analyse et mieux comprendre ces stratégies [461].

Les résultats obtenus par qPCR, n'ont montré aucune différence quantitative de FopR2F42 entre les traitements bactérisés et non bactérisés, malgré la nette réduction des symptômes de la maladie chez les plantes bactérisés. Cet effet peut être lié à la résistance systémique induite, qui représente la forme d'antagonisme la plus indirecte [6]. Les PGPR peuvent améliorer la défense des plantes, grâce à l'induction de la synthèse de molécules liées à leur défense. L'épaississement physique, des parois cellulaires des plantes provoqué par les PGPR, contribue à la résistance induite via divers mécanismes qui impliquent la lignification, le dépôt de callosités et l'accumulation de substances antimicrobiennes de faible poids moléculaire (phytoalexines, composés phénoliques) et la synthèse de chitinases, glucanases, peroxydases et autres protéines liées à la pathogenèse (PR) [6]. Plusieurs rhizobactéries, inhibent les agents phytopathogènes telluriques des légumineuses en produisant des sidérophores, des enzymes hydrolytiques, des antibiotiques et du cyanure d'hydrogène [271]. *Pseudomonas* spp. fluorescents produisent de la phénazine [474], du phloroglucinol [475] et de la pyrrolnitrine [476].

Notre étude histologique a révélé un épaississement des parois cellulaires du génotype de pois sensible bactérisé. L'extraction, l'identification et la quantification des métabolites secondaires par HPLC, a mis en évidence des composés de type phénolique

(flavonoïdes et acides phénoliques). Le principal mécanisme d'action des flavonoïdes, est liée à leurs propriétés antioxydantes [477, 478], par la prévention ou la désactivation des espèces réactives de l'oxygène (ROS), générées à la fois par l'agent pathogène et par la plante au cours de l'infection. Les autres rôles sont associés à la défense des plantes, par le renforcement des parois cellulaires formant une barrière aux agents pathogènes [114, 468], ainsi que par l'inhibition de l'activité enzymatique de dégradation de la paroi cellulaire végétale exercée par les champignons [114, 468]. L'étude *in vitro* a mis en évidence l'activité inhibitrice de certains acides phénoliques vis-à-vis de la croissance du pathogène *Fop*. Selon Atanasova-Pénichon et *al.* [118], les acides phénoliques ont une meilleure activité inhibitrice sur la croissance mycélienne de *Fusarium* que les flavonoïdes.

D'autres études ont également mis l'hypothèse que les flavonoïdes interagissent directement avec le métabolisme secondaire des champignons. Il a été démontré que les flavonoïdes exercent un effet inhibiteur sur la production de mycotoxines : aflatoxine [479, 480] et patuline [481]. Selon Takahashi-Ando et *al.* [482], les flavonoïdes de type flavones empêchent la conversion du trichodiène (premier intermédiaire chimique dans la biosynthèse du trichothécène) aux trichothécènes oxygénés [115]. L'étude de Bollina et Kushalappa [483], a montré que d'autres flavonoïdes (naringénine), supprimaient complètement la production de trichothécène de *F. graminearum* sur un milieu artificiel.

Plusieurs PGPR synthétisent divers types de métabolites qui peuvent exercer des activités suppressives vis-à-vis de plusieurs agents phytopathogènes. Ces métabolites doivent être explorés davantage car ces souches pourront présenter une gamme d'hôtes plus large, et seront beaucoup plus efficaces à grande échelle avec plusieurs agents phytopathogènes. L'utilisation des métabolites issus de PGPR pour développer des bioformulations est encore au stade de développement. Cela pourrait être encore meilleur avec une approche multidisciplinaire, rassemblant les outils métabolomiques, moléculaires et bioinformatiques pour des bioproduits futurs à base de PGPR.

## CONCLUSION

De nombreuses études ont rapporté et proposent l'utilisation des PGPR dans les pratiques agronomiques, pouvant assurer une efficacité durable, comme une solution alternative ou complémentaire aux intrants chimiques [94, 253, 484, 485]. Les PGPR peuvent contrôler les maladies des cultures par leurs actions directes et indirectes sur les agents phytopathogènes, en stimulant les réactions de défense des végétaux et/ou en produisant des métabolites secondaires, antimicrobiens et/ou d'enzymes hydrolytiques et/ou par compétition trophique.

Les travaux de cette étude, réalisés avec des souches de *Pseudomonas fluorescens* et de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, ont mis en évidence leurs potentialités dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire du pois et sa phytostimulation. En effet, la bactérisation a induit une réduction significative de l'infection et sa sévérité, tout en augmentant la biomasse végétale.

A travers les essais *in vitro*, les effets d'antagonisme des rhizobactéries à l'encontre de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp *pisi* (Fop) sont notables sur son développement. Les taux d'inhibition sont significatifs, allant jusqu'à 65,37% sur la croissance mycélienne, 93,98% sur la germination conidienne et 91,21% sur l'élongation du tube germinatif. Ces essais ont montré que les mécanismes d'inhibition exercés par les rhizobactéries ne se limitent pas aux sidérophores, mais il peut y avoir l'implication d'autres métabolites inhibiteurs aux effets antifongiques.

L'application de la bactérisation *in situ*, en interaction avec trois génotypes de pois, confirme davantage à la fois, les actions phytostimulantes et antagonistes des rhizobactéries testées vis-à-vis de l'agent fusarien Fop. Les résultats montrent que la gravité de la maladie atteint chez les témoins malades des indices allant jusqu'au maximum de l'échelle, soit le niveau 5 ; alors que chez les traitements bactérisés est souvent basse n'excédant pas dans les cas les plus malades le niveau 3. Les actions de biocontrôle sont plus remarquables avec la combinaison *Pseudomonas fluorescens* + *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* où les niveaux sont de 1,56 à 2,53. Une augmentation considérable des biomasses végétales a été notée chez des traitements bactérisés, pouvant atteindre, en biomasse sèche racinaire, 30 fois le poids du témoin.

Les suivis évolutifs de la maladie, à travers les mensurations de l'AUDPC, montrent que le génotype de pois P21 (1201,05 à 2282,36) est le plus sensible à la fusariose vasculaire. Les valeurs basses en AUDPC notées chez le génotype Kelvedon

Wonder Peas (504,705 à 977,525) permettent de le considérer comme le plus résistant à cette trachémycose.

La souche *Rhizobium* Rlv a montré un effet de nodulation négatif ; l'amplification par PCR des gènes nodulant (NodL-NodD et NodA-NodJ) a révélé des tailles inférieures à celles de la souche de référence (Rlv3841). Il est donc probable que cette souche ait perdu une grande partie, ou la totalité, de son plasmide responsable de la nodulation, ce qui expliquerai son phénotype non nodulant.

Nos résultats ont également révélé que la réduction des symptômes de la maladie sur les plants bactérisés, ne doit pas être forcément liée à la diminution quantitative de Fop au niveau du collet. Cela suggère que la réduction des symptômes, chez les plants bactérisés, peut être associée à l'induction de la résistance systémique élicitée par Pf C7R12.

L'extraction, l'identification et la quantification des métabolites secondaires confirment la présence de composés phénoliques (flavonoïdes et acides phénoliques), accompagnée d'une variation quantitative avec une augmentation fréquente des flavones lors de la bactérisation. Ces résultats suggèrent que les flavonoïdes (type flavone) sont probablement responsables de l'épaississement des parois cellulaires des vaisseaux chez le génotype de pois sensible, suite à sa bactérisation.

Les composés phénoliques, sont des molécules affichant diverses activités biologiques ayant un impact sur la physiologie et le développement des plantes. Les flavonoïdes participent non seulement à la protection contre les différents stress, mais permettent également des interactions avec d'autres plantes et microorganismes. Auparavant, leur rôle était principalement expliqué par leurs propriétés antioxydantes ; Cependant, d'autres travaux les considèrent, également, comme molécules de régulation et de signalisation [117].

Parmi la myriade en microorganismes telluriques, les rhizobactéries sont reconnues comme phytobénéfiques et peuvent intégrer les pratiques agricoles durables. Ce groupe de bactéries, peut améliorer le développement des plantes et réduire l'apparition de maladies. Les mécanismes par lesquels ces microorganismes exercent des effets phytobénéfiques, réciproques avec leurs plantes hôtes, ne sont pas complètement élucidés. Comme préalable, ces rhizobactéries doivent être douées d'une compétence rhizosphérique, pour exercer leurs compétences sur la plante et se caractériser par des facultés adaptatives, notamment au type de sol, au génotype végétal et aux conditions de conduite des cultures. Il est donc conseillé d'étudier les effets phytobénéfiques de nos rhizobactéries sur nos génotypes dans différents substrats, pour

mieux favoriser la nodulation des légumineuses. Les faits actuels suggèrent l'existence de mécanismes d'association très spécifiques et complexes entre plantes / PGPR / pathogène. L'application de ces microorganismes est subordonnée à l'approfondissement de nos connaissances sur les aspects moléculaires en relation avec leurs mécanismes, garantissant leur efficacité et leur stabilité en association avec les plantes et à l'encontre des agents phytopathogènes. La réussite d'une bioformulation est mesurée en termes de potentiel d'inoculum, de durée de conservation, de facilité d'application et de durabilité des effets escomptés.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. **Mishra J. and Arora N.K., (2018)**. Secondary metabolites of fluorescent pseudomonads in biocontrol of phytopathogens for sustainable agriculture. In *Applied Soil Ecology* 125 (pp 35–45).
- [2]. **Strange, R.N., Scott, P.R., (2005)**. Plant disease : a threat to global food security. *Ann. Rev. Phytopatho* 43, 1–660.
- [3]. **FAOSTAT. (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database) (2015)**. <http://faostat.fao.org>.
- [4]. **Dubey, N.K., Kumar, A., Singh, P., Shukla, R., (2010)**. Exploitation of natural compounds in eco-friendly management of plant pest. In: Gisi, U., Chet, I., Gullino, M.L. (Eds.), *Recent Developments in Managements of Plant Diseases Vol. 1*. Springer, New York, pp. 181–198.
- [5]. **Aktar, W., Sengupta, D., Chowdhury, A. (2009)**. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip. Toxicol.* 2 (1), 1–12.
- [6]. **Mishra R.K., Bohra A., Kamaal N., Kumar K., Gandhi K., Sujayanand G.K., Saabale P. R., Satheesh Naik S.J., Sarma B.K., Kumar D., Mishra M., Srivastava D.K. and Singh N.P. (2018)**. Utilization of biopesticides as sustainable solutions for management of pests in legume crops: achievements and prospects. In *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28 :3.
- [7]. **Guillaumin, J.J., Chillali, M., Ighili-Idder, H., Mohammed, C., Escarmant, B.L., and Botton, (1998)**. Variation in the ITS and IGS regions of ribosomal DNA among the biological species of European *Armillaria*, *Mycol. Res.*, 10(2), 533-540.
- [8]. **Chet, I., (1993)**. *Biotechnology in plant disease control*. Wiley et Sons, New York, 373 p.
- [9]. **Castillejo M.A., Bani M., Rubiales D. (2015)**. Understanding pea resistance mechanisms in response to *Fusarium oxysporum* through proteomic analysis. In *Phytochemistry* 115 (pp 44–58).
- [10]. **Agrios, G.N, (2005)**. *Plant pathology*. In 5th edn Elsevier Academic Press, Burlington, Mass, 952p.
- [11]. **Williams A.H., Sharma M., Thatcher L.F., Azam S., Hane J.K., Sperschneider J., Kidd B.N., Anderson J.B., Ghosh J., Garg G., Lichtenzweig J., Kistler H.C., Shea T., Young S., Buck S.A.G, Kamphuis L.G., Saxena R., Pande S., Ma L.J., Varshney R.K. and Singh K.B. (2016)**. Comparative genomics and prediction of conditionally dispensable sequences in legume-infecting *Fusarium oxysporum* formae speciales facilitates identification of candidate effectors. IN *BMC Genomics* 17 :191.
- [12]. **Hiltner, L., (1904)**. Über neue erfahrungen und probleme auf dem gebiete der bod-enbakteriologie. *Arbeiten der D. L. G.* 98, 59–78.
- [13]. **Kloepper, J. W., and Schroth, M. N. (1978)**. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *Proceedings of the 4th international conference on plant pathogenic bacteria* (pp. 879e882). Tours : Gilbert-Clarey.
- [14]. **Antoun, H. and Kloepper, J.W. (2001)**. Plant growth promoting rhizo- bacteria. In : Brenner S and Miller JH (eds) *Encyclopedia of Genetics*. Academic, New York, pp 1477-1480.
- [15]. **Weller, D. M., et Thomashow, L. S., (1994)**. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere. In F. O’Gara, D. N. Dowling, & B. Boesten (Eds.), *Molecular ecology of rhizosphere microorganisms biotechnology and the release of GMOs* (pp. 1e18). Weinheim : VCH Verlagsgesellschaft.
- [16]. **Goswami, D., Thakker, J.N., Dhandhukia, P.C., (2016)**. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) : a review. *Cogent Food Agric.* 2, 1–19.
- [17]. **Graham, P. H., and Vance, C. P. (2003)**. Legumes: Importance and con- straints to greater use. *Plant Physiol.* 131 :872-877.
- [18]. **Benchabane, M., (2005)**. Caractérisation des effets d’antagonisme microbienne et de promotion de la croissance végétale de souche de *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Thèse de Doctorat d’Etat, FSB-UTHB, Alger, 235p.
- [19]. **Podile, A. R., and Kishore, G. K. (2006)**. Plant growth-promoting rhizobacteria. In S. S.

- Gnanamanickam (Ed.), Plant-associated bacteria (pp. 195e230). Netherlands: Springer.
- [20]. **Bishnoi, U., (2015)**. PGPR Interaction : An Ecofriendly Approach Promoting the Sustainable Agriculture System. In *Advances in Botanical Research*, Volume 75. ISSN 0065-2296. (pp. 81-113).
- [21]. **Ouserir, S., (2019)**. Interaction des rhizobactéries symbiotiques et non symbiotiques et effets sur la phytostimulation et la nodulation : cas des *Pseudomonas* spp. fluorescents et *Rhizobiums*. Thèse de Doctorat d'Etat, SNV, Blida, 153p.
- [22]. **Weller D.M., (2007)**. *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens : looking back over 30 years. *Phytopathology* 97 (2), 250–256.
- [23]. **Andrews M., and Andrews M. E., (2017)**. **Specificity in Legume-Rhizobia Symbioses**. *Int. J. Mol. Sci.*, 18, 705; doi :10.3390/ijms18040705
- [24]. **Doyle, J. J., and Luckow, M. A. (2003)**. The rest of the iceberg : Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol.* 131: 900- 910.
- [25]. **FAOSTAT. (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistical Database), (2006)**. Deuxième rapport national sur l'état des ressources phylogénétiques, INRAA. FAO/ONU FA.
- [26]. **Baayen, R.P., O'Donnell, K., Bonants, P.J., Cigelnik, E., Kroon, L.P., Roebroek, E.J., et al. (2000)**. Gene Genealogies and AFLP Analyses in the *Fusarium oxysporum* Complex Identify Monophyletic and Nonmonophyletic Formae Speciales Causing Wilt and Rot Disease. *Phytopathology* ; 90(8) : 891–900.
- [27]. **Leslie J.F., (1993)**. Fungal vegetative compatibility. *Annu Rev Phytopathol.*31(1) : 127–50.
- [28]. **Kraft J.M. and Pflieger F.L., (2001)**. *Compendium of Pea Diseases and Pests*, 2nd Ed., The American Phytopathological Society, St. Paul.
- [29]. **Neumann, S., Xue, A.G., (2003)**. "Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii*", *Canadian Journal of Plant Science* 83, 377-379.
- [30]. **Merzoug, A., Belabid, L., Benkada, M.Y., Benfreha, F., et Bayaa, B., (2014)**. "Pea *Fusarium* Wilt Races in Western Algeria", *Plant Protect Sci.*, Vol. 50, No. 2, 70–77.
- [31]. **Infantino A., Kharrat, M., Riccioni L., Coyne C.J., McPhee K.E., Grunwald N.J., (2006)**. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes", *Euphytica* 147, 201-221.
- [32]. **Bani M., (2015)**. "Aproximaciones multidisciplinares incluyendo herramientas histológicas, bioquímicas y moleculares para estudiar los mecanismos de resistencia a marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* en guisante (*Pisum sativum*)", tesis doctoral, Cordoba, 187p.
- [33]. **Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M. N. (1980)**. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, 885e886.
- [34]. **Suslow, T. V., and Schroth, M. N., (1982)**. Rhizobacteria of sugar beets : effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72, 199–206.
- [35]. **Etesami, H., Beattie, G.A., (2017)**. Plant-Microbe Interactions in Adaptation of Agricultural Crops to Abiotic Stress Conditions. In *Probiotics and Plant Health*. Springer, pp. 163–200.
- [36]. **Shrivastava, P., Kumar, R., (2015)**. Soil salinity : a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 123–131.
- [37]. **Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, C.-M., (2009)**. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends Plant Sci.* 14, 1–4.
- [38]. **Etesami H., Maheshwari D.K., (2018)**. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. In *Ecotoxicology and Environmental Safety* 156, 225–246.
- [39]. **Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., Barka, E.A., (2005)**. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 4951–4959.
- [40]. **Glick, B.R., (2010)**. Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol. Adv.* 28, 367–374.
- [41]. **Somers, E., Vanderleyden, J., Srinivasan, M., (2004)**. Rhizosphere bacterial signalling : a

love parade beneath our feet. *Crit. Rev. Microbiol.* 30, 205–240.

[42]. **Antoun, H. and Prevost, D., (2005)**. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In : Siddiqui, Z.A. (Ed.), *PGPR : biocontrol and biofertilization*, Springer, Dordrecht, pp. 1–38.

[43]. **Munees A. and Mulugeta K., (2014)**. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. In *Journal of King Saud University – Science (2014)* 26, 1-20.

[44]. **Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M.L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., Prigent-Combaret, C., (2013)**. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Sci.* 4.

[45]. **Kim, J. and Rees, D. C. (1994)**. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*, 33, 389e397.

[46]. **Zahran, H. H. (2001)**. Rhizobia from wild legumes : diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of Biotechnology*, 91, 143e153.

[47]. **Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K., (2012)**. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) : emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1327–1350.

[48]. **Long, S.R., Rogers, J., Kiss, G.B., Downie, J.A., Oldroyd, G.E.D., (2005)**. Nodulation signaling in legumes requires NSP2, a member of the GRAS family of transcriptional regulators. *Science* 308, 1786–1789.

[49]. **Henson, B. J., Watson, L. E., and Barnum, S. R. (2004)**. The evolutionary history of nitrogen fixation, as assessed by *NifD*. *Journal of Molecular Evolution*, 58, 390e399.

[50]. **Young, J. P. W., Mutch, L. A., Ashford, D. A., Zézé, A., and Mutch, K. E. (2003)**. The molecular evolution of host specificity in the rhizobium-legume symbiosis. In R. Hails, H. C. J. Godfray, & J. Beringer (Eds.), *Genes in the environment* (pp. 245e257). Oxford : Blackwell Science.

[51]. **Adesemoye, A., Torbert, H., and Kloepper, J. (2009)**. Plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microbial Ecology*, 58, 921e929.

[52]. **Vance, C. P., Uhde-Stone, C., and Allan, D. L. (2003)**. Phosphorus acquisition and use : critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 157(3), 423e447.

[53]. **Jeffries, P., Gianinazzi, S., Perotto, S., Turnau, K., and Barea, J. M. (2003)**. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils*, 37, 1e16.

[54]. **Richardson A. E. (2001)**. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 897e906.

[55]. **Rodríguez H., Fraga R., Gonzalez, T., and Bashan Y. (2006)**. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant and Soil*, 287, p. 15-21.

[56]. **Antoun H., Beauchamp C. J., Goussard, N. Chabot, R., and Lalande R., (1998)**. Potential of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* species as plant growth promoting rhizobacteria on non-legumes : effect on radishes (*Raphanus sativus* L.). *Plant and Soil*, 204, 57-67.

[57]. **Cattelan A. J., Hartel P. G., and Fuhrmann J. J. (1999)**. Screening for plant growth promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Science Society of America Journal*, 63, p. 1670-1680.

[58]. **Chabot R., Beauchamp C. J., Kloepper J. W., and Antoun H. (1998)**. Effect of phosphorus on root colonization and growth promotion of maize by bioluminescent mutants of P solubilizing *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*. *Soil Biology & Biochemistry*, 30, p. 1615-1618.

[59]. **Zaidi A., Khan M. S., Ahemad M., and Oves M. (2009)**. Plant growth promotion by phosphate solubilizing bacteria. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 56, p. 263-284.

[60]. **Glick B. R. (2012)**. *Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications*. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica.

[61]. **Tao G. C., Tian S. J., Cai M. Y., and Xie G. H. (2008)**. Phosphate solubilizing and mineralizing abilities of bacteria isolated from soils. *Pedosphere*, 18, p.515-523.

- [62]. **Sharma A., and Johri B. N. (2003).** Growth promoting influence of siderophore-producing *Pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron depriving conditions. *Microbiological Research*, 158, p. 243-248.
- [63]. **Crowley D. E. (2006).** Microbial siderophores in the plant rhizosphere. In L. L. Barton, & J. Abadía (Eds.), *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms* (pp. 169-198). Netherlands: Springer.
- [64]. **Vessey J. K. (2003).** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, p. 571-586.
- [65]. **Boopathi E., and Rao K. S. (1999).** A siderophore from *Pseudomonas putida* type A1 : structural and biological characterization. *Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1435, p. 30-40.
- [66]. **Kuffner M., Puschenreiter, M. Wieshammer, G., Gorfer M., and Sessitsch A., (2008).** Rhizo- sphere bacteria affect growth and metal uptake of heavy metal accumulating willows. *Plant and Soil*, 304, p. 35-44.
- [67]. **Carrillo-Castaneda G., Juarez Munos J., Peralta-Videa J. R., Gomez E., Tiemann, K. J., Duarte-Gardea M., et al. (2002).** Alfalfa growth promotion by bacteria grown under iron limiting conditions. *Advances in Environmental Research*, 6, p. 391-399.
- [68]. **Fuentes-Ramirez L. E., and Caballero-Mellado S., (2005).** Bacterial biofertilizers. In Z. A. Sadiqui (Ed.), *PGPR : Biological control and biofertilization* (pp. 143-172). Dordrecht, The Netherlands : Springer.
- [69]. **Spaepen S., Vanderleyden J., and Remans R., (2007).** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. In F. Uden (Ed.), *FEMS microbiology reviews* (pp. 1-24). New York : Blackwell Publishing Ltd.
- [70]. **Bottini R., Cassan F., and Piccoli P., (2004).** Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65, p. 497-503.
- [71]. **Timmusk S., Nicander B., Granhall U., and Tillberg E., (1999).** Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology & Biochemistry*, 31, p. 1847-1852.
- [72]. **Glick B. R., Penrose D. M., and Li J. D., (1998).** A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190, p. 63-68.
- [73]. **Patten C. L., and Glick B. R., (2002).** Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in develop- ment of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, p. 3795-3801.
- [74]. **Spaepen S., and Vanderleyden J., (2011).** Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(4).
- [75]. **Dodd I. C., Zinovkina N. Y., Safronova V. I., and Belimov A. A., (2010).** Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*, 157, p. 361-379.
- [76]. **Fulchieri M., Lucangeli C. and Bottini R., (1993).** Inoculation with *Azospirillum lipoferum* affects growth and gibberellin status of corn seedling roots. *Plant and Cell Physiology*, 34, p. 1305-1309.
- [77]. **Riefler M., Novak O., Strnad M., and Schmülling T., (2006).** Arabidopsis cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell*, 18, p. 40-54.
- [78]. **Arkhipova, T. N., Prinsen, E., Veselov, S. U., Martinenko, E. V., Melentiev, A. I., and Kudoyarova, G. R. (2007).** Cytokinin producing bacteria enhance plant growth in drying soil. *Plant and Soil*, 292, p. 305-315.
- [79]. **Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U., and Tillberg, E. (1999).** Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. *Soil Biology & Biochemistry*, 31, p. 1847-1852.
- [80]. **Perrig, D., Boiero, M. L., Masciarelli, O. A., Penna, C., Ruiz, O. A., and Cassan, F. D. (2007).** Plant-growth-promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense*, and implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 75, p. 1143-1150.

- [81]. Li, Q., Saleh-Lakha, S., and Glick, B. R. (2005). The effect of native and ACC deaminase-containing *Azospirillum brasilense* Cdl843 on the rooting of carnation cuttings. *Canadian Journal of Microbiology*, 51, p. 511-514.
- [82]. Grichko, V. P., and Glick, B. R. (2001). Flooding tolerance of transgenic tomato plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase controlled by the 35S, rolD or PRB- 1b promoter. *Plant Physiology & Biochemistry*, 39, p. 19-25.
- [83]. Mayak, S., Tirosh, T., and Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology & Biochemistry*, 42(6), p. 565-572.
- [84]. Govindasamy, V., Senthilkumar, M., Gaikwad, K., and Annapurna, K. (2008). Isolation and characterization of ACC deaminase gene from two plant growth-promoting rhizobacteria. *Current Microbiology*, 57, p. 312-317.
- [85]. Ghosh, S., Penterman, J. N., Little, R. D., Chavez, R., and Glick, B. R. (2003). Three newly isolated plant growth-promoting bacilli facilitate the seedling growth of canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, p. 277-281.
- [86]. Duan, J., Miiller, K. M., Charles, T. C., Vesely, S., and Glick, B. R. (2009). 1-Aminocyclopropane-l-carboxylate (ACC) deaminase genes in rhizobia from Southern Saskatchewan. *Microbial Ecology*, 57, p. 423-436.
- [87]. Mayak, S., Tirosh, T., and Glick, B. R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology & Biochemistry*, 42(6), p. 565-572.
- [88]. Lugtenberg, B. J., Chin A-Woeng, T. F., and Bloemberg, G. V. (2002). Microbeeplant interactions : principles and mechanisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81, p. 373-383.
- [89]. Lugtenberg, B., and Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63, p. 541-556.
- [90]. Van Loon, L., Bakker, P. and Pieterse, C. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36, 453–483.
- [91]. Van Loon, L. C. (2007). Plant responses to plant growth-promoting bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119, 243e254.
- [92]. Mazoyon C, Chabot A, Bensaddek L, Alahmad A, Sarazin V, Dubois F, Duclercq J (2018). *Sphingomonas sediminicola* une potentielle rhizobactérie favorisant la croissance des plantes. Poster aux Journées Condorcet 2018, France.
- [93]. Vessey J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255, p. 571-586.
- [94]. Haas, D., Défago, G., (2005). Biocontrol of soil-borne pathogens by fluorescent Pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3 (4), 307–319
- [95]. Yang C. H., and Crowley D. E. (2000). Rhizosphere microbial community structure in relation to root location and plant iron nutritional status. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, p. 345-351.
- [96]. Ongena M., Daayf, F. Jacques, P. Thonart, P. Benhamou, N. Paulitz T. C., et al. (1999). Protection of cucumber against pythium root rot by fluorescent Pseudomonads : predominant role of induced resistance over siderophores and antibiosis. *Plant Pathology*, 48, p. 66-76.
- [97]. Loper J. E., and Henkels M. D. (1999). Utilization of heterologous siderophores enhances levels of iron available to *Pseudomonas putida* in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, p. 5357-5363.
- [98]. Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J., Duan, J., (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119, 329–339.
- [99]. Dowling DN, O’Gara F. (1994). Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. *TIBTECH* 12 : 133 –141.
- [100]. Whipps, J.M., Turnbull, G.A., Morgan, J.A.W., Saunders, J.R. (2001). The Role Of Bacterial Motility In The Survival And Spread Of *Pseudomonas Fluorescens* In Soil And In The Attachment And Colonization Of Wheat Roots. *FEMS Microbiol Ecol*,36 : 21-31
- [101]. Duffy B. (2003). Pathogen self-defense : Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annu. Rev. Phytopathol* 41 : 501-38.

- [102]. **De Bruijn I., de Kock M.J.D., Yang M., de Waard P., van Beek T.A. and Raaijmakers J.M. (2007)**. Genome-based discovery, structure prediction and functional analysis of cyclic lipopeptide anti-biotics in *Pseudomonas* species. *Mol Microbiol* 63 : 417-428.
- [103]. **Raaijmakers, J.M., De Bruijn, I., Nybroe, O., Ongena, M., (2010)**. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas* : more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* 34 (6), 1037–1062.
- [104]. **Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L.M.P., (2012)**. Plant growth-promoting rhizobacteria: their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* 35 (4), 1044–1051.
- [105]. **Maksimov I.V., Abizgildina R.R. and Pusenkova L.I. (2011)**. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (Review). *Appl Biochem Microbiol* 47 : 333-345.
- [106]. **Hill D.S., Stein J.I., Torkewitz N.R., Morse A.M., Howell C.R., Pachla- tko J.P., Becker J.O. and Ligon J.M. (1994)**. Cloning of genes involved in the synthesis of pyrrolnitrin from *Pseudomonas fluorescens* and role of pyrrolnitrin synthesis in biological control of plant disease. *Appl Environ Microbiol* 60 : 78-85.
- [107]. **De Souza J. T., Mazzola M., and Raaijmakers J. M. (2003)**. Conservation of the response regulator gene *gacA* in *Pseudomonas* species. In *Environmental Microbiology*, vol. 5, no. 12, pp. 1328– 1340.
- [108]. **Chin-A-Woeng T.F.C., Bloemberg G.V. and Lugtenberg B.J.J., (2002)**. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. In *New Phytologist* (2003) 157 : 503–523.
- [109]. **Hernandez M.E., Kappler A. and Newman D.K. (2004)**. Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction. *Appl Environ Microbiol* 70 : 921-928.
- [110]. **Riley M.A. and Wertz J.E., (2002)**. Bacteriocins : Evolution, ecology, and application. *Annu. Rev. Microbiol* 56 :117-137.
- [111]. **Riley M. (1993)**. Molecular mechanisms of colicin evolution. *Mol Biol Evol* 10 : 1380-95.
- [112]. **Cascales E., Buchanan S.K., Duché D., Kleantous C., Lloubès R., Postle K., Riley M., Slatin S. and Cavard D. (2007)**. Colicin Biology. *Microbiol Mol Biol Rev* 71 : 158-229.
- [113]. **Abriouel H., Franz C.M., Ben Omar N. and Gálvez A., (2011)**. Diversity and applications of *Bacillus* bacteriocins. *FEMS Microbiol Rev* 35 : p. 201-232.
- [114]. **Treutter, D. (2006)**. Significance of flavonoids in plant resistance : A review. *Environ. Chem. Lett.*, 4, p. 147–157.
- [115]. **Gauthier L., Atanasova-Penichon V., Chéreau S., Richard-Forget F., (2015)**. Metabolomics to decipher the chemical defense of cereals against *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol accumulation. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, 24839–24872.
- [116]. **Bilska K., Stuper-Szablewska K., Kulik T., Busko M., Załuski D., Jurczak S. and Perkowski J., (2018)**. Changes in Phenylpropanoid and Trichothecene Production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* Sensu Stricto via Exposure to Flavonoids. In *Toxins* 10, 110.
- [117]. **Mierziak J., Kostyn K. and Kulma A., (2014)**. Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. In *Molecules*, 19, 16240-16265.
- [118]. **Atanasova-Pénichon V., Barreau C., Richard-Forget F., (2016)**. Antioxidant secondary metabolites in cereals: Potential involvement in resistance to *Fusarium* and mycotoxin accumulation. *Front. Microbiol.*, 7, 566p.
- [119]. **Hamberger B., Ehltling J., Barbazuk B., Douglas C.J., (2006)**. Comparative genomics of the shikimate pathway in *Arabidopsis*, *Populus trichocarpa* and *Oryza sativa*: Shikimate pathway gene family structure and identification of candidates for missing links in phenylalanine biosynthesis. In *Recent Advances in Phytochemistry. Volume 40. Integrative Plant Biochemistry*; Romeo, J.T., Ed.; Elsevier Ltd.: Oxford, UK; pp. 85–113. ISBN 9780080451251.
- [120]. **Maeda H., Dudareva N. (2012)**. The shikimate pathway and aromatic Amino acid biosynthesis in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 63, p. 73–105.
- [121]. **Tohge T., Watanabe M., Hoefgen R., Fernie A.R., (2013)**. Shikimate and Phenylalanine Biosynthesis in the Green Lineage. *Front. Plant Sci.*, 4, 62.

- [122]. Cuevas-Rodríguez E.O., Yousef G.G., García-Saucedo P.a., López-Medina J., Paredes-López O., Lila M.A. (2010). Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in wild and domesticated mexican blackberries (*Rubus* spp.). *J Agric Food Chem.* ; 58 : 7458–7464
- [123]. Boué S., Shih F., Shih B. (2008). Effect of biotic elicitors on enrichment of antioxidant properties and induced iso- flavones in soybean. *J Food Sci.*; 73: H43–H49.
- [124]. Capanoglu E. (2010). The potential of priming in food production. *Trends Food Sci. Technol.* Elsevier Ltd;; 21: 399–407
- [125]. Garcia-Seco D., Zhang Y., Gutierrez-Mañero F.J., Martin C., Ramos-Solano B., (2015). Application of *Pseudomonas fluorescens* to Blackberry under Field Conditions Improves Fruit Quality by Modifying Flavonoid Metabolism. In *LOS ONE* DOI : 10.1371.
- [126]. Petrusa E., Braidot E., Zancani M., Peresson C., Bertolini A., Patui S. and Vianello A., (2013). Plant Flavonoids—Biosynthesis, Transport and Involvement in Stress Responses. *Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14, p. 14950-14973
- [127]. Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance : A review. *Environ. Chem. Lett.*, 4, p. 147–157.
- [128]. Bilska K., Stuper-Szablewska K., Kulik T., Busko M., Załuski D., Jurczak S. and Perkowski J., (2018). Changes in Phenylpropanoid and Trichothecene Production by *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* Sensu Stricto via Exposure to Flavonoids. In *Toxins* 10, 110.
- [129]. Padmavati, M.; Sakthivel, N.; Thara, K.V.; Reddy, A.R. (1997). Differential sensitivity of rice pathogens to growth inhibition by flavonoids. *Phytochemistry*, 46, p. 499–502.
- [130]. Parvez M.M., Tomita-Yokotani K., Fujii Y., Konishi T., Iwashina T., (2004). Effects of quercetin and its seven derivatives on the growth of *Arabidopsis thaliana* and *Neurospora crassa*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 32, p. 631–635.
- [131]. Paczkowski J.E., Mukherjee S., McCreedy A.R., Cong J.P., Aquino C.J., Kim H., Henke B.R., Smith C.D., and Bassler B.L., (2017). Flavonoids Suppress *Pseudomonas aeruginosa* Virulence through Allosteric Inhibition of Quorum-sensing Receptors. In the *Journal of biological chemistry* vol.292, NO.10, pp.4064–4076.
- [132]. Rutherford, S. T., and Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2, a012427
- [133]. Waters C.M., and Bassler B. L., (2005). Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21, p. 319 –346
- [134]. Berg G., Zachow C., Muller H., Philipps J., and Tilcher R., (2013). Next-generation bio-products sowing the seeds of success for sustainable agriculture. *Agronomy*, 3, p. 648-656.
- [135]. Huang X. D., El Alawi Y., Penrose D. M., Glick B. R., and Greenberg B. M., (2004). A multiprocess phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution*, 130, p. 465-476.
- [136]. Narasimhan K., Basheer C., Bajic V. B., and Swarup S., (2003). Enhancement of plant-microbe interactions using a rhizosphere metabolomics driven approach and its application in the removal of polychlorinated biphenyls. *Plant Physiology*, 132, p. 146-153.
- [137]. Burd G. I., Dixon D. G., and Glick B. R. (2000). Plant growth promoting bacteria that decrease heavy metal toxicity in plants. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, p. 237-245.
- [138]. Ma Y., Rajkumar M., and Freitas H., (2009). Improvement of plant growth and nickel uptake by nickel resistant-plant-growth promoting bacteria. *Journal of Hazardous Materials*, 166, p. 1154-1161.
- [139]. Germaine K. J., Liu X., Cabellos G. G., Hogan J. P., and Ryan D. (2006). Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *FEMS Microbiology Ecology*, 57, p. 302-310.
- [140]. Doty, S.L. (2008). Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytologist*, 179, 318e333.
- [141]. Moore F. P., Tanja B., Brigitte B., Licy O., Jaco V., Daniel V. L., et al. (2006). Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: the characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation. *Systematic and Applied Microbiology*, 29, p.

539-556.

- [142]. Moeinzadeh A., Sharif-Zadeh F., Ahmadzadeh M., HeidariTajabadi F., (2010). Biopriming of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed with *Pseudomonas fluorescens* for improvement of seed invigoration and seedling growth. *Aust. J. Crop Sci.* 4, 564– 570.
- [143]. Fekria M.A.S., Abdelhafez A.A., Enas A. H., Elshahat M.R., (2015). Characterization of fluorescent pseudomonads isolates and their efficiency on the growth promotion of tomato plant. *Annals of Agricultural Science* 60(1), 131–140.
- [144]. Rupak K. S., Animesh G., Budheswar D., Rajal D., Tarun C. B., Ratul S., (2014). Community Profiling of Culturable Fluorescent Pseudomonads in the Rhizosphere of Green Gram (*Vigna radiata* L.). In *PLOS ONE* Volume 9, 108378.
- [145]. Weller D. M., and Cook R. J., (1983). Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent Pseudomonads. *Phytopathology* 73, 463–469. doi: 10.1094/Phyto-73-463
- [146]. Lemanceau P., and Alabouvette C., (1991). Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Prot.* 10, 279–286. doi: 10.1016/0261-2194(91)90006-D.
- [147]. O’Sullivan D. J., and O’Gara F., (1992). Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. *Microbiol. Rev.* 56, 662–676.
- [148]. Bakker P. A. H. M., Pieterse C. M. J., and van Loon L. C., (2007). Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 97, 239–243. doi: 10.1094/PHYTO-97-2-0239.
- [149]. Barret M., Frey-Klett P., Boutin M., Guillermin-Erckelboudt A.-Y., Martin F., Guillot L., et al. (2009). The plant pathogenic fungus *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* improves bacterial growth and triggers early gene regulations in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* Pf29Arp. *New Phytol.* 181, 435–447. doi: 10.1111/j.1469-8137.2008.02675.x
- [150]. Almario J., Muller D., Défago G., and Moëgne-Loccoz Y., (2014). Rhizosphere ecology and phytoprotection in soils naturally suppressive to *Thielaviopsis* black root rot of tobacco. *Environ. Microbiol.* 16, 1949–1960. doi: 10.1111/1462- 2920.12459.
- [151]. Vacheron J., Moëgne-Loccoz Y., Dubost A., Gonçalves-Martins M., Muller D. and Prigent-Combaret C. (2016). Fluorescent Pseudomonas Strains with only Few Plant-Beneficial Properties Are Favored in the Maize Rhizosphere. *Frontiers in Plant Science* Volume 7, Article 1212.
- [152]. Naureen Z. P., Hafeez A. H., Roberts F. Y., and Michael R. (2009). Identification of rice blast disease-suppressing bacterial strains from the rhizosphere of rice grown in Pakistan. *Crop Protection*, 28, 1052e1060.
- [153]. Murphy J. F., Zehnder G. W., Schuster D. J., Sikora E. J., Polston, J. E., and Kloepper J. W. (2000). Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against tomato mottle virus. *Plant Disease*, 84, p. 779-784.
- [154]. Zehnder G. W., Yao C., Murphy J. F., Sikora E. J., and Kloepper J. W. (2000). Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth promoting rhizobacteria. *Biological Control*, 45, p. 127-137.
- [155]. Silva H. S. A., de Silva R. R., Macagnan D., de Almeda Halfeld-Viera B., Pereira M. C. B., and Munteer A. (2004). Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants : non specific protection and increase in enzyme activities. *Biological Control*, 29, p. 288-295.
- [156]. Jiang Z.Q., Guo Ya H., Li S.-M., Qi, H.Y., and Guo J.-H. (2006). Evaluation of biocontrol efficiency of different Bacillus preparations and field application methods against phytophthora blight of bell pepper. *Biological Control*, 36, p. 216-223.
- [157]. Zehnder G. W., Murphy J. F., Sikora E. J., and Kloepper J. W. (2001). Application of rhizobacteria for induced resistance. *European Journal of Plant Pathology*, 107, p. 39-50.
- [158]. Zhang S., Moyne A. L., Reddy M. S., and Kloepper J. W. (2002). The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. *Biological Control*, 25, p. 288-296.
- [159]. Niranjan Raj S., Deepak S. A., Basavaraju P., Shetty H. S., Reddy M. S., and Kloepper

- J. W. (2003).** Comparative performance of formulations of plant growth promoting rhizobacteria in growth promotion and suppression of downy mildew in pearl millet. *Crop Protection*, 22, p. 579-588.
- [160]. Chung S., Kong H., Buyer J. S., Lakshman D. K., Lydon J., and Kim S. D. (2008).** Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soilborne pathogens of cucumber and pepper. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, p. 115-123.
- [161]. Hernandez-Rodriguez A., Heydrich-Perez M., Acebo-Guerrero Y., Velazquez-del Valle M. G., and Hernandez-Lauzardo A. N. (2008).** Antagonistic activity of Cuban native rhizobacteria against *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. in maize (*Zea mays* L.). *Applied Soil Ecology*, 39, p. 180-186.
- [162]. Hynes R. K., Leung G. C., Hirkala D. L., and Nelson, L. M. (2008).** Isolation, selection and characterization of beneficial rhizobacteria from pea, lentil and chickpea grown in Western Canada. *Canadian Journal of Microbiology*, 54, p. 248-258.
- [163]. Ryu C. M., Kim J., Choi O., Kim S. H., and Park C. S. (2006).** Improvement of biological control capacity of *Paenibacillus polymyxa* E681 by seed pelleting on sesame. *Biological Control*, 39, p. 282-289.
- [164]. Kempster V. N., Scott E. S., and Davies K. A. (2002).** Evidence for systemic, cross-resistance in white clover (*Trifolium repens*) and annual medic (*Medicago truncatula* var *truncatula*) induced by biological and chemical agents. *Biocontrol Science and Technology*, 12(5), p. 615-623.
- [165]. Kavino M., Harish S., Kumar N., Saravanakumar D., and Samiyappan R. (2010).** Effect of chitinolytic PGPR on growth: yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology*, 45, 71-77.
- [166]. Lemanceau P., (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemples des *Pseudomonas fluorescens*, *Agronomie* 12, 413-437.
- [167]. Ratul S., Tanuja S., Rakesh K., Juhi S., Alok K. S., Kiran S., Dilip K. A. (2003).** Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas fluorescens* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in chickpea. *Microbiol. Res.* 158, 203–213.
- [168]. Viebahn M., Veenman C., Wernars K., van Loon L.C., Smit E., Bakker P. (2005).** Assessment of differences in ascomycete communities in the rhizosphere of field-grown wheat and potato. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53 : 245-253.
- [169]. Mavrodi D. V., Mavrodi O. V., Parejko J. A., Bonsall R. F., Kwak Y. S., Paulitz T. C., Thomashow L. S. et Weller D. M., (2012).** Accumulation of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid in the rhizosphere of dryland cereals. *Appl. and Env. Microbiol.*, 78, 804-812.
- [170]. Sharifi-Noori M. S., Saud H. M. et Azizi E., (2015).** Evaluation of plant growth promoting Rhizobacteria as biocontrol agents for the control of blast disease in rice. *J. of Agri. Sci. and Eng.*, 1 (3): 135-142.
- [171]. Hussein K.H. A. and Joo J. H., (2017).** Stimulation, Purification, and Chemical Characterization of Siderophores Produced by the Rhizospheric Bacterial Strain *Pseudomonas putida* Rhizosphere, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.05.006>
- [172]. Salman M (2010).** Determination of antibiotic activity on plasmids from fluorescent pseudomonad isolates CW2, WB15 and WB52 against pre-emergence damping-off caused by *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* in cucumber. *Biol Control* 53 : 161–167.
- [173]. Blumer C., Haas D., (2000).** Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. *Arch Microbiol* 173 : 170–177
- [174]. Ahemad M., and Kibret M., 2013.** Recent trends in microbial biosorption of heavy metals : a review. *Biochem. Mol. Biol.* 1, 19–26.
- [175]. Schippers B., Bakker A.W., Bakker R., et van Peer R., (1990).** Beneficial and deleterious effects of HCN-producing *Pseudomonads* on rhizosphere interactions. *Plant Soil*, 129 : 75- 83.
- [176]. Nandi M., Selin C., Brawerman G., Fernando W.G.D., Kievit T., (2017).** Hydrogen cyanide, which contributes to *Pseudomonas chlororaphis* strain PA23 biocontrol, is up-regulated in the presence of glycine. *Biol. Control* 108, 47–54.
- [177]. Devi K.K., Deepika S., Bhaduri A., Kothamasi D., (2013).** Polymorphism in hcnAB gene in

*Pseudomonas* species reveals ecologically distinct hydrogen cyanide-producing populations. *Geomicrobiol. J.* 30 (2), 131–139.

[178]. **Pessi G., Haas D., (2000).** Transcriptional control of hydrogen cyanide biosynthetic genes *hcnABC* by the anaerobic regulator ANR and the quorum-sensing regulators LasR and RhIR in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 182, 6940–6949.

[179]. **Rijavec T. and Lapanje A., (2016).** Hydrogen cyanide in the rhizosphere: Not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate,” *Frontiers in Microbiology*, vol. 7, pp. 1–14.

[180]. **Mavrodi O. V., Gardener B. B. M., Mavrodi D. V. et al., (2001).** Genetic diversity of *phlD* from 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*,” *Phytopathology*, vol. 91, pp. 35–43.

[181]. **Mavrodi D. V., Blankenfeldt W., and Thomashow L. S. (2006).** Phenazine compounds in fluorescent *Pseudomonas* spp. biosynthesis and regulation. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44, 417–445. doi: 10.1146/annurev.phyto.44. 013106.145710

[182]. **Guttenberger N., Blankenfeldt W., Breinbauer R., (2017).** Recent developments in the isolation, biological function, biosynthesis, and synthesis of phenazine natural products. *Bioorg. Med. Chem.* 25 (22), 6149–6166.

[183]. **Briard B., Bomme P., Lechner B.E., Mislin G.L.A., Lair V., Prévost M.C., Latgé J.P., Haas H., Beauvais A., (2015).** *Pseudomonas aeruginosa* manipulates redox and iron homeostasis of its microbiota partner *Aspergillus fumigatus* via phenazines. *Sci. Rep.* 5, 8220.

[184]. **Laursen J.B. and Nielsen J., (2004).** Phenazine natural products : biosynthesis, synthetic analogues, and biological activity. *Chem. Rev.* 104 (3), 1663–1686.

[185]. **Tupe S.G., Kulkarni R.R., Shirazi F., Sant D.G., Joshi S.P., Deshpande M.V., (2015).** Possible mechanism of antifungal phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas* sp. against dimorphic fungi *Benjaminiella poitrasii* and human pathogen *Candida albicans*. *J. Appl. Microbiol.* 118 (1), 39–48.

[186]. **Pierson L.S., Pierson E.A., (2010).** Metabolism and function of phenazines in bacteria in environment and biotechnological processes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 86, 1659–1670.

[187]. **Price-Whelan A., Dietrich L.E., Newman D.K., (2006).** Rethinking ‘secondary’ metabolism : physiological roles for phenazine antibiotics. *Nat. Chem. Biol.* 2, 71–78.

[188]. **Zhou L., Jiang H., Jin K., Sun S., Zhang W., Zhang X., He Y.W., (2015).** Isolation, identification and characterization of rice rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* PA1201 producing high level of biopesticide “Shenqinmycin” and phenazine-1-carboxamide. *Wei Sheng Wu Xue Bao* 55 (4), 401–411.

[189]. **Loper J.E., Hassan K.A., Mavrodi D.V., Davis E.W., Lim C.K., et al., (2012).** Comparative genomics of plant-associated *Pseudomonas* spp.: insights into diversity and inheritance of traits involved in multitrophic interactions. *PLoS Genet.* 8 (7), e1002784.

[190]. **Singh P.I., Bharate S., (2006).** Phloroglucinol compounds of natural origin. *Nat. Prod. Rep.* 23, 558–591.

[191]. **Troppens D.M., Moynihan J.A., Barret M., O’Gara F., Morrissey J.P., (2013).** Genetics and evolution of 2, 4-diacetylphloroglucinol synthesis in *Pseudomonas fluorescens*. In : de Bruijn, F.J. (Ed.), *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere : Vol 1 & 2.* John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA, pp. 593–605.

[192]. **Sonnleitner E., Haas D., (2011).** Small RNAs a regulators of primary and secondary metabolism in *Pseudomonas* species. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91 (1), 63–79.

[193]. **De La Fuente L., Landa B.B., Weller D.M., (2006).** Host crop affects rhizosphere colonization and competitiveness of 2, 4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 96, 751–762.

[194]. **Moynihan J.A., Morrissey J.P., Coppoolse E.R., Stiekema W.J., Ó Gara F., Boyd E.F., (2009).** Evolutionary history of the *phl* gene cluster in the plant-associated bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 2122–2131.

[195]. **Landa B.B., Mavrodi O.V., Schroeder K.L., Allende-Molar R., Weller D.M., (2006).**

- Enrichment and genotypic diversity of pHID-containing fluorescent *Pseudomonas* spp. in two soils after a century of wheat and flax monoculture. *FEMS Microbiol. Ecol.* 55 (3), 351–368.
- [196]. **Picard C., Bosco M., (2003).** Genetic diversity of phi D gene from 2,4-diacetylphloroglucinol- producing *Pseudomonas* spp. strains from the maize rhizosphere. *FEMS Microbiol. Lett.* 219 (2), 167–172.
- [197]. **Abdel-Ghany S.E., Day I., Heuberger A.L., Broeckling C.D., Reddy A.S.N., (2016).** Production of phloroglucinol, a platform chemical, in *Arabidopsis* using a bacterial gene. *Sci. Rep.* 6, 38483.
- [198]. **Nowak-Thompson B., Gould S.J., Loper J.E., (1997).** Identification and sequence analysis of the genes encoding a polyketide synthase required for pyoluteorin biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Gene* 204 (1–2), 17–24.
- [199]. **Takeda R., (1958).** *Pseudomonas* pigments. iii. derivatives of pyoluteorin. *J. Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn.* 23 (2), 126–130.
- [200]. **Nowak-Thompson B., Chaney N., Wing J.S., Gould S.J., Loper J.E., (1999).** Characterization of the pyoluteorin biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *J. Bacteriol.* 181 (7), 2166–2174.
- [201]. **Brodhagen M., Henkels M.D., Loper J.E., (2004).** Positive autoregulation and signaling properties of pyoluteorin, an antibiotic produced by the biological control organism *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (3), 1758–1766.
- [202]. **Clifford J.C., Buchanan A., Vining O., Kidarsa T.A., Chang J.H., McPhail K.L., Loper J.E., (2016.)** Phloroglucinol functions as an intracellular and intercellular chemical messenger influencing gene expression in *Pseudomonas protegens*. *Environ. Microbiol.* 18, 3296–3308.
- [203]. **Priyanka A.T., Kotasthane A.S., Kosharia A., Kushwah R., Zaidi N.W., Singh U.S., (2017).** Crop specific plant growth promoting effects of ACCd enzyme and siderophore producing and cyanogenic fluorescent *Pseudomonas*. *Biotechnology* 7, 27.
- [204]. **Lanteigne C., Gadkar V.J., Wallon T., Novinscak A., Filion M., (2012).** Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. lbm300 contributes to the biological control of bacterial canker of tomato. *Am. Phytopathol. Soc.* 102 (10), 967–973.
- [205]. **Reetha A.K., Pavani S.L., Mohan S., (2014).** Hydrogen cyanide production ability by bacterial antagonist and their antibiotics inhibition potential on *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3 (5), 172–178.
- [206]. **Strano C.P., Bella P., Licciardello G., Caruso A., Catara V., (2017).** Role of secondary metabolites in the biocontrol activity of *Pseudomonas corrugata* and *Pseudomonas mediterranea*. *Eur. J. Plant Pathol.* 1–13.
- [207]. **Ossowicki A., Jafra S., Garbeva P., (2017).** The antimicrobial volatile power of the rhizospheric isolate *Pseudomonas donghuensis* P482. *PLoS One* 12 (3), e0174362.
- [208]. **Park J.Y., Oh S.A., Anderson A.J., Neiswender J., Kim, J.C., Kim Y.C., (2011).** Production of the antifungal compounds phenazine and pyrrolnitrin from *Pseudomonas chlororaphis* O6 is differentially regulated by glucose. *Lett. Appl. Microbiol.* 52, 532–537.
- [209]. **Homma Y., (1994).** Mechanisms in biological control – focused on the antibiotic pyrrolnitrin. In : Ryder, M.H., Stephens, P.M., Bowen, G.D. (Eds.), *Improving Plant Productivity With Rhizobacteria*. CSIRO Division of Soils, Adelaide, Australia, pp. 100–103.
- [210]. **León M., Yaryura P.M., Montecchia M.S., Hernandez A.I., Correa O.S., Pucheu N.L., Kerber N.L., Garcia A.F., (2009).** Antifungal activity of selected indigenous *Pseudomonas* and *Bacillus* from the soybean rhizosphere. *Int. J. Microbiol.* 9 Article ID 572049.
- [211]. **Burkhead K.D., Schisler D.A., Slininger P.A., (1994).** Pyrrolnitrin production by biological control agent *Pseudomonas cepacia* B37w in culture and in colonized wounds of potatoes. *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (6), 2031–2039.
- [212]. **Thomashow L.S., Weller D.M., (1988).** Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacteriol.* 170, 499–3508.
- [213]. **Thomashow L.S., Weller D.M., Bonsall R.F., Pierson L.S., (1990).** Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of

wheat. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 908–912.

[214]. **Anjaiah V., Cornelis P., Koedam N., (2003).** Effect of genotype and root colonization in biological control of fusarium wilts in pigeonpea and chickpea by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1. *Can. J. Microbiol.* 49 (2), 85–91.

[215]. **Patil S., Nikama M., Anokhinab T., Kochetkovb V., Chaudhari A., (2017).** Multi-stress tolerant plant growth promoting *Pseudomonas* spp. MCC 3145 producing cytostatic and fungicidal pigment. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 10, 53–63.

[216]. **Jaaffar A.K., Parejko J.A., Paulitz T.C., Weller D.M., Thomashow L.S., (2017).** Sensitivity of rhizoctonia isolates to phenazine-1-carboxylic acid and biological control by phenazine-producing *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 107 (6), 692–703. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-07-16-0257-R>.

[217]. **Garagulya A.D., Kiprianova E.A., Boiko O.I., (1974).** Antibiotic effect of bacteria from the genus *Pseudomonas* on phytopathogenic fungi. *Mikrobiologisches (Kiev)* 36, 197–202.

[218]. **Lagzian A., Sabari Riseh R., Khodaygan P., Sedaghati E., Dashti H., (2013).** Introduced *Pseudomonas fluorescens* VUPf5 as an important biocontrol agent for controlling *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* the causal agent of take-all disease in wheat. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 46, 2104–2116.

[219]. **Velusamy P., Gnanamanickam S.S., (2003).** Identification of 2,4-diacetylphloroglucinol production by plant-associated bacteria and its role in suppression of rice bacterial blight in India. *Curr. Sci.* 85 (9), 1270–1273.

[220]. **Ayyadurai N., Ravindra Naik P., Sreehari Rao M., Sunish Kumar R., Samrat S.K., Manohar M., Sakthivel N., (2006).** Isolation and characterization of a novel banana rhizosphere bacterium as fungal antagonist and microbial adjuvant in micro-propagation of banana. *J. Appl. Microbiol.* 100 (5), 926–937.

[221]. **Sherathia D., Dey R., Thomas M., Dalsania T., Savsani K., Pal K.K., (2016).** Biochemical and molecular characterization of DAPG-producing plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Legume Res.* 39 (4), 614–622.

[222]. **Zhou T., Chen D., Li C., Sun Q., Li L., Liu F., Shen Q., Shen B., (2012).** Isolation and characterization of *Pseudomonas brassicacearum* J12 as an antagonist against *Ralstonia solanacearum* and identification of its antimicrobial components. *Microbiol. Res.* 167 (7), 388–394.

[223]. **Nielsen T.H., Sørensen D., Tobiasen C., Andersen J.B., Christophersen C., Givskov M., Sørensen J., (2002).** Antibiotic and biosurfactant properties of cyclic lipopeptides produced by fluorescent *Pseudomonas* spp. from the sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (7), 3416–3423.

[224]. **Nielsen T.H., Thrane C., Christophersen C., Anthoni U., Sorensen J., (2000).** Structure, production characteristics and fungal antagonism of tensin – a new antifungal cyclic lipopeptide from *Pseudomonas fluorescens* strain 96.578. *J. Appl. Microbiol.* 89, 992–1001.

[225]. **Tran H., Ficke A., Asiimwe T., Höfte M., Raaijmakers J.M., (2007).** Role of the cyclic lipopeptide massetolide A in biological control of *Phytophthora infestans* and in co-colonization of tomato plants by *Pseudomonas fluorescens*. *New Phytol.* 175 (4), 731–742.

[226]. **Le C.N., Kruijt M., Raaijmakers J.M., (2012).** Involvement of phenazines and lipopeptides in interactions between *Pseudomonas* species and *Sclerotium rolfsii*, causal agent of stem rot disease on groundnut. *J. Appl. Microbiol.* 112 (2), 390–403.

[227]. **Arima K., Imanaka H., Kousaka M., Fukuta A., Tamura G., (1964).** Pyrrolnitrin, a new antibiotic substance, produced by *Pseudomonas*. *Agric. Biol. Chem.* 28 (8), 575–576.

[228]. **Mujumdar S.S., Bashetti S.P., Chopade B.A., (2014).** Plasmid pUPI126-encoded pyrrolnitrin production by *Acinetobacter haemolyticus* A19 isolated from the rhizosphere of wheat. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30 (2), 495–505.

[229]. **Weller, D.M., Thomashow, L.S., Mavrodi, D.V., Yang, M., Zhang, J., (2016).** *Pseudomonas fluorescens* 2-79 with genes for biosynthesis of pyrrolnitrin improves biocontrol activity: U.S. Patents No. 9528115 B1.

- [230]. **Jani J., Parvez N., Mehta D., (2015).** Metabolites of Pseudomonads : a new avenue of plant health management. In : Chakravarthy, A.K. (Ed.), Horizons In Insect Science : Towards Sustainable Pest Management. Springer, India, pp. 61–69.
- [231]. **Kilani J., Fillinger S., (2016).** Phenylpyrroles : 30 years, two molecules and (nearly) no resistance. *Front. Microbiol.* 7, 2014.
- [232]. **Raaijmakers J.M., de Bruijn I., de Kock M.J.D., (2006).** Cyclic lipopeptide production by plant-associated *Pseudomonas* spp. : diversity, activity, biosynthesis, and regulation. *Mol. Plant. Microbe Interact.* 19 (7), 699–710.
- [233]. **Raaijmakers J.M., De Bruijn I., Nybroe O., Ongena M., (2010).** Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas* : more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* 34 (6), 1037–1062.
- [234]. **Nybroe O., Sørensen J., (2014).** Production of Cyclic Lipopeptides by Fluorescent *Pseudomonads* 3. Springer, US, pp. 147–172.
- [235]. **Nielsen T.H., Nybroe O., Koch B., Hansen M., Sørensen J., (2005).** Genes involved in cyclic lipopeptide production are important for seed and straw colonization by *Pseudomonas* sp. strain DSS73. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (7), 4112–4116.
- [236]. **Loper J.E., Henkels M.D., Rangel L.I., Olcott M.H., Walker F.L., Bond K.L., et al., (2016).** Rhizoxin, orfamide A, and chitinase production contribute to the toxicity of *Pseudomonas protegens* strain Pf-5 to *Drosophila melanogaster*. *Environ. Microbiol.* 18, 3509–3521.
- [237]. **Meyer J.-M., and Abdallah M. A., (1978).** The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens* : biosynthesis, purification and physicochemical properties. *J. Gen. Microbiol.* 107 :319–328.
- [238]. **Albrecht-Gary A.M., Blanc S., Rochel N., Ocaktan A.Z., Abdallah M.A., (1994).** Bacterial iron transport : coordination properties of pyoverdine PaA, a peptidic siderophore of *Pseudomonas aeruginosa*. *Inorg. Chem.* 33 : 6391-6402.
- [239]. **Demange P., Wendenbaum S., Bateman A., Dell A., Abdallah M.A., (1987).** Bacterial siderophores: structure and physicochemical properties of pyoverdins and related compounds, in: Winkelmann, G., Van der Helm, D., Neilands, J.B., eds. Iron transport in microbes, plants and animals, Weinheim : VCH, 197, 87-167.
- [240]. **Anthony U., Christophersen C., Nielson P.H., Gram I., Peterson B.O., (1995).** Pseudomonine, an isoxazolidone with siderophoric activity from *Pseudomonas fluorescens* AH2 isolated from lake Victorian Nile Perch. *J Nat. Prod.* 58 : 1786-1789.
- [241]. **Mercado-Blanco J., Van der Drift K.M., Olsson P.E., Thomas-Oates J.E., Van Loon L.C., Bakker P.A. (2001).** Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374. *J. Bacteriol.* 183 : 1909 –1920.
- [242]. **Trapet P., Avoscan L., Klinguer A., Pateyron S., Citerne S., Chervin C., Mazurier S., Lemanceau P., Wendehenne D. N. et Besson-Bard A., (2016).** The *Pseudomonas fluorescens* Siderophore Pyoverdine Weakens *Arabidopsis thaliana* Defense in Favor of Growth in Iron-Deficient Conditions. *Plant Physiol.*, 171, 675- 693.
- [243]. **Duffy B.K., Défago G., (2000).** Controlling instability in *gacS-gacA* regulatory genes during inoculant production of *Pseudomonas fluorescens* biocontrol strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 66 :3142–3150.
- [244]. **Cox C.D., Rinehart KL, Moore M.L., Cook J.C. (1981).** Pyochelin : novel structure of an iron-chelating growth promoter for *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 78 : 4256 – 4260.
- [245]. **Bholay A.D., Dhalkari M.V., Shelke S.A., Jadhav B., (2012).** In vitro and in vivo activity of rhizosphere *Pseudomonas fluorescens* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Agric. Environ. Biotechnol.* 5 (3), 239–246.
- [246]. **Hayat R., Ali S., Amara U., Khalid R., Ahmed I., (2010).** Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion : a review. *Ann. Microbiol.* 60, 579–598.
- [247]. **Joshi A. K., Chand R., Arun B., Singh R. P., and Ortiz R. (2007).** Breeding crops for

reduced-tillage management in the intensive, rice–wheat systems of South Asia. *Euphytica*, 153, 135–151.

[248]. **Upadhyay S.K., Maurya S.K., Singh D.P., (2012).** Salinity tolerance in free living plant growth promoting Rhizobacteria. *Ind J Sci Res* 3 : 73-78

[249]. **Nadeem S.M., Naveed M., Zahir Z.A., Asghar H.N., (2013).** Plant-Microbe Interactions for Sustainable Agriculture : Fundamentals and Recent Advances. In : Arora NK (ed.) *Plant Microbe Symbiosis : Fundamentals and Advances*. Springer, India, pp. 51-103.

[250]. **Tuzun U.A., Mandira K., Upadhyay A., Soumya T., Rajam M.V., Srivastava S., (2001).** Small RNAs regulate the biocontrol property of fluorescent *Pseudomonas* strain Psd. *Microbiological Research*. 196, 80-88.

[251]. **Senthilraja G., Anand T., Kennedy J.S., Raguchander T., Samiyappan R., (2013).** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and entomopathogenic fungus bioformulation enhance the expression of defence enzymes and pathogenesis-related proteins in groundnut plants against leafminer insect and collar rot pathogen. *Physiol. Mol. Plant Pathol* 82 : 10-19.

[252]. **García-Gutiérrez L., Romero D., Zerrouh H., Cazorla F.M., Torés J.A., de Vicente A., et al. 2012.** Isolation and selection of plant growth-promoting rhizobacteria as inducers of systemic resistance in melon. *Plant and Soil* doi :10.1007/s11104-012-1173-z.

[253]. **Pieterse C. M., Zamioudis C., Berendsen R. L., Weller D. M., Van Wees S. C., and Bakker P. A. (2014).** Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52, 347–375. Doi : 10.1146/annurev-phyto-082712-102340

[254]. **Naureen Z., Aqeel M., Hassan M.N., Gilani S.A., Bouqellah N., Mabood F., Hussain J. , Fauzia Y. et Hafeez., (2015).** Isolation and Screening of Silicate Bacteria from Various Habitats for Biological Control of Phytopathogenic Fungi. *American Journal of Plant Sciences*, 2015, 6, 2850-2859.

[255]. **Kumar A.D.S., Vidhya A.K., Ragunathan R., Johny J., (2015).** Production and purification and characterization of streptokinase using *Bacillus licheniformis* under solid state fermentation. *J. Glob. Biosci.* 4 (7), 2703–2712.

[256]. **Yuan J., Raza W., Shen Q., and Huang Q., (2012).** Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 5942–5944. Doi : 10.1128/AEM.01357-12

[257]. **Pérez-García A, Romero D, de Vicente A, (2011).** Plant protection and growth stimulation by microorganisms : biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Curr Opin Biotechnol.* ; 22 : 187–193.

[258]. **Meldau D., Meldau S., Hoang L., Underberg S. , Wünsche H. , Baldwin I., (2013).** Dimethyl disulfide produced by the naturally associated bacterium *Bacillus* sp B55 promotes *Nicotiana attenuata* growth by enhancing sulfur nutrition *Plant Cell*, 25, pp. 2731-2747

[259]. **Hernández-León R., Rojas-Solis D., Contreras-Pérez M., del C. Orozco-Mosqueda M., Macías-Rodríguez L., Reyes-delaCruz H., Valencia-Cantero E., Santoyo G. (2015).** Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol. Control*, 81 pp. 83-92.

[260]. **Mazoyon C, Chabot A, Bensaddek L, Alahmad A, Sarazin V, Dubois F, Duclercq J (2018).** *Sphingomonas sediminicola* une potentielle rhizobactérie favorisant la croissance des plantes. Poster aux Journées Condorcet 2018, France

[261]. **Sprent J.I., (2009).** *Legume Nodulation A Global Perspective* ; Wiley Blackwell : Chichester, UK.

[262]. **Somasegaran P. and Hoben H.J., (1985).** *Methods in legumes-Rhizobium technology* – Niftal, University of Hawaii.

[263]. **Fitouri S. D., (2011).** Diversités phénotypique et moléculaire des microsymbiotes du *Sulla* du nord (*Hédysarum Coronarium* L.) et sélection de souches rhizobiales efficaces Institut national agronomique de Tunisie - Doctorat en sciences agronomiques.

[264]. **Willems A., (2006).** The taxonomy of rhizobia : an overview. *Plant and soil* 287 : 3-14.

- [265]. Mus F., Crook M. B., Garcia K., Garcia Costas A., Geddes B. A., Kouri E. D., et al. (2016). Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes. *Appl. Environ. Microbiol.* 82, 3698–3710. Doi : 10.1128/AEM.01055-16
- [266]. Sprent J. I., Ardley J., and James E. K., (2017). Biogeography of nodulated legumes and their nitrogen-fixing symbionts. *New Phytol.* 215, 40–56. doi: 10.1111/nph.14474
- [267]. Lu J., Yang F., Wang S., Ma H., Liang J. and Chen Y., (2017). Co-existence of Rhizobia and Diverse Non-rhizobial Bacteria in the Rhizosphere and Nodules of *Dalbergia odorifera* Seedlings Inoculated with *Bradyrhizobium elkanii*, *Rhizobium multihospitium*–Like and *Burkholderia pyrrocinia*–Like Strains. *Frontiers in Microbiology* Volume 8, Article 2255.
- [268]. N.K., Kang S.C., Maheshwari D.K., (2001). Isolation of siderophore producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Curr Sci* 81 : 673-677.
- [269]. Boiero L., Perrig D., Masciarelli O., Penna C., Cassan F., Luna V., (2007). Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 74 : 874-880.
- [270]. Afzal A., and Bano A., (2008). Rhizobium and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int J Agric Biol*, 10 : 85-88.
- [271]. Senthikumar M., Madhaiyan M., Sundaram S.P., Kannaiyan S. (2009). Intercellular colonization and growth promoting effects of *Methylobacterium* sp. with plant-growth regulators on rice (*Oryza sativa* L. CvCO-43). *Microbiol Res* 164:92–104.
- [272]. Van kessel C. and Hartley C., (2000). Agricultural management of grain legumes: Has it led to an increase in nitrogen fixation? *in* *Field Crops Research* 65(2):165-181
- [273]. Reeve W., O'Hara G., Chain P., Ardley J., Brau L., Nandesena K., Tiwari R., Malfatti S., Kiss H., Lapidus A., et al. (2010). Complete genome sequence of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain WSM2304, an effective microsymbiont of the South American clover *Trifolium polymorphum*. *Stand. Genom. Sci.*, 2, 66–76.
- [274]. Philippot L., Raaijmakers J. M., Lemanceau P., and van der Putten W. H. (2013). Going back to the roots : the microbial ecology of the rhizosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 789–799. Doi : 10.1038/nrmicro3109
- [275]. Igiehon N.O. and Babalola O.O. (2018). Rhizosphere Microbiome Modulators: Contributions of Nitrogen Fixing Bacteria towards Sustainable Agriculture. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15, 574.
- [276]. Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A., (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.*, 17, 478–486.
- [277]. East, R. (2013). Microbiome : Soil science comes to life. *Nature*, 501, S18–S19.
- [278]. Stacey G., Libault M., Brenchenmacher L., Wan J., May G.D., (2006). Legume nodulation. *Curr Opin Plant Biol.* 9 : 110- 121.
- [279]. Oldroyd, G. E. (2013). Speak, friend, and enter : signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 252–264. Doi : 10.1038/nrmicro2990
- [280]. Wang Q., Liu J. and Zhu H., (2018a). Genetic and Molecular Mechanisms Underlying Symbiotic Specificity in Legume-Rhizobium Interactions. In *Frontiers in Plant Science*, Volume 9 | Article 313.
- [281]. Perret X., Staehelin C., and Broughton W. J. (2000). Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 180–201. Doi : 10.1128/MMBR.64.1. 180- 201.2000
- [282]. Gibson K. E., Kobayashi H., and Walker G. C. (2008). Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annu. Rev. Genet.* 42, 413–441. doi: 10.1146/annurev.genet.42.110807.091427
- [283]. Ipata P. L. and Pesi R., (2015). In *Biochemistry and Molecular Biology Education*. DOI 10.1002/bmb.20843. pp. 143-144
- [284]. Nascimento F.X., Rossi M.J. and Glick B.R., (2018). Ethylene and 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) in Plant–Bacterial Interactions. In *Frontiers in Plant Science* Volume 9–Article 114.

- [285]. **Dreyfus B.L., and Dommergues Y.R., (1981).** Nitrogen-fixing nodules induced by *Rhizobium* on the stems of the tropical legume *Sesbania rostrata*. FEMS Micro- biol. Lett., 1Q : 313-317.
- [286]. **Giraud E., and Fleischman D., (2004).** Nitrogen-fixing symbiosis between photosynthetic bacteria and legumes. In *Photosynthesis Research*, p. 115-130. ISSN 0166-8595
- [287]. **Seneviratne G., Jayasinghearachchi H.S., (2003).** Phenolic acids : Possible agents of modifying N<sub>2</sub>-fixing symbiosis through rhizobial alteration ? Plant and Soil 252 : 385- 395.
- [288]. **Begum A. A., Leibovitch S., Migner P., and Zhang F. (2001).** Specific flavonoids induced nod gene expression and pre-activated nod genes of *Rhizobium leguminosarum* increased pea (*Pisum sativum* L.) and lentil (*Lens culinaris* L.) nodulation in controlled growth chamber environments. *J. Exp. Bot.* 52, 1537–1543
- [289]. **Wang C.-J., Yang W., Wang C., Gu C., Niu D.D., Liu H.X., Wang Y.-P., Guo J.H., (2012a).** Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth-promoting rhizobacterium strains. PLoS One 7, e52565.
- [290]. **Hirsch A.M., Lum M.R., Downie J.A., (2001).** What Makes the Rhizobia-Legume Symbiosis So Special ? Plant Physiology 127 : 1484-1492.
- [291]. **Kaminski P.A., Boistard P., (1998).** A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia. In the Rhizobiaceae, pp. 431–460. In Spink HP, Kondorosi A, Hooykaas PJJ (eds). Dordrecht, the Netherlands : Kluwer Academic.
- [292]. **Fischer H. M., (1994).** Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobia. Microbiol. Rev., 58, 352-386.
- [293]. **Newton W.E., (2007).** Physiology, biochemistry and molecular biology of nitrogen fixation. In : Ferguson BH, SJ NWE (eds) Biology of nitrogen cycle. Elsevier, Amsterdam, p 109–130.
- [294]. **Roche, P., Maillet, F., Plazanet, C., Debelle, F., Ferro, M., Truchet, G., Prome, J.C., and Denarie, J. (1996).** The common nodABC genes of *Rhizobium meliloti* are host-range determinants. Proc Natl Acad Sci U S A 93, 15305-15310.
- [295]. **Masson-Boivin C., Giraud E., Perret X., and Batut J., (2009).** Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes : how many *Rhizobium* recipes ? Trends Microbiol 17 : 458–466.
- [296]. **Satyanarayana S. D. V., Krishna M.S.R., Jeeredy S. and Kumar P. P., (2018).** *In silico* Structural Homology Modeling of Nif A Protein of Rhizobial Strains in Selective Legume Plants. Journal of PurE and aPPLiEd Microbiology, Vol. 12(2), p. 921-931
- [297]. **Fisher H.M., (1994).** Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobi. Microbiol. Rev., 352-386.
- [298]. **Lodwig E., Poole P., (2003).** Metabolism of *Rhizobium* bacteroids. CRC Crit Rev Plant Sci. 22 : 37–78.
- [299]. **Ott T., van Dongen J.T., Gunther C., Krusell L., Desbrosses G., Vigeolas H., Bock V., Czechowski T., Geigenberger P., and Udvardi M.K., (2005).** Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. Curr Biol 15, 531-535.
- [300]. **Appleby C.A., (1984).** Leghemoglobin and *Rhizobium* Respiration. In Annual Review of Plant Physiology. Vol. 35 : 443-478
- [301]. **Dénarié J., Debelle F., and Promé J. C., (1996).** *Rhizobium* lipo- chitoligosaccharide nodulation factors : signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Annu. Rev. Biochem.* 65, 503–535. Doi : 10.1146/annurev.bi.65.070196.002443
- [302]. **Gough C., and Cullimore J., (2011).** Lipo-chitoligosaccharide signaling in endosymbiotic plant-microbe interactions. In Mol Plant Microbe Interact. 24(8):867-78. Doi : 10.1094/MPMI-01-11-0019.
- [303]. **Broughton W. J., Jabbouri S., and Perret X., (2000).** Keys to symbiotic harmony. *J. Bacteriol.* 182, 5641–5652. Doi : 10.1128/JB.182.20.5641-5652. 2000
- [304]. **Perret X., Staehelin C., and Broughton W. J., (2000).** Molecular basis of symbiotic

- promiscuity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64, 180–201. Doi : 10.1128/MMBR.64.1. 180- 201.2000
- [305]. Wang D., Yang S., Tang F., and Zhu H., (2012b). Symbiosis specificity in the legume–rhizobial mutualism. *Cell Microbiol.* 14, 334–342. Doi : 10.1111/j.1462- 5822.2011.01736
- [306]. Wang Q., Liu J., Li H., Yang S., Körmöczi P., Kereszt A., et al., (2018b). Nodule- specific cysteine-rich peptides negatively regulate nitrogen-fixing symbiosis in a strain-specific manner in *Medicago truncatula*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 31, 240–248. Doi : 10.1094/MPMI-08-17-0207-R
- [307]. Geurts R., Fedorova E., Bisseling T., (2005). Nod factor signaling genes and their function in the early stages of *Rhizobium* infection, *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 346–352.
- [308]. Stracke S., Kistner C., Yoshida S., Mulder L., Sato S., Kaneko T., Tabata S., Sandal N., Stougaard J., Szczyglowski K., et al. (2002). A plant receptor-like kinase required for both bacterial and fungal symbiosis. *Nature*, 417, 959–962
- [309]. Yang S., Wang Q., Fedorova E., Liu J., Qin Q., Zheng Q., et al., (2017). Microsymbiont discrimination mediated by a host-secreted peptide in *Medicago truncatula*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114 6848–6853. 10.1073/pnas.1700460114
- [310]. Oldroyd G. E., Murray J. D., Poole P. S., and Downie J. A. (2011). The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annu. Rev. Genet.* 45, 119–144. Doi : 10.1146/annurev-genet-110410-132549
- [311]. Long, S.R., (1996). Rhizobium symbiosis : nod factors in perspective. *Plant cell.* 8 : 1885-1898.
- [312]. Peck M. C., Fisher R. F., and Long S. R., (2006). Diverse flavonoids stimulate NodD1 binding to nod gene promoters in *Sinorhizobium meliloti*. *J. Bacteriol.* 188, 5417–5427. Doi : 10.1128/JB.00376-06
- [313]. Horvath B., Bachem C.W.B., Schell J. and kondorosi A., (1987). Host-specific regulation of nodulation genes in *Rhizobium* is mediated by a plant signal, interacting with thenodD gene product. *EMBO J.* 6, 841-848.
- [314]. Liu C. W., and Murray J. D., (2016). The role of flavonoids in nodulation host-range specificity: an update. *Plants* 5 : E33. Doi : 10.3390/plants5030033
- [315]. D’Haeze W., and Holsters M., (2002). Nod factor structures, responses, and perception during initiation of nodule development. *Glycobiology* 12, 79R–105R. doi : 10.1093/glycob/12.6.79R
- [316]. Ben Amor, B., Shaw, S.L., Oldroyd, G.E.D., Maillet, F., Penmetsa, R.V., Cook, D.R., Long, S.R., De narié, J., Gough, C., (2003). The NFP locus of *Medicago truncatula* controls an early step of Nod factor signal transduction upstream of a rapid calcium flux and root hair deformation. *Plant J.* 34, 495–506.
- [317]. Arrighi, J.F., Barre, A., Ben Amor, B., Bersoult, A., Soriano, L.C., Mirabella, R., de Carvalho-Niebel, F., Journet, E.P., Ghé rardi, M., Huguet, T., Geurts, R., De narié, J., Rouge, P., Gough, C., (2006). The *Medicago truncatula* lysin M motif-receptor-like kinase gene family includes NFP and new nodule-expressed genes. *Plant Physiol.* 142, 265–279.
- [318]. Endre, G., Kereszt, A., Kevei, Z., Mihacea, S., Kalo , P., Kiss, G.B., (2002). A receptor kinase gene regulating symbiotic nodule development. *Nature* 417, 962–966.
- [319]. Ané, J.M., Kiss, G.B., Riely, B.K., Penmetsa, R.V., Oldroyd, G.E.D., Ajax, C., Lévy, J., Debellé, F., Baek, J.M., Kalo, P., Rosenberg, C., Roe, B.A., Long, S.R., Dé narié , J., Cook, D.R., (2004). *Medicago truncatula* DMI1 required for bacterial and fungal symbioses in legumes. *Science* 303, 1364–1367.
- [320]. Imaizumi-Anraku, H., Takeda, N., Charpentier, M., Perry, J., Miwa, H., Umehara, Y., Kouchi, H., Murakami, Y., Mulder, L., Vickers, K., Pike, J., Downie, J.A., Wang, T., Sato, S., Asamizu, E., Tabata, S., Yoshikawa, M., Murooka, Y., Wu, G.J., Kawaguchi, M., Kawasaki, S., Parniske, M., Hayashi, M., (2005). Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots. *Nature* 433, 527–531.
- [321]. Kanamori, N., Madsen, L.H., Radutoiu, S., Frantescu, M., Quistgaard, E.M., Miwa, H., Downie, J.A., James, E.K., Felle, H.H., Haaning, L.L., Jensen, T.H., Sato, S., Naka- mura, Y.,

- Tabata, S., Sandal, N., Stougaard, J., (2006).** A nucleoporin is required for induction of  $Ca^{2+}$  spiking in legume nodule development and essential for rhizobial and fungal symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 359–364.
- [322]. Saito, K., Yoshikawa, M., Yano, K., Miwa, H., Uchida, H., Asamizu, E., Sato, S., Tabata, S., Imaizumi-Anraku, H., Umehara, Y., Kouchi, H., Murooka, Y., Szczyglowski, K., Downie, J.A., Parniske, M., Hayashi, M., Kawaguchi, M., (2007).** NUCLEOPORIN85 is required for calcium spiking, fungal and bacterial symbioses, and seed production in *Lotus japonicus*. *Plant Cell* 19, 610–624.
- [323]. Mitra, R.M., Gleason, C.A., Edwards, A., Hadfield, J., Downie, J.A., Oldroyd, G.E.D., Long, S.R., (2004).** A  $Ca^{2+}$ /calmodulin-dependent protein kinase required for symbiotic nodule development: gene identification by transcript-based cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101, 4701–4705.
- [324]. Gonzalez-Rizzo, S., Crespi, M., Frugier, F., (2006).** The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Cell* 18, 2680–2693.
- [325]. Murray, J.D., Karas, B.J., Sato, S., Tabata, S., Amyot, L., Szczyglowski, K., (2007).** A cytokinin perception mutant colonized by *Rhizobium* in the absence of nodule organogenesis. *Science* 315, 101–104.
- [326]. Oldroyd, G.E., (2007).** Nodules and hormones. *Science* 315, 52–53.
- [327]. Tirichine, L., Sandal, N., Madsen, L.H., Radutoiu, S., Albrechtsen, A.S., Sato, S., Asamizu, E., Tabata, S., Stougaard, J., (2007).** A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis. *Science* 315, 104–110.
- [328]. Schausser, L., Roussis, A., Stiller, J., Stougaard, J., (1999).** A plant regulator controlling development of symbiotic root nodules. *Nature* 402, 191–195.
- [329]. Kalo, P., Gleason, C., Edwards, A., Marsh, J., Mitra, R.M., Hirsch, S., Jakab, J., Sims, S., Long, S.R., Rogers, J., Kiss, G.B., Downie, J.A., Oldroyd, G.E.D., (2005).** Nodulation signaling in legumes requires NSP2, a member of the GRAS family of transcriptional regulators. *Science* 308, 1786–1789.
- [330]. Smit, P., Raedts, J., Portyanko, V., Debelle, F., Gough, C., Bisseling, T., Geurts, R., (2005).** NSP1 of the GRAS protein family is essential for rhizobial Nod factor-induced transcription. *Science* 308, 1789–1791.
- [331]. Middleton, P.H., Jakab, J., Penmetsa, R.V., Starker, C.G., Doll, J., Kalo, P., Prabhu, R., Marsh, J.F., Mitra, R.M., Kereszt, A., Dudas, B., VandenBosch, K., Long, S.R., Cook, D.R., Kiss, G.B., Oldroyd, G.E.D., (2007).** An ERF transcription factor in *Medicago truncatula* that is essential for Nod factor signal transduction. *Plant Cell* 19, 1221–1234.
- [332]. Skorupska A., Janczarek M., Marczak M., Mazur A., and Król J., (2006).** Rhizobial exopolysaccharides : genetic control and symbiotic functions. *Microb. Cell Fact.* 5 : 7. Doi : 10.1186/1475-2859-5-7.
- [333]. Hotter G. S., and Scott D. B., (1991).** Exopolysaccharide mutants of *Rhizobium loti* are fully effective on a determinate nodulating host but are ineffective on an indeterminate nodulating host. *J. Bacteriol.* 173, 851–859. Doi : 10.1128/jb.173.2. 851- 859.1991
- [334]. Kannenberg E.L., Rathburn E.A. and Brewin N.J., (1992).** Molecular dissection of structure and function in the lipopolysaccharide of *Rhizobium leguminosarum* strain 3841 using monoclonal antibodies and genetic analysis. *Mol. Microbiol.*, 6, 2477–2487.
- [335]. Parniske M., Schmidt P., Kosch K., and Müller P., (1994).** Plant defense responses of host plants with determinate nodules induced by EPS-defective exob mutants of *Bradyrhizobium japonicum*. *Mol. Plant Microbe Interact.* 7, 631–638. Doi : 10.1094/MPMI-7-0631
- [336]. Kelly S. J., Muszynski A., Kawaharada Y., Hubber A. M., Sullivan J. T., Sandal N., et al. (2013).** Conditional requirement for exopolysaccharide in the *Mesorhizobium–Lotus* symbiosis. *Mol. Plant Microbe Interact.* 26, 319–329. doi: 10.1094/MPMI-09-12-0227-R
- [337]. Leigh J. A., Signer E. R., and Walker G. C., (1985).** Exopolysaccharide-deficient mutants of *Rhizobium meliloti* that form ineffective nodules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82, 6231–6235.

Doi : 10.1073/pnas.82.18.6231

- [338]. Reinhold B. B., Chan S. Y., Reuber T. L., Marra A., Walker G. C., and Reinhold V. N., (1994). Detailed structural characterization of succinoglycan, the major exopolysaccharide of *Rhizobium meliloti* Rm1021. *J. Bacteriol.* 176, 1997–2002. Doi : 10.1128/jb.176.7.1997-2002.1994
- [339]. Cheng H. P., and Walker G. C., (1998). Succinoglycan is required for initiation and elongation of infection threads during nodulation of alfalfa by *Rhizobium meliloti*. *J. Bacteriol.* 180, 5183–5191.
- [340]. Jones K. M., (2012). Increased production of the exopolysaccharide succinoglycan enhances *Sinorhizobium meliloti* 1021 symbiosis with the host plant *Medicago truncatula*. *J. Bacteriol.* 194, 4322–4331. Doi : 10.1128/JB.00751-12
- [341]. Liu J., Yang S., Zheng Q., and Zhu H., (2014). Identification of a dominant gene in *Medicago truncatula* that restricts nodulation by *Sinorhizobium meliloti* strain Rm41. *BMC Plant Biol.* 14 : 167. Doi : 10.1186/1471-2229-14-167
- [342]. Abbott L., Robsson A., (1985). The effect of soil on the formation of VA mycorrhizas by two species of *Glomus*. *Soil Res.*, 23, 253–261.
- [343]. Andrew D.R., Fitak R.R., Munguia-Vega A., Racolta A., Martinson V.G., Dontsova K., (2012). Abiotic factors shape microbial diversity in Sonoran Desert soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78, 7527–7537
- [344]. Inceoglu O., Salles J.F., van Elsas J.D., (2012). Soil and cultivar type shape the bacterial community in the potato rhizosphere. *Microb. Ecol.* ; 63 (2) ; 460-70.
- [345]. Lennon J.T., Jones S.E., (2011). Microbial seed banks : The ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat. Rev. Microbiol.*, 9, 119–130
- [346]. Garbeva P. V., Van Veen J., Van Elsas J., (2004). Microbial diversity in soil : Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42, 243–270.
- [347]. Gelsomino A., Keijzer-Wolters A.C., Cacco G., van Elsas J.D., (1999). Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *J. Microbiol. Methods*, 38, 1–15.
- [348]. Latour X., Corberand T., Laguerre G., Allard F., Lemanceau P., (1996). The composition of fluorescent pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 2449–2456.
- [349]. Lu J., Yang F., Wang S., Ma H., Liang J. and Chen Y., (2017). Co-existence of Rhizobia and Diverse Non-rhizobial Bacteria in the Rhizosphere and Nodules of *Dalbergia odorifera* Seedlings Inoculated with *Bradyrhizobium elkanii*, *Rhizobium multihospitium*–Like and *Burkholderia pyrrocinia*–Like Strains. *Frontiers in Microbiology* Volume 8, Article 2255.
- [350]. Haase S., Philippot L., Neumann G., Marhan S., Kandeler E., (2008). Local response of bacterial densities and enzyme activities to elevated atmospheric CO<sub>2</sub> and different N supply in the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* L. *Soil Biol. Biochem.* 40, 1225–1234.
- [351]. Drigo B., Kowalchuk G.A., Knapp B.A., Pijl A.S., Boschker H.T., Veen J.A., (2013). Impacts of 3 years of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> on rhizosphere carbon flow and microbial community dynamics. *Glob. Chang. Biol.*, 19, 621–636.
- [352]. Labbate M., Seymour J.R., Lauro F., Brown M.V., (2016). Anthropogenic impacts on the microbial ecology and function of aquatic environments. *Front. Microbiol.*, 7, 1044.
- [353]. Griffiths B., Caul S., Thompson J., Hackett C., Cortet J., Pernin C., Krogh P.H., (2008). Soil microbial and faunal responses to herbicide tolerant maize and herbicide in two soils. *Plant Soil*, 308, 93–103.
- [354]. Lupwayi N., Harker K., Clayton G., Turkington T., Rice W., O'Donovan J., (2004). Soil microbial biomass and diversity after herbicide application. *Can. J. Plant Sci.*, 84, 677–685.
- [355]. Hernandez A., Garcia-Plazaola J.I., Becerril J.M., (1999). Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merr.). *J. Agric. Food Chem.*, 47, 2920–2925.

- [356]. **Benmati M., (2014).** PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) : Aspects moléculaires et génétiques. Thèse de Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle LMD, SNV Constantine 1, Algérie, 181p.
- [357]. **Kilian M., Steiner U., Krebs B., Junge H., Schmiedeknecht G., and Hain R. (2000).** FZB24 Bacillus subtilis mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 1, 72-93.
- [358]. **Dunleavy J. (1955).** Control of damping-off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. Phytopathology, 45, p. 252-257.
- [359]. **Kloepper J. W. (1993).** Plant-growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In F. B. Metting, Jr. (Ed.), Soil microbial ecology (pp. 255-273). New York: Marcel Dekker Inc.
- [360]. **Backman P. A., Wilson M., and Murphy J. F. (1997).** Bacteria for biological control of plant diseases. In N. A. Rehgigl, & J. E. Rehgigl (Eds.), Environmentally safe approaches to crop disease control (pp. 95-109). Boca Raton, FL : Lewis Publishers.
- [361]. **Broadbent P., Baker K. F., Franks N., and Holland, J. (1977).** Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedlings in steamed and non treated soil. Phytopathology, 67, pp. 1027-1031.
- [362]. **Nakkeeran S., Kavitha K., Chandrasekar G., Renukadevi P., and Fernando W. G. D. (2006).** Induction of plant defence compounds by *Pseudomonas chloraphis* PA23 and *Bacillus subtilis* BSCBE4 in controlling damping-off of hot pepper caused by *Pythium aphanidermatum*. Biocontrol Science and Technology, 16, 403-416.
- [363]. **Wenhua T., and Hetong Y. (1997).** Research and application of biocontrol of plant diseases and PGPR in China. In A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, & S. Akino (Eds.), Plant growth-promoting rhizobacteria Present status and future prospects (pp. 2-9). Sapporo, Japan: OECD-OCDE.
- [364]. **Chen Y., Mei R., Lu S., Liu L., and Kloepper, J. W. (1996).** The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth-promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. In R. S. Utkhede, & V. Gupta (Eds.), Management of soil borne diseases (pp. 165-176). New Delhi, India: Kalyani Publishers.
- [365]. **Fuentes-Ramirez L. E., and Caballero-Mellado S., (2005).** Bacterial biofertilizers. In Z. A. Sadiqui (Ed.), PGPR : Biological control and biofertilization (pp. 143-172). Dordrecht, The Netherlands : Springer.
- [366]. **Ramakrishnan G., Nakkeeran S., Chandrasekar G., and Doraiswamy S. (2001).** Biocontrol agents-novel tool to combat plant diseases. In The III Asia Pacific crop protection conference 2001, 6th-7th September, 2001 New Delhi, India (pp. 20-39).
- [367]. **Johri B. N., Sharma A., and Virdi J. S. (2003).** Rhizobacterial diversity in India and its influence on soil and plant health. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, 84, p. 49-89.
- [368]. **Cong P. T., Dung T. D., Hien T. M., Hien N. T., Choudhury A. T. M. A., Kecskés K. L., et al. (2009).** Inoculant plant growth promoting microorganisms enhance utilisation of urea-N and grain yield of paddy rice in southern Vietnam. European Journal of Soil Biology, 45, p. 52-61.
- [369]. **Hartmann A., and Bashan Y. (2009).** Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB) special issue. European Journal of Soil Biology, 45, p. 1-2.
- [370]. **Atieno M., Herrmann L., Okalebo R., and Lesueur D., (2012).** Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum* and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 28, p. 2541-2550.
- [371]. **Toua D., Benchabane M., Bensaid F., et Bakour R., (2013).** Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax, African Journal Microbiology Research, vol. 7 no. 48.
- [372]. **Boukerma, L., (2017).** Biotisation des plantes (*Arabidopsis thaliana* et *Solanum lycopersicum*) par les PGPRs et élicitation des réactions de défense inductible. Thèse de Doctorat d'Etat, ENSA, El-Harrach, Alger, 138p.

- [373]. **Benousaid, N., (2019).** Etude de quelques caractères phénotypiques et génotypiques du métabolisme secondaire lié au biocontrôle et la phytostimulation chez les *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Thèse de Doctorat d'Etat, SNV, Blida, 183p.
- [374]. **Bashan Y., (1986).** Alginate beads as synthetic inoculant carriers for slow release of bacteria that affect plant growth. *Applied and Environmental Microbiology*, 51, 1089e1098.
- [375]. **Berg G., Zachow C., Mueller H., Philipps J., and Tilcher R., (2013).** Next-generation bio-products sowing the seeds of success for sustainable agriculture. *Agronomy*, 3, 648e656.
- [376]. **Gordon T. R., and Martyn R. D., (1997).** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35 : 111-128.
- [377]. **Rubiales D., Fondevilla S., Chen W., Gentzbittel L., Higgins T.J.V., Castillejo, M. A., Singh K.B., Rispaïl N., (2015).** Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance. *Crit. Rev. Plant Sci*, 34, 195–236.
- [378]. **Mohamed M.S.M., Saleh A.M., Abdel-Farid I.B., El-Naggar S.A., (2017).** Growth, hydrolases and ultrastructure of *Fusarium oxysporum* as affected by phenolic rich extracts from several xerophytic plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 141 : 57–64
- [379]. **Armstrong, G.M. and Armstrong, J.K., (1981).** *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases.* In : Nelson, P.E., Toussoun, T.A. & Cook, R.J. (Eds), *Fusarium: Diseases, biology and taxonomy.* Pennsylvania State University Press, University Park and London : 391–399.
- [380]. **Michielse C. B., and REP M., (2009).** Pathogen profile update : *Fusarium oxysporum*. *MOLECULAR PLANT PATHOLOGY*. 10(3), 311–324
- [381]. **Fourie, G., Steenkamp, E.T., Ploetz, R.C., Gordon, T.R. and Viljoen, A. (201).** Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae speciale cubense within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution* 11 : 533–542.
- [382]. **Dean R., Van Kan J.A.L., Pretorius Z.A., et al., (2012).** The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology, *Mol. Plant Pathol.* 13 804–804.
- [383]. **Kraft J.M., Larsen R.C., Inglis D.A., (1998).** Diseases of pea. In : Allen, D.J., Lenné, J.M. (Eds.), *The Pathology of Food and Pasture Legumes.* CAB International, Wallingford, UK, pp. 325–370.
- [384]. **Infantino A., Kharrat, M., Riccioni L., Coyne C.J., McPhee K.E., Grunwald N.J., (2006).** Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes”, *Euphytica* 147, 201-221.
- [385]. **Roncero M. I. G., Hera C., Ruiz-Rubio M., Maceira F. I. G., Madrid M. P., Caracuel Z., et al. (2003).** *Fusarium* as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 62, 87–98. Doi : 10.1016/ s0885- 5765(03)00043- 2
- [386]. **Nelson P. E., (1981).** Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*, in *Fungal Wilt Diseases of Plants*, eds M. E. Mace, A. A. Bell, and C. H. Beckman (New York, NY : Academic Press), 51–80. Doi : 10.1016/B978-0-12-464450-2. 50008-5.
- [387]. **Turrà D., El Ghalid M., Rossi F., and Di Pietro A., (2015).** Fungal pathogen uses sex pheromone receptor for chemotropic sensing of host plant signals. *Nature* 527, 521–524. Doi : 10.1038/nature15516.
- [388]. **Bishop C. D., and Cooper R. M., (1983).** An ultrastructural study of root invasion in 3 vascular wilt diseases. *Physiol. Plant Pathol.* 22, 15–27. Doi : 10.1016/S0048- 4059(83)81034- 0
- [389]. **Bani M., Pérez-De-Luque A., Rubiales D., Rispaïl N., (2018a).** Physical and chemical barriers in root tissues contribute to quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* in pea. *Front Plant Sci* 9:199.
- [390]. **Beckman C. H., (1987).** *The Nature of Wilt Diseases of Plants.* St Paul, MN : APS Press.
- [391]. **Kraft J.M., (1994).** “*Fusarium* wilt of peas (A review)”, *Agronomie* 14, 561–567.

- [392]. **Smith I.M., Dunez J., Phillips D.H., Lelliott R.A., and Archer S.A., (1988).** European handbook of plant diseases. Blackwell Scientific Publications : Oxford. 583pp.
- [393]. **Agrios G.N., (1988).** Plant Pathology, 3rd. ed. Academic Press, Inc.: New York, 803p.
- [394]. **Kraft J.M. and Pflieger F.L., (2001).** Compendium of Pea Diseases and Pests, 2nd Ed., The American Phytopathological Society, St. Paul.
- [395]. **Hagedorn D.J., (1984).** Compendium of pea diseases, American Phytopathological Society, Saint-Paul, Minnesota, USA, 57p
- [396]. **Biddle J.A. and Cattlin N.D., (2007).** Pests and diseases of peas and beans: a colour, 128p.
- [397]. **Perincherry L., Lalak-Kanczugowska J., and Stepien L., (2019).** *Fusarium*-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. *Toxins* 2019, 11, 664 ; doi : 10.3390/toxins11110664.
- [398]. **Kang Z., and Buchenauer H., (2000).** Ultrastructural and cytochemical studies on cellulose, xylan and pectin degradation in wheat spikes infected by *Fusarium culmorum*. *J. Phytopathol.*, 148, 263–275.
- [399]. **Kang Z., Zingen Sell I., Buchenauer H., (2005).** Infection of wheat spikes by *Fusarium avenaceum* and alterations of cell wall components in the infected tissue. *Eur. J. Plant Pathol.*, 111, 19–28.
- [400]. **Bravo Ruiz, G., Di Pietro, A. and Roncero, M. I. (2016).** Combined action of the major secreted exo- and endopolygalacturonases is required for full virulence of *Fusarium oxysporum*. *Mol Plant Pathol* 17(3): 339-353.
- [401]. **Gelderblom W.C., Marasas W.F., Steyn P.S., Thiel P.G., van der Merwe K.J., van Rooyen P.H., Vlegaar R., Wessels P.L. (1984).** Structure elucidation of fusarin C, a mutagen produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 2, 122–124.
- [402]. **Wiebe L.A. and Bjeldanes L.F (1981).** Fusarin C, a mutagen from *Fusarium moniliforme* grown on corn. *J. Food Sci.*, 46, 1424–1426.
- [403]. **Cheng S. J., Jiang Y. Z., Li M. H., Lo H.Z. (1985).** A mutagenic metabolite produced by *Fusarium moniliforme* isolated from Linxian County, China. *Carcinogenesis*, 6, 903–905. [
- [404]. **Desjardins A. E., (2007).** Proctor, R.H. Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *Int. J. Food Microbiol.*, 119, 47–50.
- [405]. **Selim M.E., El-Gammal N.A. (2015).** Role of fusaric acid mycotoxin in pathogenesis process of tomato wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*. *J. Bioprocess Biotech.*, 5, 1.
- [406]. **Bani M., Rispaill N., Evidente A., Rubiales D., and Cimmino A. (2014).** Identification of the Main Toxins Isolated from *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* Race 2 and Their Relation with Isolates Pathogenicity. *J. Agric. Food Chem.*, 62: 2574 – 2580
- [407]. **López-Díaz, C., Rahjoo, V., Sulyok, M., Ghionna, V., Martín-Vicente, A., Capilla, J., et al. (2018).** Fusaric acid contributes to virulence of *Fusarium oxysporum* on plant and mammalian hosts. *Mol. Plant Pathol.* 19, 440–453. doi: 10.1111/mpp.12536
- [408]. **Singh V. K., Singh H.B., Upadhyay R.S., (2017).** Role of fusaric acid in the development of ‘*Fusarium* wilt’ symptoms in tomato : Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiol. Biochem.*, 118, 320–332.
- [409]. **Vesonder R.F., Labeda D.P., Peterson R.E., (1992).** Phytotoxic activity of selected water-soluble metabolites of *Fusarium* against *Lemna minor* L. (duckweed). *Mycopathologia*, 118, 185–189.
- [410]. **Wakulinski W., (1989).** Phytotoxicity of the secondary metabolites of fungi causing wheat head fusariosis (head blight). *Acta Physiol. Plant.*, 11, 301–306.
- [411]. **Van Etten H.D., Mansfield J.W., Bailey J.A., Farmer E., (1994).** Two classes of plant antibiotics : phytoalexins versus “phytoanticipins”. *Plant Cell* 6, 1191–1192.
- [412]. **Roddick J.G. (1977)** Subcellular localization of steroidal glycoalkaloids in vegetative organs of *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum*. *Phytochem.* 16, 805–807.
- [413]. **Keukens E.A.J., Devrije T., Fabrie C.H.J.P., Demel R.A., Jongen W.M.F. and Dekruifff B., (1992)** Dual specificity of sterol-mediated glycoalkaloid induced membrane disruption. *Biochim.*

Biophys. Acta, 1110, 127–136.

[414]. **Keukens E.A.J., deVrije T., vandenBoom C., deWaard P., Plasman H.H., Thiel F., Chupin V., Jongen W.M.F. and deKruijff B., (1995).** Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption. *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.* 1240, 216–228.

[415]. **De Ascensao A.R.F.D.C. and Dubery I.A., (2003).** Soluble and wall-bound phenolics and phenolic polymers in *Musa acuminata* roots exposed to elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytochem.* 63, 679–686.

[416]. **Mandal S., and Mitra A., (2007.)** Reinforcement of cell wall roots of *Lycopersicon esculentum* through induction of phenolic compounds and lignin by elicitors. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 71, 201–209.

[417]. **Von Ropenack E., Parr A., and Schulze-Lefert P., (1998).** Structural analyses and dynamics of soluble and cell wall-bound phenolics in a broad spectrum resistance to the powdery mildew fungus in barley. *J. Biol. Chem.* 273, 9013–9022.

[418]. **Wu H.S., Liu D.Y., Ling N., Bao W., Ying R.R., Ou Y.H., Huo Z.H., Li Y.F. and Shen Q.R., (2008a).** Effects of vanillic acid on the growth and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Allelopath. J.* 22, 111–121.

[419]. **Wu H.S., Raza W., Fan J.Q., Sun Y.G., Bao W. and Shen Q.R., (2008b).** Cinnamic acid inhibits growth but stimulates production of pathogenesis factors by in vitro cultures of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *J. Agric. Food Chem.* 56, 1316–1321.

[420]. **Wu H.S., Raza W., Liu D.Y., Wu C.L., Mao Z.S., Xu Y.C. and Shen Q.R., (2008c).** Allelopathic impact of artificially applied coumarin on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 1297–1304.

[421]. **Maier F.J., Miedaner T., Haderl B., Felk A., Salomon S., Lemmens M., Kassner H., Schafer W., (2006).** Involvement of trichothecenes in fusarioses of wheat, barley and maize evaluated by gene disruption of the trichodiene synthase (*Tri5*) gene in three field isolates of different chemotype and virulence. *Mol. Plant Pathol.*, 7, 449–461.

[422]. **Whalley W.M., Taylor G.S., (1976).** Germination of chlamydospores of physiologic races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, in: soil adjacent to susceptible and resistant pea cultivars, *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66, 7-13.

[423]. **Guimarães L.H.S., Terenzi H.F., Polizeli M.L.T.M., and Jorge J.A., (2007).** Production and characterization of a thermostable extracellular  $\beta$ -D-fructofuranosidase product by *Aspergillus niger* with transfructosylating activity. *Eukaryot. Cell.* 6: 674-681.

[424]. **Bounaga R., (1985).** Contribution à l'étude de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedenis* (Killian et Maire) Gordon, agent de la fusariose de palmier dattier, thèse Doc, U.S.T.H.B. ALGER, 180p.

[425]. **Corbaz R., (1990).** *Phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes*, Presses, polytechniques et universitaires romandes, 286p.

[426]. **Haggag W.M., Abo El Soud M., (2012).** Production and optimization of *Pseudomonas fluorescens* biomass and metabolites for biocontrol of strawberry grey mould. *Am. J. Plant Sci.* 3 (7), 836–845.

[427]. **Kupferschmied P., Maurhofer M., Keel C., (2013).** Promise for plant pest control : root-associated pseudomonads with insecticidal activities. *Front. Plant Sci.* 4, 287.

[428]. **Singh P.I., Bharate S., (2006).** Phloroglucinol compounds of natural origin. *Nat. Prod. Rep.* 23, 558–591.

[429]. **Arora N.K., Mehnaz S., and Balestrini R., (2016).** *Bioformulations : for Sustainable Agriculture*. Springer, India, pp. 299.

[430]. **Yala, A., (2016).** *Essai de biocontrôle de la fusariose vasculaire du petit pois*. Mémoire de Magister, Université de Blida, 106p.

[431]. **King E.O., Ward M.K., et Raney D.E., (1954).** Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresce, in: *J. Lab. Clin. Med.* 44, 301p.

[432]. **Vincent J.M., (1970).** *A manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. IBP Handbook No15. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.

[433]. **Johnston A., Booth C., (1983).** *Plant Pathologist's Pocketbook*, 2nd Ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 439 p.

- [434]. **Fuches J.G., Moenne-Loccoz Y., et Défago G., (1997).** Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain FO47 induces resistances to fusarium wilt in tomato, *Plant Disease*, 81, 492-496.
- [435]. **Haglund W.A., (1989).** A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, *Plant Disease*, 73: 457-8.
- [436]. **Coureaudier, Y., Let Ard, M., Alabouvette C., Louvet J., (1985).** Lutte biologique contre la fusariose vasculaire de la tomate. Résultats en serre de production : *Agronomie*, 5, 151-156.
- [437]. **Bani M., Rubiales D. et Rispail N., (2012).** A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection. *Plant Pathology*. 61: 532-542.
- [438]. **Mekhaldi, D., (2016).** Etude du pathosystème *Pisum sativum* – *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. Mémoire de Magister, Université de Blida, 109p.
- [439]. **Anderson A.J., et Guerra D., (1985).** Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in a hydroponic system, *Phytopathology* 75, 992-995.
- [440]. **Bakker P.A.H.M., van Peer R., et Schippers B., (1991).** Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent *Pseudomonas*: mechanisms and prospects, in A. R. B. Beemster, G. J. Bollen, M. Gerlagh, M. A. Ruissen, B. Schippers et A. Tempel (réds.), *Biotic interactions and soilborne diseases*. Elsevier, New York, 217- 230.
- [441]. **Yala A. et Zidane A., (2013).** Biocontrôle de la fusariose vasculaire du lin par l'application de deux souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Mémoire d'Ingénieur, Université de Blida, 75p.
- [442]. **Raeder U. and Broda P., (1985).** Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology*, 1, 17-20.
- [443]. **Pérez-De-Luque A., Lozano-Baena M.D., Prats E., Moreno M.T. and Rubiales, D., (2007).** *Medicago truncatula* as a model host for legumes-parasitic plant interactions: Two phenotypes of resistance for one defensive mechanism. *Plant Physiology*, 145 : 437–449.
- [444]. **Treki A.S., Merghem R., Dehimat L., (2008).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée : *Thymus hirtus*. *Sciences & Technologie*. 29, pp : 25-29.
- [445]. **Preisig C.L., Bell J.N., Sun Y., Hrazdina G., Matthews D.E., VanEtten H.D., (1990).** *Plant Physiol* 94 : 1444-1448
- [446]. **Puhalla J.E, (1985).** Classification of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative Compatibility. *Can. J. Bot.*, 63, 179-183.
- [447]. **Haas, D., Keel, C., Laville, J., Maurhofer, M., Oberhansli, T., Schnider, U., Voisard, C., Wuthrich, B., et Defago, G., (1991).** Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in the suppression of root diseases, in: *Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interaction*, Vol. I. H. Hennecke and D.P.S. Verma eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 450-456.
- [448]. **Weller, D.M., et Thomashow, L.S. (1993).** Microbial metabolites with biological activity against plant pathogens, in: *Pest Management: Biologically Based Technologies*, Lumsden, R.D., et Vaughn, J.L. eds., American Chemical Society, Washington DC, 173-180.
- [449]. Jacques P., Gwose I., Seinsche D., Taraz K., Budzikiewicz H., Schröder H., Ongena M., Thonart P., (1993). Isopyoverdine Pp BTP1, a biogenetically interesting novel siderophore from *Pseudomonas putida*, *Nat. Prod. Lett.* 3 : 213-218.
- [450]. **Digat, B., (1983).** Modes d'action et effets des rhizobactéries promotrices de la croissance et du développement des plantes", in : les antagonismes microbiens, Modes d'action et applications à la lutte biologique contre les maladies des plantes, 24<sup>ème</sup> Coll. Soc. Fr. Phytopathol. Bordeaux, 360p.
- [451]. **Geels, F.P., et Schippers, B., (1983).** Selection of antagonistic fluorescent *Pseudomonas* spp. and their root colonization and persistence following treatment of seed potatoes, *Phytopathologische Zeitschrift* 108, , 193-206.
- [452]. **Berdja, R., Abderrahmane, O., Benchabane, M. and Ammad, F., (2018).** Analyse de sensibilité d'un modèle de chélation de fer appliquée à une souche phyto-bénéfique de *Pseudomonas fluorescens*. *Agrobiologia* 8(1) : 765-774
- [453]. **Martins A., Kimura O., Ribeiro R.L.D., and Baldani J.I., (2003).** Efeito da microbiolizacão

de sementes com rizobacterias fluorescentes do genero *Pseudomonas* sobre a –murcha fusariana do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), *Agronomia*, 37 (1), 69-75.

[454]. **Lucas garcía J.A., Probanza A., Ramos B., Ruiz palomino M., Gutiérrez Mañero F.J., (2004).** Effect of inoculation of *Bacillus licheniformis* on tomato and pepper. *Agronomie* (24), 169–176.

[455]. **Rudresh D.L., Shivaprakash M.K., Prasad R.D., (2005).** Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Appl Soil Ecol* 28: 139-146

[456]. **Maheshwari, D.K., Aeron, A., Dubey, R.C., Agarwal, M., Dheeman, S., Shukla, S., (2014).** Multifaceted beneficial associations with *Pseudomonas* and rhizobia on growth promotion of *Mucuna pruriens* L. *J. Pure Appl. Microbiol.* 8, 4657–4667.

[457]. Jain A., Singh A., Singh S., Singh H. B., (2015). Biological management of *Sclerotinia sclerotiorum* in pea using plant growth promoting microbial consortium. *J Basic Microbiol* 55 (8) : 961-972.

[458]. **Saravanakumar D., Damodaran T., Soorianathasundaram K. and Samiyappan R., (2007).** Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of systemic resistance of banana plantlets against bunchy top virus. *Soil Biology and Biochemistry*, 39 : 1087-1098.

[459]. **Joe M. and Sivakumar P. K., (2010).** Seed priming with co-flocs of *Azospirillum* and *Pseudomonas* for effective management of rice blast. *in Archives of Phytopathology and Plant Protection* 43(16):1551-1563.

[460]. **Couillerot O., Loqman S., Toribio A., Hubert J., Gandner L., Nuzillard J.-M., Ouhdouch Y., Clément C., Ait Barka E., and Renault J.-H., (2014).** Purification of antibiotics from the biocontrol agent *Streptomyces anulatus* S37 by centrifugal partition chromatography, *J. Chromatography B*, 944 : 30–34.

[461]. **Sánchez-Cañizares, C., Jorrín, B., Durán, D., Nadendla, S., Albareda, M., Rubio-Sanz, L., and Giglio, M. (2018).** Genomic diversity in the endosymbiotic bacterium *Rhizobium leguminosarum*. *Genes*, 9(2), 60.

[462]. **Tessier B.J., Mueller W.C, Morgham A.T., (1990).** Histopathology and ultrastructure of vascular responses in peas resistant or susceptible to *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, *Phytopathology* 80, , 756-764.

[463]. **Shi J., Mueller W.C., Beckman C.H., (1992).** Vessel occlusion and secretory activities of vessel contact cells in resistant or susceptible cotton plants infected with *Fusarium oxysporum*f.sp. *vasinfectum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 40 : 133–147

[464]. **Baayen R. P., Ouellette G. B., and Rioux D., (1996).** Compartmentalization of decay in carnations resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Phytopathology* 86, 1018–1031. doi: 10.1094/Phyto-86-1018

[465]. **Ouellette G. B., Baayen R. P., Simard M., and Rioux D., (2002).** Reactions of paratracheal cells of resistant and susceptible carnation (*Dianthus caryophyllus*) cultivars to vascular invasion by *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *New Phytol.* 156, 113–128. Doi : 10.1046/j.1469-8137.2002.00499.x

[466]. **Pereira J.M., Vieira R.F. and Marrara L.O., (2002).** Reação de cultivares e linhagens de feijão à murcha-de-fusarium. *Revista Ceres* 49 : 71-74.

[467]. **Bani M., Cimmino A., Evidente A., Rubiales D., and Rispail N. (2018b).** Pisatin involvement in the variation of inhibition of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* spore germination by root exudates of *Pisum* spp. germplasm. *Plant Pathol.* (in press). Doi : 10.1111/ppa.12813

[468]. **Treutter D., (2005).** Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biol.* 7 : 581–591

[469]. **Doornbos R. F., van Loon L. C, Bakker P. A. H. M., (2012).** Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 32 227–243 10.1007/s13593-011-0028-y

[470]. **Downie J.A., Young J.P., (2001).** Genome sequencing. The ABC of symbiosis. *Nature*, 412, 597–598.

- [471]. MacLean A. M., Finan T. M., Sadowsky M. J., (2007). Genomes of the symbiotic nitrogen-fixing bacteria of legumes. *Plant Physiol.* 144 615–622 10.1104/pp.107.101634
- [472]. Pini F., Galardini M., Bazzicalupo M., Mengoni A., (2011). Plant-bacteria association and symbiosis: are there common genomic traits in alphaproteobacteria? *Genes (Basel)* 2 : 1017–1032
- [473]. Black M., Moolhuijzen P., Chapman B., Barrero R., Howieson J., Hungria M., Bellgard M., (2012). The genetics of symbiotic nitrogen fixation : Comparative genomics of 14 rhizobia strains by resolution of protein clusters. *Genes*, 3, 138–166.
- [474]. Toohy J.I., Nelson C.D. and Krotkov G., (1965). Toxicity of phenazine carboxylic acid to some bacteria, algae, higher plants, and animals. *Can. J. Bot.* 43 : 1151–1155.
- [475]. Howell C. R., and Stipanovic R. D., (1980). Suppression of *Pythium ultimum*-induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology* 70 : 712-715.
- [476]. Burkhead K. and Geoghegan M.J., (1994). Antibiotics. In : Burkhead K (ed) Soil-borne plant pathogens. Macmillan, New York, p 368
- [477]. Pietta P.G., (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63 :,1035–1042.
- [478]. Agati G., Azzarello E., Pollastri S. et al., (2012). Flavonoids as antioxidants in plants : location and functional significance. *Plant Sci* 196 : 67–76
- [479]. Chitarrini G., Nobili C., Pinzari F., Antonini A., de Rossi P., del Fiore A., Procacci S., Tolaini V., Scala V., Scarpari M., et al. (2014). Buckwheat achenes antioxidant profile modulates *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. *Int. J. Food Microbiol.*, 189, 1–10.
- [480]. Norton R.A., (1999). Inhibition of aflatoxin B1 biosynthesis in *Aspergillus flavus* by anthocyanidins and related flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1230–1235.
- [481]. Salas M.P., Reynoso C.M., Céliz G., Daz M., Resnik S.L., (2012). Efficacy of flavanones obtained from citrus residues to prevent patulin contamination. *Food Res. Int.* 48, 930–934.
- [482]. Takahashi-Ando N., Ochiai N., Tokai T., Ohsato S., Nishiuchi T., Yoshida M., Fujimura M., Kimura M. (2008). A screening system for inhibitors of trichothecene biosynthesis : Hydroxylation of trichodiene as a target. *Biotechnol. Lett.*, 30, 1055.
- [483]. Bollina V., Kushalappa A.C., (2011). In vitro inhibition of trichothecene biosynthesis in *Fusarium graminearum* by resistance-related endogenous metabolites identified in barley. *Mycology*, 2, 291–296.
- [484]. Ongena M., Daayf F., Jacques P., Thonart P., (2000). Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathol.*, 49, 523-530.
- [485]. Verhagen B.W., Trotel-Aziz P., Couderchet M., Hofte M., Aziz A., (2010). *Pseudomonas* spp. induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine, *Journal of Experimental Botany*, vol. 61(pg. 249-260)

## Annexe A

### MILIEUX DE CULTURES

- **Milieu B de King (KB)**

Agar	15 g
Peptone	20 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5 g
MgSO <sub>4</sub>	1,5 g
Glycérol	15 ml

pH 7,2 ± 0,2 à 25°C

**Utilisation** : Isolement, culture et mise en évidence de la pigmentation (pigment fluorescent) des espèces de *Pseudomonas* fluorescentes.

- **Yeast Mannitol Ager (YMA): modifié.**

Agar	20 g
Mannitol	10 g
Na-glutamate	0,5g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5g
Extrait de levure	1 g
MgSO <sub>4</sub>	0,2 g
NaCl	0,1 g
FeCl <sub>3</sub>	4 mg

pH 6.8 ± 0.2 à 25°C

**Utilisation** : pour la cultivation des espèces de *Rhizobium* et *Azorhizobium*.

- **Potatos Dextros Agar (PDA)**

Agar	20 g
Galactose	20 g
Pomme de terre	200 g

pH 5.6 ± 0.2 à 25°C

**Utilisation** : Cultures des levures et les champignons filamenteux (*Fusarium oxysporum*)

- **Milieu minimum Puhalla (MMP)**

Agar	15 g
NaNO <sub>3</sub>	2 g
Sucrose	30g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1g
MgSO <sub>4</sub>	0,5 g
KCl	0,5 g

pH 7,0 ± 0.2 à 25°C

**Utilisation** : Milieu comportant des éléments chimiques strictement nécessaires à la croissance d'un organisme.

**Préparation des milieux** : ajouter les composants à l'eau distillée et ajuster le volume à 1 litre. Chauffer le tout en mixant la solution. Verser le liquide dans des flacons. Autoclaver pour 20 min à 120 °C, puis verser dans des boîtes Petri (Ronald, 2010).

## Annexe B RÉSULTATS *IN VITRO*

Inhibition de la croissance mycélienne des quatre souches de Fop

Traitements	Temps	Milieux		
		PDA	KB	Mixte
Fop R1 X PfBB10	24h	11,11 ± 1,09 <sup>a</sup>	8,75 ± 2,5 <sup>a</sup>	15,83 ± 1,75 <sup>a</sup>
	48h	14,37 ± 2,41 <sup>ab</sup>	15,90 ± 2,11 <sup>a</sup>	15,27 ± 1,31 <sup>ab</sup>
	72h	22,25 ± 2,58 <sup>b</sup>	32,77 ± 1,88 <sup>c</sup>	17,07 ± 1,15 <sup>ab</sup>
Fop R1 X Pff21	24h	10,00 ± 2,43 <sup>a</sup>	12,50 ± 0,91 <sup>ab</sup>	17,50 ± 1,56 <sup>ab</sup>
	48h	00,00 ± 00,00 <sup>a</sup>	13,63 ± 1,74 <sup>a</sup>	10,41 ± 1,35 <sup>a</sup>
	72h	0,30 ± 1,92 <sup>a</sup>	25,00 ± 1,84 <sup>bc</sup>	11,26 ± 1,15 <sup>a</sup>
Fop R2F42 X PfBB10	24h	15,57 ± 00,00 <sup>ab</sup>	14,16 ± 0,56 <sup>b</sup>	12,50 ± 1,04 <sup>a</sup>
	48h	28,00 ± 0,76 <sup>b</sup>	19,23 ± 0,61 <sup>b</sup>	13,26 ± 0,76 <sup>a</sup>
	72h	23,21 ± 1,21 <sup>b</sup>	31,70 ± 0,56 <sup>c</sup>	15,86 ± 0,59 <sup>ab</sup>
Fop R2F42 X Pff21	24h	8,19 ± 00,00 <sup>a</sup>	9,16 ± 0,81 <sup>ab</sup>	10,83 ± 0,68 <sup>a</sup>
	48h	23,50 ± 0,27 <sup>b</sup>	16,15 ± 1,07 <sup>ab</sup>	21,76 ± 0,84 <sup>a</sup>
	72h	14,73 ± 0,80 <sup>ab</sup>	26,82 ± 0,54 <sup>bc</sup>	9,65 ± 0,72 <sup>a</sup>
Fop Arg1 X PfBB10	24h	8,40 ± 0,63 <sup>a</sup>	5,00 ± 0,90 <sup>a</sup>	22,19 ± 0,73 <sup>b</sup>
	48h	1,44 ± 0,53 <sup>a</sup>	4,87 ± 0,86 <sup>a</sup>	16,04 ± 0,49 <sup>ab</sup>
	72h	14,05 ± 0,57 <sup>ab</sup>	6,11 ± 1,04 <sup>a</sup>	24,09 ± 0,48 <sup>bc</sup>
Fop Arg1 X Pff21	24h	9,01 ± 0,52 <sup>a</sup>	15,83 ± 0,88 <sup>b</sup>	23,59 ± 0,92 <sup>b</sup>
	48h	00,00 ± 00,00 <sup>a</sup>	18,29 ± 0,84 <sup>ab</sup>	17,16 ± 0,75 <sup>ab</sup>
	72h	9,12 ± 0,11 <sup>a</sup>	7,22 ± 0,71 <sup>a</sup>	23,18 ± 0,51 <sup>bc</sup>
Fop Arg3 X PfBB10	24h	16,39 ± 1,20 <sup>ab</sup>	13,06 ± 0,72 <sup>ab</sup>	17,20 ± 2,88 <sup>ab</sup>
	48h	25,60 ± 1,70 <sup>b</sup>	13,06 ± 0,99 <sup>ab</sup>	24,99 ± 2,67 <sup>b</sup>
	72h	28,94 ± 1,16 <sup>b</sup>	16,24 ± 0,42 <sup>ab</sup>	32,62 ± 2,87 <sup>c</sup>
Fop Arg3 X Pff21	24h	7,17 ± 1,01 <sup>a</sup>	11,36 ± 0,76 <sup>ab</sup>	23,80 ± 0,79 <sup>b</sup>
	48h	27,41 ± 0,89 <sup>b</sup>	8,52 ± 1,29 <sup>a</sup>	24,99 ± 0,71 <sup>b</sup>
	72h	6,14 ± 0,18 <sup>a</sup>	5,29 ± 0,99 <sup>a</sup>	28,60 ± 0,65 <sup>bc</sup>

Traitements	Temps	Milieux		
		PDA	YMA	Mixte
Fop R1 X Rlv	24h	7,76±3,79 <sup>b</sup>	15,24±-3,22 <sup>ab</sup>	15,60 ± 6,53 <sup>ab</sup>
	48h	15,42±2,93 <sup>ab</sup>	35,77±1,40 <sup>ab</sup>	21,17 ± 3,20 <sup>a</sup>
	72h	32,41±6,96 <sup>a</sup>	37,11±2,80 <sup>a</sup>	26,44 ± 16,80 <sup>ab</sup>
Fop R1 X MRlv	24h	00,00 ± 00,00 <sup>a</sup>	11,22 ± 0,58 <sup>a</sup>	8,20 ± 1,80 <sup>a</sup>
	48h	9,20±2,61 <sup>a</sup>	29,26±1,41 <sup>a</sup>	18,46 ± 1,41 <sup>a</sup>
	72h	26,48±8,81 <sup>a</sup>	43,02 ± 1,08 <sup>ab</sup>	36,41 ± 5,06 <sup>ab</sup>
Fop R2F42 X Rlv	24h	0,17± 0,13 <sup>a</sup>	43,06± 3,65 <sup>b</sup>	17,29 ± 3,23 <sup>b</sup>
	48h	9,15± 1,24 <sup>a</sup>	50,00± 6,17 <sup>b</sup>	20,73 ± 2,49 <sup>a</sup>
	72h	24,28± 1,58 <sup>a</sup>	51,76± 3,23 <sup>bc</sup>	17,36 ± 6,54 <sup>a</sup>
Fop R2F42 X MRlv	24h	11,29± 3,07 <sup>b</sup>	12,54± 7,89 <sup>a</sup>	6,48 ± 4,10 <sup>a</sup>
	48h	19,64± 3,15 <sup>b</sup>	42,51± 4,76 <sup>b</sup>	20,04 ± 2,65 <sup>a</sup>
	72h	38,45± 6,74 <sup>b</sup>	65,37± 5,38 <sup>c</sup>	42,93 ± 3,37 <sup>b</sup>

## Inhibition de la germination conidienne des quatre souches de Fop

Traitements	Temps	Milieux		
		PD	KB	Mixte
FopR1 X PfBB10	6h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
	24h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	91,21±6,91 <sup>b</sup>	46,96±9,23 <sup>ab</sup>
	48h	3,23±8,63 <sup>a</sup>	14,88±9,10 <sup>a</sup>	46,56±6,60 <sup>ab</sup>
FopR1 X Pf F21	6h	31,79±10,41 <sup>bc</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
	24h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	82,65±13,09 <sup>b</sup>	48,46±4,76 <sup>ab</sup>
	48h	15,37±13,12 <sup>ab</sup>	63,44±11,68 <sup>ab</sup>	69,60±9,76 <sup>bc</sup>
FopR2F42 X PfBB10	6h	39,95±8,27 <sup>bc</sup>	10,71±28,41 <sup>a</sup>	22,17±10,03 <sup>ab</sup>
	24h	46,53±9,75 <sup>ab</sup>	43,69±6,43 <sup>ab</sup>	58,72±9,23 <sup>ab</sup>
	48h	41,32±9,77 <sup>bc</sup>	71,89±12,96 <sup>bc</sup>	36,74±9,00 <sup>ab</sup>
FopR2F42 X Pf F21	6h	8,82±9,95 <sup>ab</sup>	70,32±9,29 <sup>b</sup>	0,93±9,15 <sup>a</sup>
	24h	72,49±12,03	66,81±10,20 <sup>ab</sup>	40,81±9,00 <sup>ab</sup>
	48h	64,73±11,33	73,81±12,02 <sup>bc</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
FopArg1 X Pf BB10	6h	75,21±7,59 <sup>cd</sup>	29,28±9,86 <sup>ab</sup>	40,69±8,60 <sup>ab</sup>
	24h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	3,50±8,22 <sup>a</sup>
	48h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	76,38±7,07 <sup>bc</sup>	43,35±11,56 <sup>ab</sup>
FopArg1 X Pf F21	6h	84,61±7,77 <sup>cd</sup>	21,64±7,47 <sup>ab</sup>	35,70±7,85 <sup>ab</sup>
	24h	33,32±10,63 <sup>ab</sup>	47,89±10,88 <sup>ab</sup>	82,45±7,45 <sup>b</sup>
	48h	51,26±8,72 <sup>bc</sup>	80,08±8,58 <sup>c</sup>	80,31±10,33 <sup>c</sup>
FopArg3 X Pf BB10	6h	74,65±4,58 <sup>cd</sup>	86,15±7,21 <sup>b</sup>	80,13±7,72 <sup>b</sup>
	24h	59,42±5,77 <sup>bc</sup>	60,96±7,07 <sup>ab</sup>	50,89±2,33 <sup>ab</sup>
	48h	12,90±10,71 <sup>ab</sup>	87,13±7,77 <sup>c</sup>	63,45±4,47 <sup>bc</sup>
FopArg3 X Pf F21	6h	90,23±401 <sup>d</sup>	75,89±6,53 <sup>b</sup>	82,43±8,01 <sup>b</sup>
	24h	74,99±11,35 <sup>c</sup>	83,88±10,19 <sup>b</sup>	92,70±4,21 <sup>b</sup>
	48h	61,44±7,12 <sup>c</sup>	93,98±7,50 <sup>c</sup>	87,97±10,21 <sup>c</sup>

### Inhibition de l'élongation du tube germinatif des quatre souches de Fop

Traitements	Temps	PD	Milieux	
			KB	Mixte
FopR1XPfBB10	6h	3,92±0,28 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	30,49±0,09 <sup>ab</sup>
	24h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	1,37±0,07 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
	48h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
FopR1XPfF21	6h	47,72±0,10 <sup>ab</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	42,90±0,01 <sup>ab</sup>
	24h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	43,79±0,09 <sup>bc</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
	48h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	18,02±0,09 <sup>ab</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
FopR2F42XPfBB10	6h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	11,28±0,06 <sup>ab</sup>	12,74±0,04 <sup>a</sup>
	24h	2,82±0,13 <sup>a</sup>	18,60±0,05 <sup>ab</sup>	8,81±0,12 <sup>a</sup>
	48h	25,69±0,09 <sup>b</sup>	3,60±0,04 <sup>a</sup>	21,15±0,14 <sup>ab</sup>
FopR2F42XPfF21	6h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	16,59±0,06 <sup>a</sup>
	24h	6,94±0,10 <sup>a</sup>	15,12±0,23 <sup>ab</sup>	8,81±0,09 <sup>a</sup>
	48h	6,08±0,10 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	31,11±0,18 <sup>ab</sup>
FopArg1XPfBB10	6h	60,77±0,15 <sup>ab</sup>	66,76±0,01 <sup>b</sup>	66,93±0,10 <sup>b</sup>
	24h	21,1±0,20 <sup>ab</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	8,16±0,13 <sup>a</sup>
	48h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	36,05±0,07 <sup>bc</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>
FopArg1XPfF21	6h	82,56±0,13 <sup>c</sup>	60,73±0,03 <sup>b</sup>	67,81±0,09 <sup>b</sup>
	24h	43,1±0,08 <sup>b</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	60,20±0,10 <sup>ab</sup>
	48h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	42,43±0,12 <sup>bc</sup>	7,57±0,21 <sup>a</sup>
FopArg3XPfBB10	6h	79,07±0,06 <sup>bc</sup>	78,55±0,06 <sup>c</sup>	76,32±0,09 <sup>b</sup>
	24h	6,52±0,07 <sup>a</sup>	58,85±0,03 <sup>bc</sup>	61,26±0,03 <sup>ab</sup>
	48h	15,02±0,06 <sup>ab</sup>	60,80±0,03 <sup>bcd</sup>	55,60±0,07 <sup>bc</sup>
FopArg3XPfF21	6h	87,07±0,03 <sup>c</sup>	61,25±0,05 <sup>b</sup>	74,19±0,04 <sup>b</sup>
	24h	00,00±00,00 <sup>a</sup>	44,12±0,04 <sup>c</sup>	91,21±0,02 <sup>b</sup>
	48h	38,55±0,07 <sup>b</sup>	77,56±0,04 <sup>d</sup>	87,57±0,07 <sup>c</sup>

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *psi*; **Pf** : *Pseudomonas fluorescens*; **Rlv** : *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*; **MRlv** : Mutant *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque p <0,05; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de six groupes homogènes dont 3 groupes individuels et 3 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, bc, bcd)

## Annexe C RÉSULTATS *IN SITU*

### Taux d'infection de la maladie chez les traitements bactérisés et non bactérisés avec FopR1

Tr	G	Jours								
		7	10	13	16	19	22	25	28	31
FopR1	1	27,78±3,61 <sup>a</sup>	35,71±2,38 <sup>ab</sup>	40±3,33 <sup>abc</sup>	41,67±3,72 <sup>abc</sup>	45,24±1,50 <sup>abc</sup>	47,92±5,01 <sup>bcd</sup>	56,55±5,10 <sup>cd</sup>	57,41±3,41 <sup>cd</sup>	66,11±6,89 <sup>d</sup>
	2	37,5±6,18 <sup>a</sup>	43,24±3,16 <sup>a</sup>	47,14±4,32 <sup>a</sup>	47,37±7,47 <sup>a</sup>	67,45±1,55 <sup>b</sup>	81,19±7,43 <sup>b</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>
	3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	5,56±2,24 <sup>a</sup>	11,11±9,62 <sup>a</sup>	20,95±4,15 <sup>a</sup>	24,64±3,83 <sup>ab</sup>	27,78±7,73 <sup>ab</sup>	27,78±7,73 <sup>ab</sup>	32,14±5,45 <sup>ab</sup>	70,83±29,16 <sup>b</sup>
FopR1 x BB10	1	12,22±3,91 <sup>a</sup>	22,22±5,55 <sup>ab</sup>	28,25±5,79 <sup>abc</sup>	28,94±2,69 <sup>abc</sup>	29,27±4,15 <sup>abc</sup>	32,42±7,70 <sup>abc</sup>	43,6±6,41 <sup>cd</sup>	48,52±11,49 <sup>cd</sup>	56,97±6,30 <sup>d</sup>
	2	38,49±7,72 <sup>a</sup>	45,71±4,28 <sup>ab</sup>	48,75±9,75 <sup>ab</sup>	66,69±8,75 <sup>abc</sup>	73,84±10,27 <sup>cd</sup>	77,71±8,80 <sup>cd</sup>	95,00±5,00 <sup>d</sup>	95,45±4,54 <sup>d</sup>	100±0,00 <sup>d</sup>
	3	21,11±7,18 <sup>a</sup>	27,78±4,60 <sup>a</sup>	30,95±1,06 <sup>a</sup>	33,33±2,63 <sup>a</sup>	35,44±3,11 <sup>ab</sup>	36,02±2,04 <sup>ab</sup>	38,73±1,78 <sup>ab</sup>	51,67±4,83 <sup>cd</sup>	58,70±3,43 <sup>d</sup>
FopR1 x F21	1	28,61±4,39 <sup>a</sup>	30,55±5,12 <sup>a</sup>	31,78±4,54 <sup>a</sup>	34,52±8,26 <sup>ab</sup>	35,87±3,40 <sup>ab</sup>	37,10±3,94 <sup>ab</sup>	41,29±2,26 <sup>ab</sup>	48,28±4,33 <sup>ab</sup>	53,48±2,99 <sup>b</sup>
	2	36,74±5,00 <sup>a</sup>	38,53±3,48 <sup>ab</sup>	46,21±9,38 <sup>ab</sup>	51,25±5,48 <sup>abc</sup>	70,97±12,47 <sup>bcd</sup>	84,02±9,88 <sup>cd</sup>	84,02±9,88 <sup>cd</sup>	84,02±9,88 <sup>cd</sup>	84,02±9,88 <sup>cd</sup>
	3	17,22±4,33 <sup>a</sup>	21,59±3,11 <sup>ab</sup>	28,77±1,08 <sup>abc</sup>	38,79±6,67 <sup>bcd</sup>	39,94±5,20 <sup>bcd</sup>	45,14±1,88 <sup>cd</sup>	46,75±4,75 <sup>cd</sup>	51,11±3,79 <sup>c</sup>	54,22±3,41 <sup>c</sup>
FopR1 x Riv	1	18,57±3,41 <sup>a</sup>	25,00±2,76 <sup>a</sup>	25,55±2,58 <sup>a</sup>	25,55±2,58 <sup>a</sup>	28,27±2,74 <sup>a</sup>	35,76±2,93 <sup>ab</sup>	48,44±4,94 <sup>b</sup>	51,95±6,42 <sup>b</sup>	51,95±6,42 <sup>b</sup>
	2	12,13±3,53 <sup>a</sup>	16,48±3,73 <sup>a</sup>	27,08±4,81 <sup>ab</sup>	31,98±6,55 <sup>abc</sup>	45,83±8,58 <sup>bcd</sup>	57,72±4,63 <sup>cd</sup>	70,51±3,04 <sup>de</sup>	85,12±6,74 <sup>e</sup>	85,12±6,74 <sup>e</sup>
	3	17,66±1,00 <sup>a</sup>	21,42±7,14 <sup>a</sup>	27,08±10,41 <sup>a</sup>	29,76±13,09 <sup>ab</sup>	29,76±13,09 <sup>ab</sup>	60,71±10,71 <sup>b</sup>	60,71±10,71 <sup>b</sup>	60,71±10,71 <sup>b</sup>	60,71±10,71 <sup>b</sup>
FopR1 x MRiv	1	16,30±2,44 <sup>a</sup>	18,57±3,41 <sup>a</sup>	22,50±3,29 <sup>ab</sup>	23,21±3,09 <sup>ab</sup>	24,44±2,30 <sup>ab</sup>	27,63±2,59 <sup>ab</sup>	30,72±3,65 <sup>ab</sup>	37,67±4,93 <sup>b</sup>	37,67±4,93 <sup>b</sup>
	2	13,45±6,47 <sup>a</sup>	20,85±3,19 <sup>a</sup>	35,57±7,62 <sup>ab</sup>	35,94±6,64 <sup>ab</sup>	48,03±3,77 <sup>bc</sup>	56,97±3,73 <sup>bc</sup>	66,42±2,85 <sup>cd</sup>	84,30±4,61 <sup>d</sup>	84,30±4,61 <sup>d</sup>
	3	6,19±3,80 <sup>a</sup>	19,23±5,83 <sup>ab</sup>	22,09±5,92 <sup>ab</sup>	24,16±8,03 <sup>ab</sup>	26,21±3,25 <sup>ab</sup>	38,04±15,62 <sup>ab</sup>	71,43±19,69 <sup>b</sup>	71,43±19,69 <sup>b</sup>	71,43±19,69 <sup>b</sup>

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ; **Tr** : traitements utilisés ; **G** : génotypes étudiés ;

1: JI1412 ; 2 :P21 ; 3 : Kelvedon Wonder Peas

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de neuf groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 5 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, bcd et cd)

## Taux d'infection de la maladie chez les traitements bactérisés et non bactérisés avec FopR2F42

Tr	G	Jours								
		7	10	13	16	19	22	25	28	31
FopR2F42	1	22,22±5,62 <sup>a</sup>	36,11±3,50 <sup>ab</sup>	38,1±3,83 <sup>abc</sup>	40,77±4,71 <sup>abc</sup>	44,64±4,85 <sup>bc</sup>	46,99±5,97 <sup>bc</sup>	49,31±4,29 <sup>bcd</sup>	58,66±4,91 <sup>cd</sup>	69,44±4,50 <sup>cd</sup>
	2	55,6±11,96 <sup>a</sup>	63,41±14,20 <sup>ab</sup>	79,58±10,65 <sup>abc</sup>	83,53±9,20 <sup>abc</sup>	95,77±2,70 <sup>cd</sup>	95,83±4,16 <sup>cd</sup>	100,00±00,00 <sup>d</sup>	100,00±00,00 <sup>d</sup>	100,00±00,00 <sup>d</sup>
	3	20,56±6,89 <sup>a</sup>	26,94±6,70 <sup>ab</sup>	28,17±2,49 <sup>ab</sup>	32,22±2,67 <sup>ab</sup>	32,78±3,48 <sup>ab</sup>	38,39±3,50 <sup>abc</sup>	44,64±3,12 <sup>bcd</sup>	56,33±6,74 <sup>cd</sup>	64,21±3,20 <sup>d</sup>
FopR2F42 x BB10	1	17,22±4,34 <sup>a</sup>	21,58±3,11 <sup>ab</sup>	28,76±2,65 <sup>abc</sup>	38,79±6,67 <sup>bcd</sup>	39,94±5,20 <sup>bcd</sup>	45,13±1,89 <sup>cd</sup>	46,74±4,75 <sup>cd</sup>	51,11±3,79 <sup>c</sup>	54,22±3,41 <sup>c</sup>
	2	59,80±4,39 <sup>a</sup>	65,95±9,78 <sup>ab</sup>	72,14±10,12 <sup>abc</sup>	75,47±8,41 <sup>abc</sup>	87,77±7,77 <sup>abc</sup>	92,96±4,45 <sup>bc</sup>	96,66±3,33 <sup>c</sup>	96,66±3,33 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>
	3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	8,93±4,30 <sup>ab</sup>	16,43±8,36 <sup>ab</sup>	34,52±15,69 <sup>ab</sup>	45,23±20,67 <sup>b</sup>
FopR2F42 x F21	1	41,67±5,42 <sup>a</sup>	46,67±2,10 <sup>ab</sup>	54,04±4,13 <sup>ab</sup>	64,60±6,68 <sup>b</sup>	64,60±6,68 <sup>b</sup>	65,08±2,65 <sup>b</sup>	65,08±2,65 <sup>b</sup>	66,46±4,82 <sup>b</sup>	66,46±4,82 <sup>b</sup>
	2	47,14±7,67 <sup>a</sup>	60,14±13,59 <sup>ab</sup>	60,62±8,99 <sup>c ab</sup>	63,39±10,03 <sup>ab</sup>	71,03±11,28 <sup>ab</sup>	82,04±9,20 <sup>ab</sup>	87,92±7,91 <sup>b</sup>	100,00±00,00 <sup>b</sup>	100,00±00,00 <sup>b</sup>
	3	6,11±3,88 <sup>a</sup>	20,00±5,09 <sup>ab</sup>	26,9±4,01 <sup>ab</sup>	30,95±1,06 <sup>ab</sup>	33,79±5,50 <sup>ab</sup>	34,23±3,03 <sup>ab</sup>	35,09±3,20 <sup>ab</sup>	40,74±3,88 <sup>b</sup>	42,14±4,96 <sup>b</sup>
FopR2F42 x Riv	1	27,73±3,97 <sup>a</sup>	31,00±3,87 <sup>a</sup>	33,27±3,04 <sup>a</sup>	33,57±5,90 <sup>a</sup>	36,12±4,07 <sup>a</sup>	36,90±2,46 <sup>a</sup>	46,33±5,01 <sup>ab</sup>	59,10±3,35 <sup>b</sup>	59,10±3,35 <sup>b</sup>
	2	33,88±3,59 <sup>a</sup>	33,88±3,59 <sup>a</sup>	63,02±4,05 <sup>b</sup>	63,02±4,05 <sup>b</sup>	89,77±3,17 <sup>c</sup>	89,77±3,17 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>
	3	21,74±3,54 <sup>a</sup>	21,74±3,54 <sup>a</sup>	34,28±7,19 <sup>a</sup>	34,28±7,19 <sup>a</sup>	49,04±4,97 <sup>a</sup>	49,04±4,97 <sup>a</sup>	57,14±11,98 <sup>a</sup>	57,14±11,98 <sup>a</sup>	57,14±11,98 <sup>a</sup>
FopR2F42 x MRiv	1	13,57±6,02 <sup>a</sup>	20,43±5,34 <sup>ab</sup>	24,51±5,03 <sup>abc</sup>	28,17±5,27 <sup>abc</sup>	31,93±3,41 <sup>abc</sup>	34,78±5,30 <sup>abc</sup>	44,50±3,35 <sup>bc</sup>	49,62±8,23 <sup>c</sup>	49,62±8,23 <sup>c</sup>
	2	28,88±7,13 <sup>a</sup>	28,88±7,13 <sup>a</sup>	55,93±5,96 <sup>ab</sup>	55,93±5,96 <sup>ab</sup>	73,78±6,13 <sup>bc</sup>	73,78±6,13 <sup>bc</sup>	76,73±13,92 <sup>bc</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>	100,00±0,00 <sup>c</sup>
	3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	10,00±3,87 <sup>a</sup>	10,00±3,87 <sup>a</sup>	16,67±2,57 <sup>ab</sup>				
FopR2F42 X F21 X Riv	1	27,73±3,97 <sup>a</sup>	31,00±3,87 <sup>a</sup>	33,27±3,04 <sup>a</sup>	33,57±5,90 <sup>a</sup>	36,12±4,06 <sup>a</sup>	36,90±2,46 <sup>a</sup>	46,33±5,01 <sup>ab</sup>	59,10±3,35 <sup>b</sup>	59,10±3,35 <sup>b</sup>
	2	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	9,04±5,85 <sup>ab</sup>	13,21±8,21 <sup>ab</sup>	16,43±5,45 <sup>ab</sup>	27,57±10,57 <sup>ab</sup>	32,33±5,09 <sup>b</sup>	33,73±3,06 <sup>b</sup>	37,14±10,69 <sup>b</sup>
	3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	6,19±3,80 <sup>ab</sup>	8,21±5,63 <sup>abc</sup>	13,57±4,53 <sup>abc</sup>	20,91±5,09 <sup>bcd</sup>	22,87±3,43 <sup>bcd</sup>	25,67±3,39 <sup>cd</sup>	31,73±4,13 <sup>d</sup>

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ; **Tr** : traitements utilisés ; **G** : génotypes étudiés ;

**1** : JI1412 ; **2** :P21 ; **3** : Kelvedon Wonder Peas

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$ ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de neuf groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 5 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, bcd et cd)

## Taux d'infection chez les traitements bactérisés et non bactérisés avec FopArg1 et FopArg3

Tr	G	Jours								
		7	10	13	16	19	22	25	28	31
FopArg1	1	20,28±7,38 <sup>a</sup>	32,22±2,67 <sup>ab</sup>	33,37±2,45 <sup>ab</sup>	34,33±2,98 <sup>abc</sup>	38,89±4,60 <sup>abc</sup>	42,16±7,53 <sup>abc</sup>	46,43±2,43 <sup>bc</sup>	53,82±8,42 <sup>bc</sup>	57,64±3,75 <sup>c</sup>
	2	28,29±6,28 <sup>a</sup>	33,73±8,11 <sup>ab</sup>	43,38±9,27 <sup>ab</sup>	44,35±6,19 <sup>ab</sup>	45,95±4,68 <sup>ab</sup>	46,9±6,07 <sup>ab</sup>	48,33±9,01 <sup>ab</sup>	55,36±7,94 <sup>ab</sup>	70,4±12,19 <sup>b</sup>
	3	00,00±00,00 <sup>a</sup>	6,94±4,52 <sup>ab</sup>	14,48±5,43 <sup>ab</sup>	15,34±4,40 <sup>ab</sup>	25,03±6,66 <sup>ab</sup>	26,78±7,74 <sup>ab</sup>	26,94±5,24 <sup>ab</sup>	35,15±9,34 <sup>b</sup>	35,15±9,34 <sup>b</sup>
FopArg1 x BB10	1	6,11±3,88 <sup>a</sup>	20,00±5,09 <sup>ab</sup>	26,90±4,01 <sup>bc</sup>	30,95±1,06 <sup>bc</sup>	33,78±5,50 <sup>bc</sup>	34,22±3,03 <sup>bc</sup>	35,09±3,20 <sup>bc</sup>	40,74±3,88 <sup>c</sup>	42,13±4,96 <sup>c</sup>
	2	28,09±2,45 <sup>a</sup>	33,33±7,75 <sup>ab</sup>	36,19±4,24 <sup>ab</sup>	38,61±2,51 <sup>ab</sup>	38,70±3,53 <sup>ab</sup>	39,52±5,16 <sup>ab</sup>	47,61±4,55 <sup>ab</sup>	54,49±6,60 <sup>b</sup>	55,55±4,73 <sup>b</sup>
	3	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	12,14±7,22 <sup>ab</sup>	13,33±4,51 <sup>ab</sup>	14,88±5,86 <sup>ab</sup>	18,61±6,86 <sup>ab</sup>	20,83±7,21 <sup>ab</sup>	26,05±6,37 <sup>ab</sup>	34,92±3,36 <sup>b</sup>
FopArg1 x F21	1	21,67±5,27 <sup>a</sup>	32,22±2,67 <sup>ab</sup>	36,11±5,54 <sup>ab</sup>	36,11±5,54 <sup>ab</sup>	42,54±6,67 <sup>ab</sup>	42,56±3,10 <sup>ab</sup>	46,89±6,79 <sup>b</sup>	46,99±2,92 <sup>b</sup>	54,63±2,65 <sup>b</sup>
	2	25,75±3,09 <sup>a</sup>	37,10±4,68 <sup>ab</sup>	38,71±3,05 <sup>ab</sup>	41,98±3,87 <sup>ab</sup>	41,21±1,08 <sup>ab</sup>	42,85±4,39 <sup>ab</sup>	45,66±8,09 <sup>ab</sup>	49,70±8,67 <sup>b</sup>	56,37±4,13 <sup>b</sup>
	3	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	23,61±5,45 <sup>b</sup>	25,55±5,55 <sup>b</sup>	28,13±2,08 <sup>b</sup>	31,70±5,10 <sup>b</sup>	31,70±5,10 <sup>b</sup>	31,70±5,10 <sup>b</sup>	31,70±5,10 <sup>b</sup>
Tr	G	Jours								
		7	10	13	16	19	22	25	28	31
FopArg3	1	14,16±4,54 <sup>a</sup>	17,38±4,39 <sup>ab</sup>	24,44±3,37 <sup>abc</sup>	25,27±3,90 <sup>abc</sup>	25,55±4,66 <sup>abc</sup>	27,38±4,21 <sup>abc</sup>	29,36±4,85 <sup>abc</sup>	39,48±4,13 <sup>bc</sup>	44,12±10,25 <sup>c</sup>
	2	41,33±3,74 <sup>a</sup>	50,71±3,52 <sup>ab</sup>	52,76±4,41 <sup>ab</sup>	54,92±4,39 <sup>ab</sup>	57,88±4,62 <sup>ab</sup>	57,88±4,62 <sup>ab</sup>	58,79±7,49 <sup>ab</sup>	70,37±7,91 <sup>ab</sup>	73,84±8,94 <sup>b</sup>
	3	00,00±00,00 <sup>a</sup>	18,75±6,25 <sup>ab</sup>	24,25±5,40 <sup>ab</sup>	25,00±00,00 <sup>ab</sup>	25,59±6,70 <sup>ab</sup>	27,50±5,50 <sup>ab</sup>	30,83±3,63 <sup>b</sup>	33,33±00,00 <sup>b</sup>	35,00±12,58 <sup>b</sup>
FopArg3 x BB10	1	27,85±0,71 <sup>a</sup>	28,13±2,08 <sup>a</sup>	30,66±2,66 <sup>ab</sup>	31,66±1,66 <sup>ab</sup>	32,53±2,02 <sup>ab</sup>	32,53±2,02 <sup>ab</sup>	34,48±4,12 <sup>ab</sup>	39,90±1,58 <sup>b</sup>	39,90±1,58 <sup>b</sup>
	2	19,58±1,96 <sup>a</sup>	19,58±1,96 <sup>a</sup>	37,70±1,57 <sup>b</sup>	37,70±1,57 <sup>b</sup>	55,95±3,94 <sup>c</sup>	55,95±3,94 <sup>c</sup>	60,09±3,13 <sup>c</sup>	60,09±3,13 <sup>c</sup>	60,09±3,13 <sup>c</sup>
	3	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	9,09±00,00 <sup>b</sup>	11,80±0,69 <sup>bc</sup>	11,80±0,69 <sup>bc</sup>	16,66±00,00 <sup>cd</sup>	18,33±1,66 <sup>d</sup>	20,00±00,00 <sup>d</sup>	20,55±2,42 <sup>d</sup>
FopArg3 x F21	1	22,00±1,22 <sup>a</sup>	22,00±1,22 <sup>a</sup>	26,66±2,98 <sup>ab</sup>	26,66±2,98 <sup>ab</sup>	36,00±1,63 <sup>bc</sup>	36,00±1,63 <sup>bc</sup>	38,66±1,33 <sup>c</sup>	38,66±1,33 <sup>c</sup>	40,47±4,26 <sup>c</sup>
	2	36,47±2,67 <sup>a</sup>	36,90±3,57 <sup>ab</sup>	38,88±5,55 <sup>ab</sup>	41,11±4,84 <sup>ab</sup>	41,90±3,73 <sup>ab</sup>	43,33±3,33 <sup>ab</sup>	49,20±3,66 <sup>ab</sup>	55,18±2,89 <sup>b</sup>	55,18±2,89 <sup>b</sup>
	3	00,00±00,00 <sup>a</sup>	00,00±00,00 <sup>a</sup>	14,81±1,85 <sup>ab</sup>	16,66±2,94 <sup>ab</sup>	21,72±3,01 <sup>ab</sup>	23,33±1,66 <sup>b</sup>	24,58±3,14 <sup>b</sup>	25,29±9,18 <sup>b</sup>	32,77±4,33 <sup>b</sup>

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii* ; **Tr** : traitements utilisés ; **G** : génotypes étudiés ;

**1** : JI1412 ; **2** : P21 ; **3** : Kelvedon Wonder Peas

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de huit groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 4 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d et cd)

## Sévérité de la maladie chez les traitements bactérisés et non bactérisés avec les souches FopR1

Tr	G	Jours								
		7	10	13	16	19	22	25	28	31
FopR1	1	1,34±0,03 <sup>a</sup>	1,79±0,10 <sup>ab</sup>	1,86±0,06 <sup>b</sup>	1,86±0,09 <sup>bc</sup>	2,34±0,06 <sup>cd</sup>	2,56±0,15 <sup>de</sup>	2,57±0,09 <sup>de</sup>	2,77±0,44 <sup>de</sup>	2,83±0,06 <sup>e</sup>
	2	1,94±0,30 <sup>a</sup>	1,98±0,13 <sup>a</sup>	2,35±0,32 <sup>a</sup>	2,39±0,26 <sup>a</sup>	3,19±0,50 <sup>ab</sup>	3,50±0,45 <sup>abc</sup>	4,08±0,41 <sup>bc</sup>	4,55±0,32 <sup>bc</sup>	4,83±0,16 <sup>c</sup>
	3	0,53±0,23 <sup>a</sup>	0,86±0,27 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>ab</sup>	1,00±0,00 <sup>ab</sup>	1,11±0,11 <sup>ab</sup>	1,44±0,15 <sup>ab</sup>	1,46±0,13 <sup>ab</sup>	2,16±0,39 <sup>ab</sup>	2,16±0,39 <sup>b</sup>
FopR1 x BB10	1	1,15±0,03 <sup>a</sup>	1,42±0,14 <sup>a</sup>	1,49±0,12 <sup>ab</sup>	1,51±0,09 <sup>ab</sup>	1,54±0,43 <sup>ab</sup>	1,84±0,07 <sup>abc</sup>	2,22±0,24 <sup>bcd</sup>	2,43±0,16 <sup>cd</sup>	2,77±0,25 <sup>d</sup>
	2	1,05±0,22 <sup>a</sup>	1,34±0,28 <sup>ab</sup>	1,52±0,32 <sup>ab</sup>	1,58±0,15 <sup>ab</sup>	2,20±0,30 <sup>abc</sup>	2,40±0,23 <sup>bc</sup>	2,52±0,19 <sup>bc</sup>	2,52±0,19 <sup>bc</sup>	2,52±0,19 <sup>bc</sup>
	3	1,06±0,04 <sup>a</sup>	1,06±0,04 <sup>a</sup>	1,42±0,11 <sup>ab</sup>	1,47±0,12 <sup>ab</sup>	1,47±0,12 <sup>ab</sup>	1,61±0,17 <sup>abc</sup>	1,61±0,17 <sup>abc</sup>	1,85±0,21 <sup>bc</sup>	1,85±0,21 <sup>bc</sup>
FopR1 x F21	1	1,21±0,07 <sup>a</sup>	1,41±0,08 <sup>ab</sup>	1,71±0,04 <sup>bc</sup>	1,74±0,05 <sup>bc</sup>	1,87±0,06 <sup>c</sup>	1,97±0,06 <sup>c</sup>	2,04±0,07 <sup>c</sup>	2,45±0,09 <sup>d</sup>	2,51±0,06 <sup>d</sup>
	2	1,77±0,17 <sup>a</sup>	1,79±0,18 <sup>a</sup>	1,89±0,18 <sup>a</sup>	2,01±0,14 <sup>ab</sup>	2,01±0,14 <sup>abc</sup>	2,01±0,14 <sup>bcd</sup>	2,62±0,41 <sup>cd</sup>	2,62±0,41 <sup>d</sup>	2,62±0,41 <sup>d</sup>
	3	1,43±0,12 <sup>a</sup>	1,46±0,12 <sup>a</sup>	1,68±0,14 <sup>ab</sup>	1,68±0,16 <sup>ab</sup>	1,76±0,16 <sup>ab</sup>	2,12±0,09 <sup>b</sup>	2,12±0,09 <sup>b</sup>	2,12±0,09 <sup>b</sup>	2,12±0,09 <sup>b</sup>
FopR1 x Riv	1	1,33±0,02 <sup>a</sup>	1,40±0,06 <sup>a</sup>	1,60±0,02 <sup>ab</sup>	1,65±0,12 <sup>ab</sup>	1,65±0,12 <sup>ab</sup>	1,69±0,18 <sup>ab</sup>	1,69±0,18 <sup>ab</sup>	1,81±0,06 <sup>b</sup>	1,81±0,06 <sup>b</sup>
	2	1,20±0,06 <sup>a</sup>	1,24±0,11 <sup>ab</sup>	1,37±0,07 <sup>ab</sup>	1,39±0,10 <sup>ab</sup>	1,39±0,10 <sup>ab</sup>	1,61±0,12 <sup>ab</sup>	1,61±0,12 <sup>ab</sup>	1,82±0,09 <sup>bc</sup>	2,33±0,24 <sup>c</sup>
	3	1,33±0,03 <sup>a</sup>	1,33±0,03 <sup>a</sup>	1,40±0,06 <sup>ab</sup>	1,40±0,06 <sup>ab</sup>	1,60±0,02 <sup>abc</sup>	1,64±0,12 <sup>abc</sup>	1,69±0,08 <sup>bc</sup>	1,81±0,06 <sup>cd</sup>	2,06±0,11 <sup>d</sup>
FopR1 x MRlv	1	1,24±0,08 <sup>a</sup>	1,31±0,12 <sup>a</sup>	1,40±0,13 <sup>ab</sup>	1,47±0,09 <sup>ab</sup>	1,49±0,14 <sup>ab</sup>	1,55±0,11 <sup>ab</sup>	1,75±0,10 <sup>ab</sup>	1,90±0,14 <sup>b</sup>	1,90±0,14 <sup>b</sup>
	2	1,29±0,09 <sup>a</sup>	1,31±0,05 <sup>a</sup>	1,31±0,05 <sup>a</sup>	1,46±0,11 <sup>ab</sup>	1,46±0,11 <sup>ab</sup>	1,50±0,12 <sup>ab</sup>	1,63±0,08 <sup>ab</sup>	1,63±0,08 <sup>ab</sup>	1,82±0,14 <sup>b</sup>
	3	1,10±0,06 <sup>a</sup>	1,32±0,14 <sup>a</sup>	1,32±0,14 <sup>a</sup>	1,63±0,16 <sup>a</sup>	1,63±0,16 <sup>a</sup>	1,66±0,13 <sup>a</sup>	1,66±0,13 <sup>a</sup>	1,66±0,13 <sup>a</sup>	1,66±0,13 <sup>a</sup>

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii* ; **Tr** : traitements utilisés ; **G** : génotypes étudiés ;

**1** : JI1412 ; **2** : P21 ; **3** : Kelvedon Wonder Peas

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de huit groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 4 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d et cd).

## Sévérité de la maladie chez les traitements bactérisés et non bactérisés avec les souches FopR2F42

Tr	G	Jours								
		7	10	13	16	19	22	25	28	31
FopR2F42	1	1,22±0,05 <sup>a</sup>	1,64±0,14 <sup>ab</sup>	1,67±0,04 <sup>ab</sup>	1,86±0,16 <sup>b</sup>	2,00±0,12 <sup>bc</sup>	2,53±0,17 <sup>cd</sup>	2,55±0,10 <sup>cd</sup>	2,89±0,14 <sup>de</sup>	3,18±0,11 <sup>e</sup>
	2	2,37±0,33 <sup>a</sup>	2,87±0,52 <sup>ab</sup>	3,19±0,38 <sup>abc</sup>	3,25±0,57 <sup>abc</sup>	4,24±0,36 <sup>bcd</sup>	4,65±0,25 <sup>cd</sup>	4,94±0,05 <sup>d</sup>	5,00±0,00 <sup>d</sup>	5,00±0,00 <sup>d</sup>
	3	1,91±0,19 <sup>a</sup>	1,91±0,19 <sup>a</sup>	2,01±0,09 <sup>a</sup>	2,01±0,09 <sup>a</sup>	2,46±0,17 <sup>bc</sup>	2,46±0,17 <sup>bc</sup>	2,46±0,17 <sup>bc</sup>	2,92±0,28 <sup>b</sup>	2,92±0,28 <sup>b</sup>
FopR2F42 x BB10	1	1,20±0,06 <sup>a</sup>	1,42±0,05 <sup>a</sup>	1,59±0,05 <sup>ab</sup>	1,68±0,18 <sup>ab</sup>	2,05±0,09 <sup>bc</sup>	2,34±0,09 <sup>cd</sup>	2,36±0,15 <sup>cd</sup>	2,57±0,11 <sup>d</sup>	2,57±0,11 <sup>d</sup>
	2	1,59±0,19 <sup>a</sup>	1,77±0,17 <sup>a</sup>	1,88±0,11 <sup>ab</sup>	1,93±0,14 <sup>ab</sup>	2,04±0,05 <sup>ab</sup>	2,20±0,20 <sup>ab</sup>	2,33±0,15 <sup>ab</sup>	2,33±0,15 <sup>ab</sup>	2,63±0,33 <sup>b</sup>
	3	1,58±0,20 <sup>a</sup>	1,58±0,20 <sup>a</sup>	1,66±0,19 <sup>a</sup>	1,90±0,26 <sup>a</sup>	1,97±0,35 <sup>a</sup>	1,97±0,35 <sup>a</sup>	1,97±0,35 <sup>a</sup>	1,97±0,35 <sup>a</sup>	1,97±0,35 <sup>a</sup>
FopR2F4 2 x F21	1	1,20±0,07 <sup>a</sup>	1,43±0,13 <sup>a</sup>	1,55±0,11 <sup>ab</sup>	1,74±0,12 <sup>ab</sup>	1,82±0,17 <sup>ab</sup>	2,11±0,11 <sup>b</sup>	2,15±0,07 <sup>bc</sup>	2,78±0,24 <sup>cd</sup>	2,98±0,17 <sup>d</sup>
	2	1,33±0,06 <sup>a</sup>	1,33±0,06 <sup>a</sup>	1,55±0,12 <sup>ab</sup>	1,55±0,12 <sup>ab</sup>	1,65±0,31 <sup>ab</sup>	1,65±0,31 <sup>ab</sup>	1,91±0,06 <sup>bc</sup>	1,91±0,06 <sup>bc</sup>	2,39±0,16 <sup>c</sup>
	3	0,83±0,16 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>ab</sup>	1,00±0,00 <sup>ab</sup>	1,03±0,03 <sup>c ab</sup>	1,23±0,11 <sup>ab</sup>	1,41±0,32 <sup>ab</sup>	1,48±0,34 <sup>ab</sup>	1,78±0,43 <sup>ab</sup>	2,25±0,62 <sup>b</sup>
FopR2F42 x Riv	1	1,46±0,09 <sup>a</sup>	1,47±0,13 <sup>a</sup>	1,83±0,09 <sup>ab</sup>	2,04±0,05 <sup>bc</sup>	2,06±0,08 <sup>bc</sup>	2,07±0,07 <sup>bc</sup>	2,30±0,09 <sup>cd</sup>	2,61±0,10 <sup>d</sup>	2,61±0,10 <sup>d</sup>
	2	1,35±0,12 <sup>a</sup>	1,35±0,12 <sup>a</sup>	1,77±0,30 <sup>ab</sup>	1,77±0,30 <sup>ab</sup>	1,92±0,34 <sup>ab</sup>	1,92±0,34 <sup>ab</sup>	2,50±0,41 <sup>ab</sup>	2,50±0,41 <sup>ab</sup>	2,97±0,39 <sup>b</sup>
	3	1,22±0,03 <sup>a</sup>	1,22±0,03 <sup>a</sup>	1,22±0,03 <sup>a</sup>	2,07±0,24 <sup>ab</sup>	2,07±0,24 <sup>ab</sup>	2,12±0,23 <sup>ab</sup>	2,12±0,23 <sup>ab</sup>	2,12±0,23 <sup>ab</sup>	2,73±0,53 <sup>b</sup>
FopR2 F42 x MRiv	1	1,27±0,12 <sup>a</sup>	1,45±0,15 <sup>a</sup>	1,74±0,19 <sup>ab</sup>	1,77±0,25 <sup>ab</sup>	1,83±0,11 <sup>ab</sup>	1,92±0,20 <sup>ab</sup>	2,10±0,24 <sup>ab</sup>	2,51±0,32 <sup>b</sup>	2,51±0,32 <sup>b</sup>
	2	1,20±0,03 <sup>a</sup>	1,20±0,03 <sup>a</sup>	1,20±0,03 <sup>a</sup>	1,67±0,08 <sup>a</sup>	1,67±0,08 <sup>a</sup>	2,56±0,20 <sup>b</sup>	2,56±0,20 <sup>b</sup>	2,63±0,05 <sup>b</sup>	2,63±0,05 <sup>b</sup>
	3	1,13±0,07 <sup>a</sup>	1,13±0,07 <sup>a</sup>	1,13±0,07 <sup>a</sup>	1,35±0,19 <sup>a</sup>	1,35±0,19 <sup>a</sup>	1,61±0,23 <sup>a</sup>	1,61±0,23 <sup>a</sup>	1,84±0,20 <sup>a</sup>	1,84±0,20 <sup>a</sup>
FopR2F42 x F21 XRiv	1	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,19±0,11 <sup>ab</sup>	0,33±0,25 <sup>abc</sup>	0,65±0,22 <sup>abc</sup>	0,87±0,22 <sup>bcd</sup>	1,01±0,15 <sup>cd</sup>	1,10±0,15 <sup>cd</sup>	1,56±0,19 <sup>d</sup>
	2	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,00±0,00 <sup>a</sup>	1,25±0,51 <sup>ab</sup>	1,25±0,51 <sup>ab</sup>	1,71±0,91 <sup>ab</sup>	1,71±0,91 <sup>ab</sup>	2,53±0,31 <sup>b</sup>	2,53±0,31 <sup>b</sup>	2,53±0,31 <sup>b</sup>
	3	0,00±0,00 <sup>a</sup>	0,21±0,13 <sup>ab</sup>	0,21±0,13 <sup>ab</sup>	0,31±0,21 <sup>abc</sup>	0,66±0,32 <sup>abcd</sup>	0,95±0,26 <sup>bcd</sup>	1,12±0,22 <sup>bcd</sup>	1,18±0,16 <sup>cd</sup>	1,59±0,22 <sup>d</sup>

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ; **Tr** : traitements utilisés ; **G** : génotypes étudiés ;

1 : JI1412 ; 2 : P21 ; 3 : Kelvedon Wonder Peas

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de huit groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 4 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, cd, bcd, abcd, e et de)

## Sévérité de la maladie chez les traitements bactérisés et non bactérisés avec FopArg1 et FopArg3

		Jours									
Tr	G	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
FopArg1	1	1,26±0,09 <sup>a</sup>	1,64±0,08 <sup>ab</sup>	1,66±0,13 <sup>abc</sup>	1,77±0,14 <sup>abc</sup>	1,93±0,17 <sup>abcd</sup>	1,94±0,21 <sup>abcd</sup>	2,21±0,16 <sup>bcd</sup>	2,36±0,17 <sup>cd</sup>	2,51±0,14 <sup>d</sup>	
	2	1,63±0,19 <sup>a</sup>	1,67±0,11 <sup>a</sup>	1,71±0,16 <sup>a</sup>	1,76±0,15 <sup>ab</sup>	2,00±0,14 <sup>ab</sup>	2,01±0,23 <sup>ab</sup>	2,23±0,22 <sup>ab</sup>	2,25±0,21 <sup>ab</sup>	2,62±0,27 <sup>b</sup>	
	3	1,00±0,00 <sup>a</sup>	1,03±0,03 <sup>a</sup>	1,13±0,13 <sup>ab</sup>	1,41±0,14 <sup>ab</sup>	1,42±0,15 <sup>ab</sup>	1,48±0,21 <sup>ab</sup>	1,66±0,16 <sup>ab</sup>	1,83±0,25 <sup>ab</sup>	1,93±0,48 <sup>b</sup>	
FopArg1 x BB10	1	1,06±0,03 <sup>a</sup>	1,33±0,13 <sup>ab</sup>	1,45±0,08 <sup>abc</sup>	1,51±0,04 <sup>abcd</sup>	1,59±0,08 <sup>bcd</sup>	1,86±0,08 <sup>cd</sup>	1,91±0,09 <sup>d</sup>	1,95±0,17 <sup>d</sup>	1,95±0,17 <sup>d</sup>	
	2	1,50±0,17 <sup>a</sup>	1,53±0,20 <sup>a</sup>	1,62±0,23 <sup>ab</sup>	1,66±0,11 <sup>ab</sup>	2,00±0,14 <sup>ab</sup>	2,04±0,12 <sup>ab</sup>	2,08±0,14 <sup>ab</sup>	2,10±0,18 <sup>ab</sup>	2,30±0,13 <sup>b</sup>	
	3	1,00±0,00 <sup>a</sup>	1,00±0,00 <sup>a</sup>	1,13±0,13 <sup>a</sup>	1,16±0,16 <sup>a</sup>	1,33±0,22 <sup>a</sup>	1,65±0,37 <sup>a</sup>	1,80±0,27 <sup>a</sup>	1,80±0,27 <sup>a</sup>	1,79±0,26 <sup>a</sup>	
FopArg1 x F21	1	1,22±0,05 <sup>a</sup>	1,22±0,05 <sup>a</sup>	1,61±0,13 <sup>a</sup>	1,61±0,13 <sup>a</sup>	1,71±0,18 <sup>a</sup>	1,71±0,18 <sup>a</sup>	1,74±0,12 <sup>a</sup>	1,74±0,12 <sup>a</sup>	1,77±0,17 <sup>a</sup>	
	2	1,56±0,06 <sup>a</sup>	1,67±0,12 <sup>ab</sup>	1,75±0,10 <sup>ab</sup>	1,88±0,18 <sup>abc</sup>	1,95±0,02 <sup>abc</sup>	2,05±0,08 <sup>abc</sup>	2,07±0,13 <sup>abc</sup>	2,17±0,06 <sup>bc</sup>	2,41±0,13 <sup>c</sup>	
	3	1,27±0,16 <sup>a</sup>	1,27±0,16 <sup>a</sup>	1,48±0,20 <sup>ab</sup>	1,50±0,12 <sup>ab</sup>	1,50±0,12 <sup>ab</sup>	1,57±0,16 <sup>ab</sup>	1,57±0,16 <sup>ab</sup>	1,57±0,16 <sup>ab</sup>	1,57±0,16 <sup>ab</sup>	
		Jours									
Tr	G	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
FopArg3	1	1,17±0,06 <sup>a</sup>	1,35±0,07 <sup>ab</sup>	1,44±0,12 <sup>ab</sup>	1,52±0,10 <sup>ab</sup>	1,53±0,08 <sup>ab</sup>	1,84±0,17 <sup>abc</sup>	1,86±0,18 <sup>abc</sup>	2,01±0,18 <sup>bc</sup>	2,23±0,25 <sup>c</sup>	
	2	1,52±0,16 <sup>a</sup>	1,53±0,13 <sup>a</sup>	1,77±0,19 <sup>a</sup>	2,06±0,31 <sup>a</sup>	2,06±0,31 <sup>a</sup>	2,07±0,11 <sup>a</sup>	2,07±0,11 <sup>a</sup>	2,11±0,06 <sup>a</sup>	2,11±0,06 <sup>a</sup>	
	3	1,51±0,18 <sup>a</sup>	1,71±0,15 <sup>ab</sup>	1,73±0,15 <sup>ab</sup>	1,74±0,16 <sup>ab</sup>	2,06±0,19 <sup>ab</sup>	2,17±0,20 <sup>ab</sup>	2,22±0,17 <sup>ab</sup>	2,22±0,14 <sup>ab</sup>	2,34±0,019 <sup>b</sup>	
FopArg3 x BB10	1	1,29±0,06 <sup>a</sup>	1,34±0,10 <sup>a</sup>	1,34±0,10 <sup>a</sup>	1,42±0,09 <sup>ab</sup>	1,52±0,03 <sup>ab</sup>	1,52±0,03 <sup>ab</sup>	1,77±0,16 <sup>ab</sup>	1,77±0,16 <sup>ab</sup>	1,91±0,15 <sup>b</sup>	
	2	1,13±0,09 <sup>a</sup>	1,13±0,09 <sup>a</sup>	1,22±0,06 <sup>a</sup>	1,22±0,06 <sup>a</sup>	1,38±0,14 <sup>ab</sup>	1,38±0,14 <sup>ab</sup>	1,52±0,07 <sup>ab</sup>	1,52±0,07 <sup>ab</sup>	1,81±0,20 <sup>b</sup>	
	3	1,25±0,10 <sup>a</sup>	1,25±0,10 <sup>a</sup>	1,38±0,09 <sup>ab</sup>	1,38±0,09 <sup>ab</sup>	1,62±0,18 <sup>ab</sup>	1,62±0,18 <sup>ab</sup>	1,71±0,12 <sup>ab</sup>	1,71±0,12 <sup>ab</sup>	1,89±0,17 <sup>b</sup>	
FopArg3 x F21	1	1,18±0,03 <sup>a</sup>	1,18±0,03 <sup>a</sup>	1,51±0,11 <sup>ab</sup>	1,51±0,11 <sup>ab</sup>	1,56±0,32 <sup>ab</sup>	1,58±0,06 <sup>ab</sup>	1,69±0,14 <sup>b</sup>	1,95±0,15 <sup>b</sup>	1,97±0,08 <sup>b</sup>	
	2	1,25±0,07 <sup>a</sup>	1,53±0,10 <sup>ab</sup>	1,53±0,10 <sup>ab</sup>	1,65±0,11 <sup>ab</sup>	1,67±0,07 <sup>b</sup>	1,69±0,04 <sup>b</sup>	1,69±0,04 <sup>b</sup>	1,79±0,04 <sup>b</sup>	1,81±0,10 <sup>b</sup>	
	3	1,27±0,03 <sup>a</sup>	1,45±0,09 <sup>ab</sup>	1,51±0,10 <sup>ab</sup>	1,51±0,04 <sup>ab</sup>	1,63±0,05 <sup>ab</sup>	1,63±0,07 <sup>ab</sup>	1,72±0,07 <sup>b</sup>	1,73±0,09 <sup>b</sup>	1,83±0,19 <sup>b</sup>	

**Fop** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ; **Tr** : traitements utilisés ; **G** : génotypes étudiés ;

1: JI1412 ; 2 :P21 ; 3 : Kelvedon Wonder Peas

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de huit groupes homogènes dont 4 groupes individuels et 4 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, cd, bcd, abcd, e et de)

**AUDPC des traitements bactérisés et non bactérisés chez les trois génotypes JI1412, P21 et KWP infectés avec les trois souches de Fop (R1, R2F42, Arg1 et Arg3)**

JI1412	Fop R1	1211,565
	FopR1XBB10	846,215
	FopR1XF21	1001,44
	FopR1XRlv	892,335
	FopR1XMRlv	692,225
P21	Fop R1	1796,67
	FopR1XBB10	1851,9
	FopR1XF21	1686,79
	FopR1XRlv	1192,49
	FopR1XMRlv	1237,94
KWP	Fop R1	556,125
	FopR1XBB10	955,36
	FopR1XF21	983,7
	FopR1XRlv	1049,815
	FopR1XMRlv	955,865

JI1412	FopR2	1159
	FopR2XBB10	983,58
	FopR2XF21	1587,63
	FopR2XRlv	1056,17
	FopR2XMRlv	844,1
	FopR2XF21XRlv	1056,17
P21	FopR2	2282,36
	FopR2XBB10	2211,83
	FopR2XF21	1961,12
	FopR2XRlv	1937,78
	FopR2XMRlv	1689,49
	FopR2XF21XRlv	452,64
KWP	FopR2	977,525
	FopR2XBB10	247,485
	FopR2XF21	758,86
	FopR2XRlv	1102,39
	FopR2XMRlv	285,045
	FopR2XF21XRlv	339,855

JI1412	FopArg1	1031,52
	FopArg1XBB10	758,785
	FopArg1XF21	1040,555
P21	FopArg1	1201,05
	FopArg1XBB10	1089,125
	FopArg1XF21	1104,935
KWP	FopArg1	504,705
	FopArg1XBB10	369,9
	FopArg1XF21	564,72

JI1412	FopArg3	703,56
	FopArg3XBB10	888,67
	FopArg3XF21	844,625
P21	FopArg3	1524,34
	FopArg3XBB10	1169,215
	FopArg3XF21	1184,62
KWP	FopArg3	608,25
	FopArg3XBB10	293,865
	FopArg3XF21	428,235

## Biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine chez JI1412

Traitement		JI1412					
		Poids frais			Poids sec		
EDS	Partie aérienne	0,885	±	0,094 <sup>abc</sup>	0,276	±	0,040 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,580	±	0,023 <sup>bcdefg</sup>	0,131	±	0,007 <sup>ab</sup>
R1	Partie aérienne	0,122	±	0,167 <sup>abcde</sup>	0,054	±	0,006 <sup>a</sup>
	Partie sous-terreine	0,155	±	0,122 <sup>abc</sup>	0,005	±	0,001 <sup>a</sup>
R2F42	Partie aérienne	0,329	±	0,223 <sup>a</sup>	0,110	±	0,017 <sup>a</sup>
	Partie sous-terreine	0,065	±	0,018 <sup>a</sup>	0,023	±	0,006 <sup>ab</sup>
Arg1	Partie aérienne	0,650	±	0,118 <sup>bcde</sup>	0,248	±	0,032 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,622	±	0,143 <sup>cdefg</sup>	0,074	±	0,013 <sup>ab</sup>
Arg3	Partie aérienne	0,800	±	0,162 <sup>def</sup>	0,183	±	0,057 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,482	±	0,214 <sup>bcdefg</sup>	0,078	±	0,008 <sup>ab</sup>
F21	Partie aérienne	1,592	±	0,108 <sup>cdef</sup>	0,332	±	0,020 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,660	±	0,047 <sup>cdefg</sup>	0,102	±	0,008 <sup>ab</sup>
R1 X F21	Partie aérienne	0,572	±	0,012 <sup>ab</sup>	0,323	±	0,049 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,265	±	0,049 <sup>abcd</sup>	0,081	±	0,009 <sup>ab</sup>
R2F42 X F21	Partie aérienne	1,570	±	0,083 <sup>cdef</sup>	0,095	±	0,012 <sup>a</sup>
	Partie sous-terreine	0,297	±	0,058 <sup>abcde</sup>	0,035	±	0,002 <sup>ab</sup>
Arg1 X F21	Partie aérienne	1,902	±	0,139 <sup>ef</sup>	0,222	±	0,050 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,647	±	0,172 <sup>cdefg</sup>	0,109	±	0,021 <sup>ab</sup>
Arg3 X F21	Partie aérienne	1,405	±	0,309 <sup>cdef</sup>	0,822	±	0,484 <sup>c</sup>
	Partie sous-terreine	0,187	±	0,023 <sup>abc</sup>	0,057	±	0,015 <sup>ab</sup>
BB10	Partie aérienne	1,675	±	0,038 <sup>cdef</sup>	0,286	±	0,029 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,775	±	0,092 <sup>defgh</sup>	0,153	±	0,017 <sup>b</sup>
R1 XBB10	Partie aérienne	1,902	±	0,315 <sup>ef</sup>	0,297	±	0,015 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,705	±	0,099 <sup>defgh</sup>	0,070	±	0,007 <sup>ab</sup>
R2F42 X BB10	Partie aérienne	1,127	±	0,031 <sup>abcde</sup>	0,124	±	0,009 <sup>a</sup>
	Partie sous-terreine	0,117	±	0,059 <sup>ab</sup>	0,031	±	0,007 <sup>ab</sup>
Arg1 X BB10	Partie aérienne	1,130	±	0,180 <sup>abcde</sup>	0,315	±	0,044 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,332	±	0,075 <sup>bcdef</sup>	0,078	±	0,009 <sup>ab</sup>
Arg3 X BB10	Partie aérienne	1,535	±	0,158 <sup>cdef</sup>	0,361	±	0,018 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,362	±	0,095 <sup>abcdefg</sup>	0,110	±	0,009 <sup>ab</sup>
Rlv	Partie aérienne	1,110	±	0,147 <sup>abcde</sup>	0,176	±	0,039 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,402	±	0,084 <sup>abcdefg</sup>	0,085	±	0,008 <sup>ab</sup>
R1 X Rlv	Partie aérienne	1,045	±	0,103 <sup>abcd</sup>	0,204	±	0,030 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,282	±	0,083 <sup>abcde</sup>	0,089	±	0,016 <sup>ab</sup>
R2F42 X Rlv	Partie aérienne	1,040	±	0,176 <sup>abcd</sup>	0,176	±	0,039 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,402	±	0,084 <sup>abcdefg</sup>	0,077	±	0,009 <sup>ab</sup>
MRlv	Partie aérienne	1,300	±	0,104 <sup>bcdef</sup>	0,526	±	0,033 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,855	±	0,084 <sup>gh</sup>	0,133	±	0,083 <sup>ab</sup>
R1 X MRlv	Partie aérienne	1,240	±	0,088 <sup>bcdef</sup>	0,210	±	0,028 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,830	±	0,073 <sup>fgh</sup>	0,112	±	0,062 <sup>ab</sup>
R2F42 X MRlv	Partie aérienne	1,040	±	0,176 <sup>abcd</sup>	0,186	±	0,017 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terreine	0,730	±	0,102 <sup>defgh</sup>	0,077	±	0,009 <sup>ab</sup>
F21 X Rlv	Partie aérienne	1,959	±	0,100 <sup>f</sup>	0,326	±	0,045 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terreine	0,403	±	0,084 <sup>abcdefg</sup>	0,086	±	0,036 <sup>ab</sup>
R2F42 X F21 X Rlv	Partie aérienne	1,270	±	0,087 <sup>bcdef</sup>	0,731	±	0,100 <sup>bc</sup>
	Partie sous-terreine	0,318	±	0,074 <sup>abcdef</sup>	0,122	±	0,042 <sup>ab</sup>

**Biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine chez le génotype KWP**

Traitement		Kelvedon					
		Poids frais			Poids sec		
EDS	Partie aérienne	1,635	±	0,335 <sup>ef</sup>	0,297	±	0,072 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,215	±	0,005 <sup>ab</sup>	0,088	±	0,008 <sup>bcdef</sup>
R1	Partie aérienne	1,110	±	0,300 <sup>abcde</sup>	0,235	±	0,020 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,215	±	0,085 <sup>ab</sup>	0,074	±	0,017 <sup>abcde</sup>
R2F42	Partie aérienne	0,095	±	0,199 <sup>a</sup>	0,081	±	0,028 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,193	±	0,031 <sup>ab</sup>	0,024	±	0,001 <sup>a</sup>
Arg1	Partie aérienne	1,637	±	0,271 <sup>ef</sup>	0,264	±	0,045 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,197	±	0,021 <sup>ab</sup>	0,087	±	0,018 <sup>bcdef</sup>
Arg3	Partie aérienne	1,053	±	0,012 <sup>abcde</sup>	0,234	±	0,065 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,210	±	0,045 <sup>ab</sup>	0,052	±	0,009 <sup>abc</sup>
F21	Partie aérienne	1,380	±	0,150 <sup>cdef</sup>	0,349	±	0,183 <sup>bc</sup>
	Partie sous-terrain	0,225	±	0,005 <sup>ab</sup>	0,097	±	0,010 <sup>cdef</sup>
R1 X F21	Partie aérienne	1,500	±	0,152 <sup>def</sup>	0,235	±	0,037 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,375	±	0,076 <sup>abcd</sup>	0,065	±	0,007 <sup>abcd</sup>
R2F42 X F21	Partie aérienne	0,282	±	0,060 <sup>abc</sup>	0,104	±	0,019 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terrain	0,195	±	0,015 <sup>ab</sup>	0,032	±	0,004 <sup>a</sup>
Arg1 X F21	Partie aérienne	1,445	±	0,255 <sup>def</sup>	0,200	±	0,040 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,236	±	0,016 <sup>ab</sup>	0,056	±	0,007 <sup>abc</sup>
Arg3 X F21	Partie aérienne	1,170	±	0,020 <sup>abcde</sup>	0,199	±	0,082 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,156	±	0,006 <sup>ab</sup>	0,033	±	0,005 <sup>a</sup>
BB10	Partie aérienne	1,315	±	0,085 <sup>bcdef</sup>	0,384	±	0,033 <sup>c</sup>
	Partie sous-terrain	0,255	±	0,015 <sup>abc</sup>	0,116	±	0,015 <sup>def</sup>
R1 X BB10	Partie aérienne	1,465	±	0,145 <sup>def</sup>	0,194	±	0,036 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,236	±	0,021 <sup>ab</sup>	0,033	±	0,008 <sup>a</sup>
R2F42 X BB10	Partie aérienne	0,296	±	0,005 <sup>abc</sup>	0,079	±	0,010 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,195	±	0,015 <sup>ab</sup>	0,024	±	0,001 <sup>a</sup>
Arg1 X BB10	Partie aérienne	1,310	±	0,087 <sup>bcdef</sup>	0,220	±	0,041 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,380	±	0,095 <sup>abcd</sup>	0,068	±	0,00 <sup>abcd</sup>
Arg 3 X BB10	Partie aérienne	1,790	±	0,305 <sup>ef</sup>	0,344	±	0,035 <sup>bc</sup>
	Partie sous-terrain	0,130	±	0,010 <sup>a</sup>	0,127	±	0,005 <sup>f</sup>
Rlv	Partie aérienne	1,380	±	0,307 <sup>cdef</sup>	0,276	±	0,040 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,433	±	0,194 <sup>abcd</sup>	0,216	±	0,015 <sup>g</sup>
R1 X Rlv	Partie aérienne	0,452	±	0,187 <sup>abcd</sup>	0,057	±	0,007 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,733	±	0,044 <sup>d</sup>	0,074	±	0,008 <sup>abcde</sup>
R2F42 X Rlv	Partie aérienne	0,229	±	0,126 <sup>ab</sup>	0,183	±	0,057 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,130	±	0,010 <sup>a</sup>	0,046	±	0,004 <sup>ab</sup>
MRlv	Partie aérienne	1,012	±	0,065 <sup>abcde</sup>	0,222	±	0,016 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,500	±	0,165 <sup>abcd</sup>	0,088	±	0,008 <sup>bcdef</sup>
R1 X MRlv	Partie aérienne	0,800	±	0,057 <sup>abcde</sup>	0,222	±	0,050 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,156	±	0,006 <sup>ab</sup>	0,033	±	0,008 <sup>a</sup>
R2F42 X MRlv	Partie aérienne	0,132	±	0,029 <sup>a</sup>	0,111	±	0,017 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terrain	0,130	±	0,010 <sup>a</sup>	0,024	±	0,001 <sup>a</sup>
F21 X Rlv	Partie aérienne	2,402	±	0,213 <sup>f</sup>	0,276	±	0,040 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,550	±	0,070 <sup>bcd</sup>	0,088	±	0,008 <sup>bcdef</sup>
R2F42 X F21 X Rlv	Partie aérienne	1,002	±	0,128 <sup>abcde</sup>	0,286	±	0,029 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,650	±	0,035 <sup>cd</sup>	0,119	±	0,014 <sup>ef</sup>

## Biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine chez P21

Traitement		P21					
		Poids frais			Poids sec		
EDS	Partie aérienne	0,562	±	0,176 <sup>abcdef</sup>	0,176	±	0,039 <sup>abcd</sup>
	Partie sous-terrain	0,812	±	0,134 <sup>def</sup>	0,065	±	0,005 <sup>cdef</sup>
R1	Partie aérienne	0,070	±	0,123 <sup>a</sup>	0,061	±	0,026 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,280	±	0,098 <sup>abcd</sup>	0,065	±	0,008 <sup>cdef</sup>
R2F42	Partie aérienne	0,067	±	0,013 <sup>a</sup>	0,055	±	0,014 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,047	±	0,010 <sup>a</sup>	0,006	±	0,001 <sup>ab</sup>
Arg1	Partie aérienne	0,635	±	0,051 <sup>abcdef</sup>	0,098	±	0,007 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,640	±	0,075 <sup>bcdef</sup>	0,058	±	0,007 <sup>abcdef</sup>
Arg3	Partie aérienne	0,590	±	0,110 <sup>abcdef</sup>	0,140	±	0,047 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,203	±	0,104 <sup>abc</sup>	0,067	±	0,005 <sup>cdef</sup>
F21	Partie aérienne	1,110	±	0,147 <sup>ef</sup>	0,233	±	0,037 <sup>cde</sup>
	Partie sous-terrain	0,922	±	0,197 <sup>ef</sup>	0,099	±	0,012 <sup>f</sup>
R1 X F21	Partie aérienne	0,490	±	0,009 <sup>abcd</sup>	0,100	±	0,014 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,190	±	0,090 <sup>ab</sup>	0,052	±	0,024 <sup>abcdef</sup>
R2F42 X F21	Partie aérienne	0,050	±	0,014 <sup>a</sup>	0,042	±	0,004 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,015	±	0,005 <sup>a</sup>	0,005	±	0,001 <sup>a</sup>
Arg1 X F21	Partie aérienne	0,865	±	0,231 <sup>cdef</sup>	0,144	±	0,046 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,537	±	0,075 <sup>abcde</sup>	0,057	±	0,007 <sup>abcdef</sup>
Arg3 X F21	Partie aérienne	0,737	±	0,224 <sup>abcdef</sup>	0,204	±	0,030 <sup>bcd</sup>
	Partie sous-terrain	0,282	±	0,083 <sup>abcd</sup>	0,039	±	0,003 <sup>abcde</sup>
BB10	Partie aérienne	1,040	±	0,034 <sup>ef</sup>	0,144	±	0,034 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,830	±	0,073 <sup>def</sup>	0,075	±	0,008 <sup>def</sup>
R1 X BB10	Partie aérienne	0,255	±	0,168 <sup>abcd</sup>	0,094	±	0,024 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terrain	0,280	±	0,183 <sup>abcd</sup>	0,016	±	0,001 <sup>abc</sup>
R2F42 X BB10	Partie aérienne	0,1333	±	0,083 <sup>ab</sup>	0,051	±	0,010 <sup>a</sup>
	Partie sous-terrain	0,230	±	0,190 <sup>abc</sup>	0,023	±	0,000 <sup>abcd</sup>
Arg1 X BB10	Partie aérienne	0,767	±	0,161 <sup>abcdef</sup>	0,126	±	0,027 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,402	±	0,084 <sup>abcde</sup>	0,058	±	0,003 <sup>abcdef</sup>
Arg3 X BB10	Partie aérienne	0,942	±	0,225 <sup>def</sup>	0,102	±	0,038 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,690	±	0,178 <sup>cdef</sup>	0,059	±	0,006 <sup>bcdef</sup>
Rlv	Partie aérienne	1,035	±	0,099 <sup>ef</sup>	0,176	±	0,039 <sup>abcd</sup>
	Partie sous-terrain	0,812	±	0,134 <sup>def</sup>	0,157	±	0,014 <sup>g</sup>
R1 X Rlv	Partie aérienne	0,842	±	0,108 <sup>bcdef</sup>	0,150	±	0,017 <sup>abcd</sup>
	Partie sous-terrain	0,402	±	0,084 <sup>abcde</sup>	0,092	±	0,006 <sup>ef</sup>
R2F42 X Rlv	Partie aérienne	0,175	±	0,072 <sup>abc</sup>	0,098	±	0,007 <sup>abc</sup>
	Partie sous-terrain	0,537	±	0,075 <sup>abcde</sup>	0,099	±	0,012 <sup>f</sup>
MRlv	Partie aérienne	1,260	±	0,029 <sup>f</sup>	0,176	±	0,018 <sup>abcd</sup>
	Partie sous-terrain	1,122	±	0,112 <sup>f</sup>	0,159	±	0,012 <sup>g</sup>
R1 X MRlv	Partie aérienne	0,737	±	0,224 <sup>abcdef</sup>	0,172	±	0,021 <sup>abcd</sup>
	Partie sous-terrain	0,452	±	0,056 <sup>abcde</sup>	0,102	±	0,011 <sup>f</sup>
R2F42 X MRlv	Partie aérienne	0,082	±	0,008 <sup>a</sup>	0,078	±	0,006 <sup>ab</sup>
	Partie sous-terrain	0,100	±	0,016 <sup>ab</sup>	0,005	±	0,001 <sup>a</sup>
F21 X Rlv	Partie aérienne	2,210	±	0,106 <sup>g</sup>	0,283	±	0,024 <sup>de</sup>
	Partie sous-terrain	0,402	±	0,084 <sup>abcde</sup>	0,068	±	0,003 <sup>cdef</sup>
R2F42 X F21 X Rlv	Partie aérienne	1,110	±	0,147 <sup>ef</sup>	0,358	±	0,038 <sup>e</sup>
	Partie sous-terrain	0,830	±	0,073 <sup>def</sup>	0,229	±	0,042 <sup>h</sup>

Les valeurs suivies de la même lettre appartiennent au même groupe homogène au risque  $p < 0,05$  ; l'analyse de variance étant significative, la comparaison des moyennes a révélé l'existence de 27 groupes homogènes, dont 8 groupes individuels et 19 groupes intermédiaires (a, b, ab, c, abc, bc, d, abcd, cd, e, abcde, cde, de, f, abcdef, bcdef, cdef, def, ef, g, abcdefg, bcdefg, cdefg, defg, h, defgh et fgh)