

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LARECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**



**Université deBlida1  
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie**

**Département De Biotechnologie**

**Mémoire de fin d'études**

**En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique**

**Option : Biotechnologie Microbienne**

**Isolement et caractérisation des bactéries antagonistes contre *Fusarium oxysporum f sp lycopersici* agent causal de la fusariose vasculaire de la tomate**

**Présenté par :**

**Mlle KOUIDRI Bouchra**

**et**

**Mlle BELHADJAR Hadjer**

**Soutenu devant les membres de jury**

**M<sup>me</sup> BENKORTEBY. H      Présidente      M.A.A      U.BLIDA1.**

**M<sup>me</sup> BENSaid. F      Promotrice      M.A.A      U.BLIDA1.**

**M<sup>lle</sup> MEKHALDI. D      Examinatrice      Docteur      U.BLIDA 1.**

**2020/2021**

## Remercîment

Nous remercions, tout d'abord, Dieu tout puissant, qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à Mme BENSALD F. Maître-assistant à l'université Blida 01, pour avoir accepté de nous encadrées pour sa patience, et surtout pour sa confiance, ses remarques et ses conseils, sa disponibilité et sa bienveillance. Qu'elle trouve ici le témoignage de notre profonde gratitude.

Nous voudrions également remercier les membres du jury :

Nos remerciements sincères et respectueux s'adressent à Mme BENKORTBY H. Maître assistant à l'université Blida 01, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider notre travail et lui demande d'accepter notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements s'adressent également à Mme MEKHELDI D. Docteur à l'université Blida 01 d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Notre gratitude ira également à Mr BENCHABENE M. Chef d'option de la spécialité biotechnologie microbienne à l'université Blida 01.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous nos enseignants qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect et d'un profond amour.

Nous ne saurons oublier de remercier tous qui ont, de près ou de loin, contribué à la réalisation de ce travail, et toute personne qui nous a éclairé le chemin

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à :

Mes chères parentes, surtout ma mère **Fatema Zohra** qui m'a arrosé de tendresse et d'espoir, à ma source d'amour et mes grands-parents maternel, pour leur prière durant toutes ces longues années d'études, pour leur courage, amour, soutien et l'éducation qui ont fait de moi ce que je suis, vous êtes simplement mon monde et la source de mon bonheur.

Mes chères tantes :

**Naziha, Akila, Nadia, Anissa**, pour leur amour et l'espoir qu'elles ont mis en moi.

Mes oncles :

**Mohamed, Nouredine, Seliman**

**Karima et Redouane** qui m'ont toujours soutenu et être présent à mes côtés.

**Oualid, Zaki** pour leur soutien moral et m'avoir encouragé

Mon binôme « **Hadjer** » pour tous les moments agréables que nous avons passé ensemble.

Je te souhaite toute la réussite et le bonheur dans la vie.

**Maissa et Rahil** pour leur aide

Je le dédie également a mes amis :

**Feriel, Fida, Lyna, Meriem, Rofeida, Cylia, Samy, Neyla, Sofia.**

**Bouchra**

## Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

Et spécialement à mon père qui m'a soutenu et supporté durant ces années d'études. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance et amour.

A mes sœurs **Aya** et **Meriem**, mon frère **Abdelghani**  
pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À mon chère ami **Aymen**, à mes chères amies **Rahil, Kaouther, Naouel, Yasmine, Achouak, Nedjwa, Bouthaina, Meriem, Maissa** et **Ikram** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral, leur présence à mes côtés à chaque moment.

À ma chère amie et mon binôme **Bouchra** pour son appui son encouragement et pour tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.

**Hadjer**

**Isolement et caractérisation des bactéries antagonistes contre *Fusarium oxysporum f sp lycopersici* agent causal de la fusariose vasculaire de la tomate**

## **Résumé**

La fusariose vasculaire de la tomate est parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes. A cause de sa capacité saprophytique, sa conservation dans le sol et la demande sociale d'un produit sain, la lutte biologique peut constituer une alternative aux produits chimiques. Dans ce contexte de la lutte biologique, notre travail consiste en une étude bibliographique portant sur l'effet des rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire de la tomate.

Parmi les PGPR, les *Pseudomonas spp. fluorescents* sont les bactéries les plus expérimentés, testées avec succès dans de nombreux essais conduits en conditions contrôlées, en plein champs, et en conditions naturelles. De nombreux travaux ont montré l'importance de ces rhizobactéries dans le biocontrôle de plusieurs agents phytopathogènes, dans la stimulation de la croissance des plantes et leur rôle bénéfique « écologique » dans la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol. Ces bactéries sont souvent dominantes au sein de la communauté microbienne rhizosphérique, elles se rencontrent dans tous les horizons, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes ou au voisinage immédiat des racines.

Sommairement, les effets bénéfiques des *Pseudomonas spp. fluorescents* se présentent directement sur la plante, en stimulant sa croissance et en améliorant sa nutrition minérale et indirect par l'inhibition et l'élimination des effets néfastes du pathogène par l'antibiose et la compétition.

A cause de la complexité, la diversité et de la richesse du sol en microorganismes, actuellement, peu de souches antagonistes potentiellement efficaces ont été examinées sous des conditions expérimentales. Dans le cas des *Pseudomonas spp. fluorescents*, la sélection des souches réellement efficaces se base sur ses capacités antagonistes *in vitro* et *in situ*. Ensuite l'identification de ces souches par des techniques morphologiques, biochimiques et moléculaires est indispensable. Les souches ainsi sélectionnées et identifiées doivent subir des procédés de bioformulations, pour avoir un biopesticide.

**Mots clés :** *Fusarium oxysporum f sp lycopersici*, PGPR, *Pseudomonas spp. fluorescents*, biocontrôle.

**Isolation and characterization of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* causative agent of vascular fusarium wilt in tomato**

## **Abstract**

Tomato vascular fusarium wilt is one of the most serious and common diseases. Because of its saprophytic capacity, its conservation in the soil and the social demand for a healthy product biological control can be an alternative to chemicals. In this context of biological control, our work consists of a bibliographic study on the effect of rhizobacteria which promote plant growth (PGPR) in the biocontrol of vascular *Fusarium* wilt in tomatoes.

Among the PGPRs, the *fluorescent Pseudomonas spp.* are the most experienced bacteria, tested successfully in numerous tests carried out under controlled conditions, in open fields, and in natural conditions. Numerous studies have shown the importance of these rhizobacteria in the biocontrol of several phytopathogenic agents, in the stimulation of plant growth and their beneficial "ecological" role in the degradation of certain xenobiotic substances in the soil. These bacteria are often dominant within the rhizospheric microbial community, they are found in all horizons, particularly on the root systems of plants or in the immediate vicinity of the roots.

Briefly, the beneficial effects of *fluorescent Pseudomonas spp.* are shown directly on the plant, by stimulating its growth and improving its mineral nutrition and indirectly by inhibiting and eliminating the harmful effects of the pathogen by antibiotics and competition.

Due to the complexity, diversity and richness of the soil in microorganisms, currently, few potentially effective antagonist strains have been examined under experimental conditions. In the case of *fluorescent Pseudomonas spp.*, the selection of the truly effective strains is based on its *in vitro* and *in situ* antagonistic capacities. Then the identification of these strains by morphological, biochemical and molecular techniques is essential. The strains thus selected and identified must undergo bioformulation processes, in order to have a biopesticide.

**Key words:** *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, PGPR, *Pseudomonas spp. fluorescents*, biocontrol

العامل المسبب لذبول الفيوزاريوم *lycopersici sp f oxysporum Fusarium* عزل وتوصيف البكتيريا المضادة ضد  
الوعائي في الطماطم

## الملخص

يعتبر ذبول الطماطم الفيوزاريوم الوعائي من أخطر الأمراض وأكثرها شيوعاً. بسبب قدرتها على الترميم، وحفظها في التربة للمواد الكيميائية. في سياق هذه المكافحة البيولوجية، يتكون عملنا من الطلب الاجتماعي لمنتج صحي، يمكن أن تكون المكافحة البيولوجية بديل في المكافحة الحيوية لذبول الفيوزاريوم (PGPR) دراسة ببلوغرافية عن تأثير البكتيريا الجذرية التي تعزز نمو النبات الوعائي في الطماطم.

من بين البكتيريا الأكثر تجربة، وتم اختبارها بنجاح في العديد من الاختبارات *fluorescent spp Pseudomonas* تعتبر PGPR

التي أجريت في ظل ظروف خاضعة للرقابة، في الحقول المفتوحة، وفي الظروف الطبيعية. وقد أظهرت العديد من الدراسات أهمية هذه البكتيريا الجذرية في المكافحة الحيوية للعديد من العوامل الممرضة للنبات، في تحفيز نمو النبات ودورها البيئي المفيد في تحلل بعض المواد الحيوية الضارة في التربة. غالباً ما تكون هذه البكتيريا مهيمنة داخل المجتمع الميكروبي الجذري، وتوجد في جميع الأفاق، ال سيما في أنظمة جذر النباتات أو في الجوار المباشر للجذور

باختصار، تظهر التأثيرات المفيدة مباشرة على النبات، من خلال تحفيز نموه وتحسين تغذيته المعدنية وبشكل غير مباشر عن طريق تثبيط وإزالة الآثار الضارة للممرض عن طريق المضادات الحيوية والمنافسة

نظراً لتعقيد وتنوع وثرء التربة بالكائنات الحية الدقيقة، حالياً، تم فحص عدد قليل من سلالات مضادات فعالة في ظل يعتمد اختيار السلالات الفعالة على قدراتها الداخلية والمضادة ، *fluorescent spp Pseudomonas* ظروف تجريبية. في حالة للداخل. ومن ثم فإن تحديد هذه السلالات من خلال التقنيات المورفولوجية والكيميائية الحيوية والجزئية أمر ضروري. يجب أن تخضع السلالات المختارة والمحددة على هذا النحو لعمليات التشكيل الحيوي، من أجل الحصول على مبيد حيوي.

المفتاحية الكلمات ا: PGPR، *Fusarium oxysporum f sp lycopersici*، *Pseudomonas spp fluorescent*

## Liste des abréviations

**%** Pourcent

**°C** Degré Celsius

**ACC** 1-amino-cyclopropane-1 carboxylate

**AIA** Acide indole-3-acétique

**Cm** Centimètre

**DAPG** Diacetylphloroglucinol

**Fol** *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*

**Forl** *Fusarium oxysporum f.sp radicis-lycopersici*

**g** Gramme

**h** Heure

**HCN** Cyanure d'Hydrogène

**IPM** Integrated Pest Management

**ISR** Induced Systemic Resistance

**Kb** Kilo base

**Kcal** Kilocalorie

**mg** Milligram

**ml** Millilitres

**mm** Millimètre

**mn** Minute

**NaCl** Chlorure de sodium

**nm** Nanometre

**PCA** Phenazine-1-carboxylat

**PCN** Phenazine-1-carboxamide



**PCR** Réaction de polymérisation en chaîne

**PDA** Potato Dextrose Agar

**PGPR** Plant Growth Promoting Rhizobacteria

**RFLP** Polymorphisme de Longueur des Fragments de restriction

**UI** Microlitre

**UV** Ultra-Violet

**VCG** Groupe de comptabilité végétative

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de tomate crue (Favier <i>et al.</i> ,2003) .....	8
--	---

# Liste des figures

## **Chapitre II:**

- Figure 1 :** Identification de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) ..... 16
- Figure 2 :** Cycle général de la maladie flétrissement vasculaire causée par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* chez la tomate (Agrios, 2005) ..... 20
- Figure 3 :** Les différents symptômes de la flétrissure vasculaire de la tomate ..... 24

## **Chapitre III:**

- Figure 4 :** Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes (Mattar, 1993) ..... 31

## **Chapitre IV:**

- Figure 5 :** Essais d'antagonisme *in vitro* entre *Pseudomonas spp fluorescents* et *Fusarium.oxysporum* (Boukerma, 2012) ..... 40
- Figure 6 :** Plaques de micro titrage à 96 puits (Ghorri, 2015) ..... 47
- Figure 7 :** System BIOLOG (Ghorri, 2015) ..... 48
- Figure 8 :** Résultats de BIOLOG (Ghorri, 2015) ..... 49

# Sommaire

**Remerciment**

**Dédicace**

**Résumé**

**Abstract**

**المخلص**

**Liste des abréviations**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

Introduction ..... 1

## **Chapitre I : Etude bibliographique sur la plante hôte**

1	Historique et origine .....	3
2	Classification taxonomique.....	3
3	Description botanique.....	4
4	Cycle biologique de la tomate .....	4
4.1	Germination.....	4
4.2	Croissance.....	4
4.3	Floraison .....	5
4.4	Pollinisation .....	5
4.5	Fécondation et nouaison.....	5
4.6	Maturation du fruit .....	5
5	Les exigences écologiques et climatiques de la tomate .....	5
5.1	La température .....	5
5.2	Humidité .....	6
5.3	Eau.....	6
5.4	Lumière.....	6
5.5	Sol.....	6
5.6	pH.....	6
6	La valeur nutritionnelle .....	6
7	La culture de la tomate .....	9
7.1	Culture en plein champ .....	9
7.2	Culture sous abris.....	9

8	Les variétés de la tomate.....	9
8.1	Selon le mode de fécondation.....	9
8.1.1	Les variétés anciennes «fixées».....	9
8.1.2	Les variétés hybrides.....	9
8.2	Selon le mode de croissance.....	9
8.2.1	Les variétés à port déterminée.....	10
8.2.2	Les variétés à port non déterminée.....	10
9	Les maladies de la tomate.....	10
9.1	Les maladies abiotiques de la tomate.....	10
9.2	Les maladies biotiques de la tomate.....	10

## Chapitre II : La fusariose vasculaire de la tomate

1	Le flétrissement vasculaire de la tomate.....	12
2	Généralité sur le <i>Fusarium oxysporum</i> .....	12
3	L'agent causal <i>Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici</i> .....	13
3.1	Les différentes races de <i>Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici</i> .....	14
3.2	Les groupes de comptabilité végétative(VCG).....	14
3.3	Caractérisation morphologique de <i>Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici</i> .....	15
3.3.1	Caractères culturels.....	15
3.3.1.1	Macroscopique.....	15
3.3.1.2	Microscopique.....	15
3.3.2	Caractères taxonomiques.....	16
4	Facteurs favorables au développement de champignon.....	16
5	Le cycle biologique de champignon.....	17
5.1	Mode de progression.....	18
5.2	Processus d'infection.....	18
6	Les mécanismes d'action de <i>Fo</i> /.....	20
6.1	Enzymes lytiques.....	20
6.2	Mycotoxines.....	21
6.3	Les protéines.....	22
7	Propagation.....	23
8	Symptômes.....	23
9	Moyennes de lutte.....	24
9.1	Lutte culturale.....	25
9.2	Lutte chimique.....	26

9.3	Lutte physique .....	26
9.4	Lutte agronomique.....	26
9.5	Lutte génétique.....	27
9.6	Lutte intégrée .....	27
9.7	Lutte biologique .....	27
<b>Chapitre III: Biocontrôle de la fusariose vasculaire par les PGPR</b>		
1	Généralités sur le biocontrôle .....	28
2	La rhizosphère et les bactéries rhizosphériques.....	29
3	Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes(PGPR).....	29
4	Mécanismes d'action des PGPR sur la plante .....	30
5	Mécanismes d'action des <i>Pseudomonas</i> spp fluorescent .....	31
5.1	Les mécanismes directs.....	31
5.1.1	Production de substances de croissance des plantes.....	32
5.1.1.1	La production des phytohormones .....	32
5.1.1.2	Amélioration de la nutrition minérale.....	33
5.1.1.2.1	Dénitrification .....	33
5.1.1.2.2	Solubilisation de phosphate .....	33
5.1.1.2.3	Chélation du fer .....	33
5.1.2	Induction de la résistance systémique.....	34
5.2	Les mécanismes indirects.....	35
5.2.1	La compétition trophique.....	35
5.2.2	L'antibiose .....	35
5.2.2.1	Production des antibiotiques.....	36
5.2.2.1.1	Les phénazines .....	36
5.2.2.1.2	Phloroglucinols.....	36
5.2.2.1.3	Pyrolnitrine(PRN) .....	37
5.2.2.2	Production des produits volatils .....	37
5.2.2.3	Les enzymes .....	37
<b>Chapitre IV : Isolement et caractérisation des PGPR cas de <i>Pseudomonas</i> spp fluorescent</b>		
1	Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> .....	38
2	Isolement et purification .....	38
2.1	Préparation des dilutions .....	39
2.2	Mise en culture .....	39
2.3	Purification.....	39

3	Antagonisme <i>in vitro</i> et <i>in situ</i> .....	39
3.1	Antagonisme <i>in vitro</i> .....	39
3.2	Antagonisme <i>in situ</i> .....	41
4	Identification des souches .....	43
4.1	Identification morphologique .....	43
4.1.1	Production du pigment fluorescent .....	43
4.1.2	Coloration de Gram.....	43
4.2	Identification biochimique .....	44
4.2.1	Recherche de la catalase .....	44
4.2.2	Recherche de l'oxydase .....	44
4.2.3	Mobilité .....	44
4.2.4	Les galeries Api 20NE .....	44
4.2.5	Fermentation des sucres .....	45
4.2.6	Dénitrification .....	45
4.2.7	Protéolyse .....	46
4.2.8	Argininedihyrolase .....	46
4.2.9	Test d'hyper sensibilité .....	46
4.2.10	Production de levane sucrase.....	46
4.2.11	Le système BIOLOG .....	47
4.3	Identification génétique .....	49
4.3.1	Extraction de l'ADN.....	49
4.3.2	Dosage de l'ADN.....	49
4.3.3	Amplification par PCR.....	49
4.3.4	Electrophorèse sur gel d'agarose .....	50
4.3.5	Séquençage.....	50
4.3.6	Analyse phylogénique .....	50
5	Importance et commercialisation des biopesticides .....	51
5.1	Importance .....	51
5.2	Marché des biopesticides.....	51
5.3	Critères de choix des biopesticides commercialisées .....	52
	Conclusion.....	53

## Références bibliographiques

### Annexe

# *Introduction*



## Introduction

La tomate est parmi les cultures maraîchères les plus importants du monde. Cette culture est une composante vitale de l'alimentation quotidienne (Brookie *et al.*, 2018). Elle se prépare à partir de produits frais ou transformés industriellement en conserves ou surgelés, sous forme de purée, de concentré, de condiment, de sauces et de plats préparés (ALIQUI, 2020).

Malheureusement, le développement de cette culture est influencé par plusieurs contraintes abiotiques comme les conditions climatiques (température et humidité relative) et les conditions culturales non maîtrisables (Picot *et al.*, 2012), et d'autres contraintes biotiques causées par divers agents pathogènes, nématodes, insectes, bactéries, champignons et virus causant des pertes de rendement considérables engendrant des dommages économiques non négligeables (Naika *et al.*, 2005).

L'un des agents pathogènes les plus sévères de la culture de la tomate à travers le monde sont des parasites d'origine tellurique. Les champignons appartenant au genre *Fusarium* engendrent d'importantes maladies aux végétaux qui entraînent une réduction importante de rendement, et qui constituent une menace pour la santé humaine et l'environnement (Causse *et al.*, 2000).

Parmi les maladies fongiques fusariennes qui affectent la tomate, la fusariose vasculaire due au *Fusarium oxysporum* *sp. Lycopersici* (Fol) est l'une des maladies les plus graves et les plus fréquentes de la tomate (Naika *et al.*, 2005). Cet agent de tracheomycose fusarienne est à l'origine des pertes de rendement de 30 à 40% et pouvant atteindre même 80% de pertes, dans des conditions météorologiques favorables (Nirmaladevi *et al.*, 2016). Le champignon tellurique germe puis pénètre dans la plante par le biais des stomates, des blessures ou parfois même directement à travers la peau de la plante, et développe des filaments mycéliens dans les tissus (Naika *et al.*, 2005).

Au cours des dernières décennies, la surutilisation d'engrais chimiques et de fongicides pour protéger les légumes de serre a constitué une menace pour la sécurité humaine et l'environnement (Pilkington *et al.*, 2010). La lutte biologique, au contraire est considérée comme une alternative très prometteuse, en utilisant des moyens respectueux de l'environnement et de la santé du consommateur.

Parmi les microorganismes utilisés dans le biocontrôle, les bactéries antagonistes peuvent constituer l'un des outils de lutte biologique contre les maladies telluriques (Yuan et Crawford, 1995 ; Emmert et Handelsman, 1999 ; Xiao *et al.*, 2002 ; Bressan, 2003).

Certaines bactéries associées aux plantes, les rhizobactéries promotrices de la croissance de la plante (PGPR) ont la possibilité d'induire la résistance systémique chez les plantes, le biocontrôle des maladies et la phytostimulation des plantes (Choudhary *et al.*, 2009). Et qui peuvent agir directement et indirectement sur la plante à travers la production de composés antimicrobiens, d'enzymes lytiques, des toxines antifongiques, de la compétition pour la colonisation des sites infectieux et des éléments nutritifs (Pal et Gardener, 2006).

Parmi les PGPR, les *Pseudomonas* sont les bactéries les plus fréquemment étudiées en Algérie et même dans le monde (Podile et Kishor, 2006), par plusieurs auteurs et centres de recherche tels que Henni *et al.*, (1994), Mezaache-Aichour *et al.*, (2012), et Toua *et al.*, (2013). Elles ont une diversité fonctionnelle importante, en effet, la plupart des *Pseudomonas* agissent par une action d'antibiose tels que la synthèse des phénazines, des pyolutéorine, des pyrrolnitrine et de 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) (Haas et Défago, 2005). Ces bactéries sont également capables de synthétiser des sidérophores appelés pyoverdines ou pseudobactines, impliquées dans l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes (Lemanceau *et al.*, 2009, Vansuyt *et al.*, 2007).

Notre travail consiste en une étude bibliographique portant dans le contexte de la lutte biologique de la fusariose vasculaire de la tomate comme une alternative de la lutte chimique. Notre étude a été portée sur quatre points importants :

- La première partie a porté sur une généralité sur la plante hôte.
- La deuxième partie a pour but d'étudier la fusariose vasculaire due à *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, caractères morphologiques, cycle biologique et ses caractères épidémiologiques.
- La troisième partie a porté sur des généralités sur les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes et ses modes d'actions directes et indirectes pour la plante.
- La dernière partie a été basée sur les techniques d'isolement, de sélection et de caractérisation des bactéries antagonistes appartenant au genre *Pseudomonas spp. fluorescent*.

**Chapitre I**  
**Etude bibliographique sur**  
**la plante hôte**

## 1 Historique et origine

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) appartient à la famille des solanacées comme la pomme de terre, le poivron, l'aubergine (Causse *et al.*, 2000). Origine de l'Amérique du sud (Equateur, Pérou) (Laumonier, 1979). Elle a été d'abord cultivée pour la première fois au Mexique par les indiens (Benard, 2009) ou neuf espèces ont été observées dont deux comestibles. *Solanum pimpinellifolium* et *Solanum lycopersicum cerasiforme* (tomate cerise) qui est l'ancêtre de notre tomate actuelle (Renaud, 2006). Ensuite elle a été introduite en Europe par les espagnoles et c'est par les italiens qu'elle a été consommée pour la première fois au 16ème siècle comme plante ornementale (Damidaux, 1989). Ce n'est qu'au cours des années 1920-1930 qu'elle commença à être largement commercialisée (Toufouti, 2013).

Parmi les noms communs utilisés pour désigner la tomate : tomate « français et espagnol » ; jitomate « espagnol mexicain » ; pomodoro qui se traduit par (pome d'or) « italien » ; tomati « Afrique de l'ouest » ; tomat « indonésien » ; faan ke'e « chinois » , ( طماطم ) « Arabe » (Naika *et al.*, 2005).

En Algérie se sont les cultivateurs du sud de l'Espagne qui l'ont introduite étant donné les conditions qui lui sont propices. Sa consommation a commencé dans la région d'Oran en 1905 puis elle s'étendit vers le centre notamment au littoral algérois (Latigui, 1984).

## 2 Classification taxonomique

la classification de la tomate a été établie comme suit :

Domaine	eucaryota
Régne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Super ordre	Asteranae
Ordre	Solanales
Famille	Solanacées
Genre	<i>Lycopersicon</i>
Espèce	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill

### 3 Description botanique

La tomate est une plante herbacée appartenant à la famille des solanacées. Elle est une plante annuelle qui peut atteindre une hauteur de plus de deux mètres (Chaux et Foury, 1994).

**Racine :**

- Possède une forte racine
- Pousse jusqu'à une profondeur de 50cm ou plus (Shankara, 2005)

**Tige :**

- Pousse jusqu'à une longueur de 2 a 4 m
- Elle est pleine et fortement poilue et glandulaire (Boutoumou et Boumaza, 2016)

**Feuillage :**

- Spirale
- 15 à 50 cm de long
- 10 à 30 cm de large(Boutoumou et Boumaza, 2016)

**Fleurs :**

- Bisexuées
- Diamètre entre 1.5 et 2 cm
- Constituées de 6 pétales qui mesure une longueur de 1 cm
- Poussent opposées aux ou entre les feuilles(Shankara, 2005)

**Fruits :**

- Diamètre de 1 a 15 cm
- La couleur des fruits murs varie du jaune au rouge en passant par l'orange
- Ronds et réguliers ou côtelés(**Boutoumou et Boumaza, 2016**)

**Graine :**

- 3 à 5 mm de long
- 2 à 4 mm de large
- En forme de rein ou poire
- Aspect poilu et une couleur beige (**Shankara et al, 2005**)

### 4 Cycle biologique de la tomate

Le cycle végétatif complet de la tomate varie selon les variétés, l'époque et les conditions de culture. Le cycle comprend 6 phases essentielles (Gallais et Bannerot, 1992).

#### 41 Germination

A température ambiante environ 20°C et une humidité relative de 70 à 80%. C'est le stade de levée qui mène la graine jusqu'à la jeune plante capable de croître normalement (Chaux et Foury, 1994), qui s'effectue au bout de 6 à 8 jours (Haut, 2008).

#### 42 Croissance

La croissance de la plante de tomate se déroule en 2 phases et dans deux milieux différents :

- **En pépinière** : De la levée jusqu'au stade 6 feuilles, on remarque l'apparition des racines non fonctionnelles et des prés-feuilles.

- **En plein champ** : Les plantes continuent leur croissance et la tige s'épaissit et le nombre de feuilles augmente, après l'apparition des feuilles à photosynthèse intense et des racines fonctionnelles (Laumonnier, 1979).

#### 43 Floraison

Correspond à l'épanouissement des fleurs. C'est le stade d'apparition et développement des ébauches florales.

La floraison début aux 6 à 7 semaines après le semis dans les conditions favorables (Rey et Costes, 1965).

#### 44 Pollinisation

Nécessite l'intervention des agents extérieurs comme le vent et les insectes comme le Bourdon qui a la capacité de libérer le pollen (Chaux et Foury, 1994).

La libération et la fixation du pollen dépend des facteurs climatiques. Dans des conditions de température nocturne inférieure à 13°C, les grains de pollen sont vides. Alors qu'une humidité stable dessèche les stigmates qui résultent la difficulté du dépôt du pollen (Pesson et Louveaux, 1984).

#### 45 Fécondation et nouaison

Le temps écoulé entre la pollinisation et la fécondation à température normale est environ 2 à 3 jours. 9 à 53 jours après la pollinisation, le fruit atteint sa maturité et l'ovaire grossi.

La température de nouaison comprise entre 13°C et 15°C et les nuits chaudes à 22°C sont défavorables à la nouaison (Rey et Costes, 1965).

#### 46 Maturation du fruit

La maturation du fruit est caractérisée par le changement de la couleur vert au rouge. La lumière intense permet la synthèse active de matière organique qui est transportée rapidement vers les fruits en croissance, pour cela il faut une température de 18°C la nuit et 27°C le jour (Rey et Costes, 1965).

## 5 Les exigences écologiques et climatiques de la tomate

La tomate a plusieurs exigences particulières sensibles au froid, craint beaucoup le gel, les vents chauds et très exigeant en température (Polese,2007).

### 5.1 La température

La tomate demande un climat relativement frais et sec pour fournir une récolte abondante et de qualité. La température optimale pour la plupart des variétés se situent entre 21 et 24°C. En dessous de 10°C et en dessous de 38°C les végétaux sont en dommages. L'équilibre entre la température diurne et nocturne est nécessaire pour obtenir une bonne croissance et une bonne nouaison de la tomate (Shankara,2005 ).

### 5.2 Humidité

Elle a un rôle important pour une meilleure végétation de la tomate. 50 à 60% represent l'intervalle de l'humidité optimale de l'air (Naika *et al.*, 2005). Un taux d'humidité forte accompagnée de la chaleur il favorise le développement des maladies cryptogamique (Laumonnier, 1979). Alors qu'un taux d'humidité faible constitue une source de stress pour la plante (Baptista *et al.*, 2012).

### 5.3 Eau

La tomate est très exigeante en eau (Chaux et Foury, 1994). Il est important de prévoir un rapport d'eau suffisant au cours de la fructification, les tress cause par une carence d'eau et les longues périodes arides fait tomber les bourgeons et les fleurs et provoque le fendillement des fruits (Munro et Small,1998).

### 5.4 Lumière

La tomate est une plante exigeante en énergie lumineuse, donc il est nécessaire d'assurer la longueur de l'obscurité pour le contrôle de sa croissance et son développement (CiradetGret,2002). En outre l'intensité de la lumière affecte la couleur des feuilles, la mise à fruits et la couleur des fruits (Naika *etal.*,2005).

### 5.5 Sol

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention d'eau et une bonne aération. Elle préfère des sols profonds et bien drainées (Shankara *et al.*, 2005).

### 5.6 pH

La tomate tolère modérément un large intervalle de valeur du ph, mais la culture de tomate pousse le mieux dans des sols légèrement acide ou le ph varie entre 5.8 et 6.8 (Shankara *et al.*,2005).

## 6 La valeur nutritionnelle

La tomate est un légume-fruits indispensable dans notre alimentation quotidienne (cru, cuit, transformé en jus du fruit, sauce, ketchup et conserve) (Sharoni et Levi, 2006). Elle est riche en eau (93 à 95%) constitué de nombreux éléments minéraux et oligo-éléments et vitamines B. Elle est pauvre en calorie (15Kcal/100g) car elle reforme que des faibles quantités de glucide, protéine, lipide (Favier *et al.*, 2003). La tomate a un effet protecteur contre les maladies telles que le cancer et les maladies cardiovasculaire dû à sa richesse en composants antioxydants (Borguini et Torres, 2009) parmi eux le lycopéne qui donne sa couleur rouge à la tomate (Periago *et al.*, 2009).

Le lycopéne le plus puissant antioxydant des caroténoïdes a présente d'autres effets bénéfiques sur la santé tels que l'induction de la communication entre les cellules, la modélisation des hormones du système immunitaire et d'autres voies métaboliques (Balasundram *etal.*, 2006)



**Tableau 1** : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de tomate crue (Favier *et al.*, 2003)

<b>Eau</b>		93.8g
<b>Eléments énergétiques</b>	Protides	0.8g
	Glucides	3.5g
	Lipides	0.3g
<b>Vitamines</b>	Provitamine A	0.6mg
	Vitamine B1	0.06mg
	Vitamine B2	0.05mg
	Vitamine B6	0.08mg
	Vitamine C	18mg
	Vitamine PP	0.6mg
<b>Minéraux</b>	Fer	0.4mg
	Calcium	9mg
	Magnésium	11mg
	Phosphore	24mg
	Potassium	226mg
	Sodium	5mg
<b>Fibres</b>		1.2g

## 7 La culture de la tomate

La tomate est cultivée selon deux systèmes :

### 7.1 Culture en plein champ

Ce mode de culture est le plus répandu, si l'irrigation est disponible les plantations peuvent être faites en saison sèche. La mécanisation est souvent réduite à la préparation du sol (Cirad, 2000).

### 7.2 Culture sous abris

Ce système de culture vise à produire au long de l'année (Cirad, 2000). La culture sous abri fournit aujourd'hui une part essentielle du marché de frais pour les légumes-fruits parmi eux la tomate (Jeannequin *et al.*, 2005).

## 8 Les variétés de la tomate

Il existe plusieurs variétés de tomates, peuvent être classées d'après leurs caractères morphologiques et botaniques et selon le mode de fécondation et le mode de croissance (Shankara *et al.*, 2005).

### 8.1 Selon le mode de fécondation

Il existe deux types de variétés :

#### 8.1.1 Les variétés anciennes « fixées »

Il existe plus de 500 variétés fixées, leur fruit est plus sensible aux maladies, donnent en général des fruits d'excellente qualité gustative (Pole, 2007).

#### 8.1.2 Les variétés hybrides

Les variétés hybrides sont plus d'un millier, leur diamètre est plus régulier. Caractérisées par leur aspect hétérogène qui conduit à une apparition de gènes codants pour la résistance aux maladies (Chaux et Fourré, 1994).

## 8.2 Selon le mode de croissance

Selon le mode de croissance il y a deux types de variétés :

### 8.2.1 Les variétés à port déterminée

Leur croissance s'arrête une fois que la plante produit trois à quatre bouquets floraux seulement, Ce sont donc des variétés naines. C'est dans ce type de tomate qu'on trouve le plus souvent les variétés industrielles de conserverie (Polese,2007).

### 8.2.2 Les variétés à port non déterminée

Les variétés nécessitent un taillage et un éborgnement régulier, elles continuent de pousser et produire des bouquets des fleurs tant que les conditions sont favorables. Elles sont une production plus étalée et sont plus productives en général que les tomates à port déterminée (Polese,2007).

## 9 Les maladies de la tomate

Les cultures de la tomate dans le monde sont menacées par plusieurs maladies abiotiques comme la température et la carence des éléments nutritifs, et biotiques qui sont causées par divers agents pathogènes tels que : les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les insectes (Causse, 2000). Le nombre des maladies affectant la tomate est important des centaines sont due à des bioagresseurs et plus de 50 affections non parasitaires. Ces derniers jouent un rôle important dans la production, l'économie, l'environnement et la sante de l'homme (Blancard,2009).

### 9.1 Les maladies abiotiques de la tomate

Elles sont nombreuses et touchent plus les racines, la tige, le feuillage et les fruits (Messiaen *et al.*,1993). Généralement sont provoquées par des carences au niveau des éléments nutritifs et par des conditions climatiques défavorables. Parmi eux les plus répandues sont:

- La pourriture apicale, provoquée par une carence en calcium.
- Le fendillement des fruits suite à de grandes fluctuations dans la teneur en humidité du sol ou de la température.
- La tige boursouflée, suite à une alimentation azotée excessive (Shankara *et al.*,2005).

### 9.2 Les maladies biotiques de la tomate

Les maladies biotiques sont celles qui sont causées par des organismes vivants principalement (des bactéries, des champignons, des virus et des nématodes et ravageurs). Le groupe de ces maladies comprend la plupart des maladies communes et graves de la tomate (Trouttin *et al.*, 1995).

Les maladies les plus importantes à savoir, des maladies fongiques causées par les champignons sont les plus fréquentes comme, le mildiou (*Phytophthora infestans*), la pourriture des racines et du

collecte (*F. oxysporum* f sp. *Radicis lycopersici*), flétrissure fusarienne (*F. oxysporum* fsp.*lycopersici*)(Cause,2000;Naikaetal.,2005),des maladies bactériennes telle que: chancre bactérien (*Clavibacter michigonensis*) (Benchabene et al.,2008), moucheture bactérienne (*Pseudomonassyringae*), Tache bactérienne(*Xanthomonascampestris*)(Allal,2009),et diverses maladie virales comme: *Tomato Chlorosis Virus*(ToCV)transmis par plusieurs espèce d'aleurodes(Blancard et al.,2009), *Tomato Mosaic Virus* (ToMV) le virus est transmis par contact et par les graines (Naika et al.,2005).

Parmi les ravageurs attaquant les plants de tomate on a les nématodes qui peuvent infecter les racines et constituent un problème important pour les cultures en provoquant des galles, tels que (*Meloidogyne javanica* ; *M.halpa* ; *M.incognita* ; *M.arenaria*). Les plants atteints restent petits de taille et sont sensibles aux maladies fongiques et bactéries transmises par le sol. Ainsi que des insectes qui provoquent des dommages mécaniques en piquant et suçant, les plus dangereux sont représenté par les thrips, les pucerons et les mouches blanches (Shankara,2005).

## **Chapitre II**

# **La fusariose vasculaire de la tomate**

## 1 Le flétrissement vasculaire de la tomate

Depuis des millions d'années, les micro-organismes interagissent avec les plantes. Cependant, pour que ceux-ci soient pathogènes, ils doivent avoir des facteurs de virulence, des exoenzymes et des métabolites secondaires qui leur permettent d'accéder à l'intérieur de la plante par les feuilles, les racines ou les plaies, les ouvertures naturelles et les blessures pour établir une interaction de compatibilité avec l'hôte (Chisholm *et al.*, 2006; Schulze et Boyle, 2005). L'un des agents pathogènes qui affectent un nombre considérable d'espèces végétales est le champignon du genre *Fusarium*, qui provoque des maladies aux tomates.

Le genre de *Fusarium* est parmi les champignons telluriques les plus agressifs, causant des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées. La tomate est parmi ces espèces végétales qui sont sujettes à deux maladies fusariennes différentes soit le flétrissement fusarien (*Fusarium wilt*) causé par *F. oxysporum f. sp. lycopersici (Fol)* et la pourriture des racines et du collet (*Fusarium crown and root rot*) causée par *F. oxysporum f. sp. radicum-lycopersici (Forl)* (Arie *et al.*, 2007).

Le flétrissement vasculaire de la tomate est l'une des principales maladies de la tomate causées par le champignon *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici (Fol)* (Borisade *et al.*, 2017). Cette maladie est dévratrice et très répandue dans les différentes zones de production de la tomate dans le monde (Cai *et al.*, 2003 ; Lievens *et al.*, 2009).

La maladie se caractérise par un jaunissement des feuilles, une croissance rabougrie des plantes, un brunissement des racines et une réduction du système racinaire. Dans la partie inférieure de la tige, les tissus vasculaires sont de couleur brun chocolat. À un stade ultérieur de la croissance, un flétrissement suivi par la mort de toute la plante, peut survenir. La perte de rendement varie entre 30% et 80% selon le stade de croissance de la plante et les conditions de l'environnement (Kumar et Sood, 2002).

Cette maladie a été rapportée dans 32 pays (Cai *et al.*, 2003), y compris en Algérie (Henniet *et al.*, 1994 ; Mezaache-Aichour *et al.*, 2012 et Toua *et al.*, 2013).

## 2 Généralité sur le *Fusarium oxysporum*

Le genre *Fusarium*, décrit pour la première fois par Linke en 1809, et tient son nom du latin *fusus*, car ces spores sont en forme de fuseau (Jeunot, 2005), appartient à la famille des Necteriaceae, renferme des champignons filamenteux dans le groupe des Hypocreomycetidae (Rana

*et al.*,2017).L'absence de reproduction sexuée permet de rattacher ces champignons aux Deutéromycètes (champignons imparfaits), regroupement artificiel de formes asexuées (ou anamorphes) variées (Booth, 1971), très répandu dans le monde entier. Certaines espèces de *Fusarium* ont une forme sexuée, dite également forme parfaite ou téléomorphe, appartenant aux genres *Necteria* ou *Gibberella* (Gams et Nirenberg, 1989) dans l'ordre des Hypocréales.

Les espèces de *Fusarium* sont des agents pathogènes omniprésents du sol (Bodah, 2017), les isolements effectués indiquent qu'un gramme de sol peut renfermer près de 100.000 propagules ou les *F.oxysporum* représentent 80à90% de la population fusarienne totale de la rhizosphère(Correll *et al.*,1986). Ces espèces possèdent d'une spécificité parasitaire, c'est-à-dire que l'espèce ne peut attaquer qu'un hôte déterminé (Ozenda,1990).

Le *Fusarium oxysporum* est composé d'un ensemble d'espèces possédant de nombreuses propriétés biologiques (DiPietro*et al.*,2003).Ce qui donne à ce champignon la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales cultivées, d'intérêt économique comme la tomate. De plus, des formes spéciales ont été attribuées en fonction de la spécificité de l'hôte, dont environ 120 ont été décrites.(Armstrong et Armstrong,1981).Parmi ces formes spéciales, *F.oxysporum fsp lycopersici* (*Fol*) affecte la récolte de tomates(*Solanum lycopersicum*)et constitue l'un des principaux facteurs limitant de sa production.

### 3 L'agent causal *Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici*

*Fusarium oxysporum fsp lycopersici* est un champignon tellurique très répandu dans le monde. Il a été signalé en Europe à la fin de XIXe siècle, il a causé des dégâts graves en fonction de leurs races et leurs variétés cultivés (Blancard,2009).

#### Classification

D'après la classification de l'indexe fungorum

- Domaine: Fungi
- Règne: Mycota
- Division: Ascomycota
- Classe: Hypocreomycetidae
- Ordre: Hypocreales
- Famille: Necteriaceae
- Genre: *Fusarium*
- Espèce: *Fusarium oxysporum f splycopersici*

Le *Fusarium oxysporum f sp lycopersici* pénètre dans l'épiderme de la racine, se propage plus tard à travers le tissu vasculaire et habite les vaisseaux du xylème de la plante, ce qui entraîne un colmatage des vaisseaux et un stress hydriques évère en conséquence, comme des symptômes de flétrissement(Singhetal.,2017),et par la suite l'affaiblissement de la plante qui finit par mourir (Blancard *et al.*,2009).

De plus, plusieurs races sont venues progressivement remettre en cause la résistance à la fusariose dans certaines zones de production.

Ainsi il existe trois différentes races physiologiques de *F. oxysporum f sp lycopersici* sont connues maintenant sur la tomate (Blancard, 2009).

### 3.1 Les différentes races de *Fusarium oxysporum f sp lycopersici*

Les espèces de *Fusarium oxysporum* sont regroupées en formes spéciales en fonction de la spécificité de l'hôte et une subdivision supplémentaire au sein des formes spéciales en races est basée sur leur pathogénicité pour un groupe spécifique de cultivars de l'hôte qui peut différer selon les variétés résistantes (Van Dam *et al.*,2016).

Cependant, trois races de *Fusarium oxysporum f sp lycopersici* ont été rapportées, elles se distinguent entre elle par leur degré de virulence vis-à-vis des cultivars de tomate contenant un seul gène de résistance (Stall, 1961 ; Grath *et al.*, 1987).

- **La race 1** : la plus ancienne, a été initialement décrite en 1886 (Booth, 1971), a gravement affecté et menacé la production commerciale de tomates. La découverte d'un gène de résistance par Bohn et Tucker en 1939 (Beckman *et al.*, 1988) et son utilisation dans de nombreuses variétés de tomates conduit le pathogène à surmonter cette résistance dite race 1(Petit-Houdenot et Fudal,2017).

- **La race 2** : Est apparue pour la première fois en 1945 à l'Ohio aux U.S.A (Alexander et Tucker, 1945 ; Randall, 1980), puis au Maroc (Pecault et Laterrot, 1966), en Tunisie (Davet,1967),au Moyenorient(Walker,1971),aux PaysBas(HubbelingetDimond,1972),en Grande Bretagne (Gabe et Kright, 1973), en République de sud-africain (Holtz, 1976) et aussi en Italie en 1999(Stravato,1999).



▪ **La race 3** : A été signalée en Australie en 1978 (Grattidge, 1982) et a été successivement rapportée aux Etats unis : en Californie (Davis *et al.*, 1988), Floride (Volin et Jones, 1982), Géorgie (Chellemi *et al.*, 1992), Arkansas et Nord Carolina (Marlatt *et al.*, 1996) et au Tennessee (Bost, 2001). Elle a également été retrouvée au Mexique (Valenzuela-Ureta *et al.*, 1996) et au Brésil (Reis, 2005). La race *FOL 3* a causé d'importantes pertes de rendement et a empêché l'utilisation des terres pour la culture de la tomate (Pena, 2005).

### 32 Les groupes de comptabilité végétative (VCG)

*Fusarium oxysporum* n'a pas le stade sexuel, et l'échange génétique est donc limité au cycle par asexuel et à la transformation génétique, ce qui nécessite une hétérocaryose. Le développement de l'hétérocaryon chez *Fol* est régulé par un ensemble d'hétérocaryon loci, dont les produits peuvent atténuer l'incompatibilité / la compatibilité végétative, conduisant à une fusion hyphale suivie d'une lyse cellulaire (Shahi *et al.*, 2016).

Les souches capables de traiter un hétérocaryon stable sont supposées être végétativement compatibles ou bien plus probablement génétiquement similaires et appartiennent au même groupe végétatif compatible (VCG) (Strom et Bushley, 2016). L'expérience VCG est un processus long et laborieux, a aidé à caractériser les souches pathogènes et à élucider la structure de la population de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* (Aguayo *et al.*, 2017). Sur la base de la compatibilité végétative, les isolats *Fol* sont séparés en trois VCG (0030–0031 et 0035) (Chellappan *et al.*, 2014). Aucune corrélation n'existe entre la morphologie de la colonie, l'origine géographique, la race ou la compatibilité végétative de la *FOL* (Biju *et al.*, 2017). Cette découverte suggère que plusieurs déterminants génétiques de la spécificité raciale peuvent exister au sein des populations génétiquement isolées (VCG). L'analyse RFLP d'une collection mondiale de *FOL* a révélé que les isolats parmi les VCG ont un ancêtre commun ; cependant, les races au sein de chaque VCG se sont développées indépendamment (Gordon, 2017).

Donc la plupart des formes spéciales sont constituées de plus d'un VCG (Vegetative compatibility group), chaque VCG correspondant à une lignée clonale particulière (Kistler, 2001 ; Attitalla *et al.*, 2004).

### 3.3 Caractérisation morphologique de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* :

#### 3.3.1 Caractères cultureux

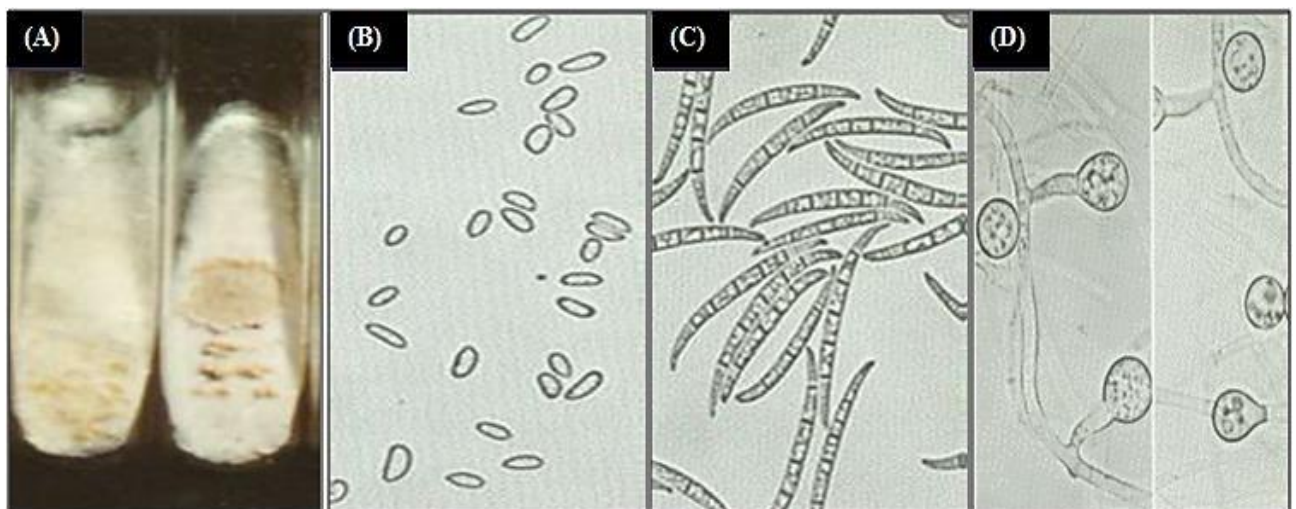
##### 3.3.1.1 Macroscopique

Selon Leslie et Summerell (2006), l'espèce de *Fusarium oxysporum* présente une grande variabilité dans la morphologie sur le milieu Potato Dextrose Agar PDA (Annex) ou le mycélium peut être floconneux, clair semé, avec une couleur qui varie du blanc à la violette pâle. Certains isolats peuvent produire un pigment de couleur violet ou rouge violacé foncé sur le milieu. Comme, certains isolats de *F. oxysporum* ne produisent pas de pigments.

Le *Fusarium oxysporum* est caractérisé aussi par des hyphes septées et abondamment ramifiées. Le champignon produit trois types de spores : les microconidies, les macroconidies et les chlamydo-spores (figure 1).

##### 3.3.1.2 Microscopique

Les microconidies sont généralement non septées de forme ovale à rénale et produisent dans de fausses têtes sur des monophialides courtes. Les macroconidies sont moins nombreuses que les microconidies, elles comportent entre 3 et 5 cloisons, de forme courtes à moyenne, droite à légèrement incurvée avec une paroi mince, elles sont faucilles et délicates. Les chlamydo-spores sont abondantes et produites de manière individuelle ou en pair, mais aussi peuvent être formées en grappes ou en chaînes courtes, ils ont des parois lisses et rugueuse, ils forment de manière terminal ou intercalaire (Leslie et Summerell, 2006).



**Figure 1** : Identification de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Sacc.)

(A) Mycélium de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*; (B) Microconidie; ovales à rénales (C) Macroconidie; en forme de faucille, à parois minces et délicates, (D) Chlamydo-spores (Toussaint et Nelson, 1976).

#### 4 Facteurs favorables au développement de champignon

Les facteurs climatiques, en particulier l'humidité et la température, jouent un rôle primordial dans le développement des *Fusariumen* conditionnant la germination et l'infection de ceux-ci (Siou, 2013).

Selon Bérubé *et al.*, (2009), le climat est le facteur le plus déterminant dans le développement des *Fusarium*.

La température influence le développement des *Fusarium*, et constitue de manière générale un paramètre essentiel du développement du champignon phytopathogènes (Bernard, 2012). Elle influence fortement la plupart des processus métaboliques des organismes vivants, et affecte presque tous les aspects de leurs croissances et de leurs développements. Il a été notamment montré qu'elle influence fortement la production de spores chez les *Fusarium* (Doohan *et al.*, 2003). La température optimale pour le développement de la maladie est de 28° C. Cette maladie affecte la tomate cultivée à chaud à la fois en serre et au champ. Donc, il sévit durant les périodes chaudes de l'année (Bawa, 2016, Debbi *et al.*, 2018).

Les activités biologiques et les propriétés physico-chimique du sol présentes une forte indépendance (Boudoudou *et al.*, 2009). En effet, le fol affectionne particulièrement les sols sableux et acides (Blancard,2013).

Certains éléments minéraux du sol agissent aussi sur le développement des *Fusarium*, comme le phosphore il agisse au développement de certaines espèces de *Fusarium*. C'est ce qui explique que les symptômes de flétrissements qu'on a été observé suite à des apports de composés phosphatés sur la tomate cultivée en pots et au champ (Duffy et Défago, 1999 ; Lambert *et al.*,2005).

Le chlorure de magnésium peut également favorise le développement du *Fol*, par une augmentation du flétrissement qu'il a été observé chez la tomate (Lambert *et al.*, 2005).

Le pH du sol affecte également le développement des fol, ce dernier favorise le pH du sol bas acide (Blancard, 2013).

La salinité du sol et de l'air constitue l'un des éléments de l'environnement qui conditionnent la survie, le développement et le degré d'infection des champignons (Regragui, 2005).

Daami Remadi *et al.*, (2009), ont montré que le NaCl n'a pas d'effet significatif sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*.

Cette maladie est favorisée aussi par la faible hygrométrie du sol, les jours courts à faible intensité lumineuse.

## 5 Le cycle biologique de champignon

Le *Fol* peut produire trois types de spores asexuées : les microconidies, les macroconidies et les chlamydospores ; tandis que la phase sexuée est inconnue.

Les *Fol* ne sont pas des parasites obligatoires, en l'absence de la plante-hôte, ils mènent une vie saprophyte dans le sol et les déchets organiques, soit sous forme de mycélium, soit dans tous les types de spores mentionnés ci-dessus (Akhter *et al.*, 2016). Les chlamydospores sont des structures de résistance capables de rester viables dans le sol pendant plusieurs années selon les conditions environnementales, ce qui permet à ce pathogène de se disperser rapidement avec le mouvement de l'eau, du sol ou de l'air (Park, 1959 ; McKeen et Wensley, 1961).

### 5.1 Mode de progression

La présence des structures reproductrices de *Fol* dans le milieu de développement du plant de la tomate permet d'initier l'interaction plante-pathogène avec un état de pré-infection, où la reconnaissance de l'hôte est effectuée, puis la germination des spores, qui se poursuivra avec l'infection tissulaire (Recorbet *et al.*, 2003).

À ce stade, l'identification de l'hôte est vitale pour l'initiation du processus d'infection, et cela se fait par la libération d'exsudats des racines de l'hôte, car ces composés représentent une source de carbone pour le champignon (Jones *et al.*, 2004). Sa composition comprend des sucres, des polysaccharides, des acides aminés, des acides aliphatiques, aromatiques et gras, des stérols, des composés phénoliques, des enzymes, des vitamines, des régulateurs de croissance des plantes et d'autres métabolites secondaires (Bertin *et al.*, 2003).

Pour initier la germination des spores, les exsudats de la racine des plants de tomates stimulent la germination des microconidies par *Fol*. De plus, une relation a été trouvée entre la stimulation de la germination et l'âge des plantes. La stimulation la plus élevée de la germination a été observée lorsque les plantes étaient âgées de 70 à 90 jours. Des changements ont également été observés dans les exsudats racinaires tels que la concentration de composés phénoliques et de flavonoïdes ou des

changements induits dans les exsudats par le degré de colonisation du champignon mycorhizien arbusculaire *Glomus mosseae*, modifiant la germination des spores et le degré de colonisation (Steinkellner *et al.*, 2005 ; Scheffknecht *et al.*, 2006).

## 52 Processus d'infection

Le processus d'infection vasculaire des plantes par *Fol* est un phénomène complexe, et les étapes séquentielles impliquées dans le processus d'infection sont les suivantes (figure 2) :

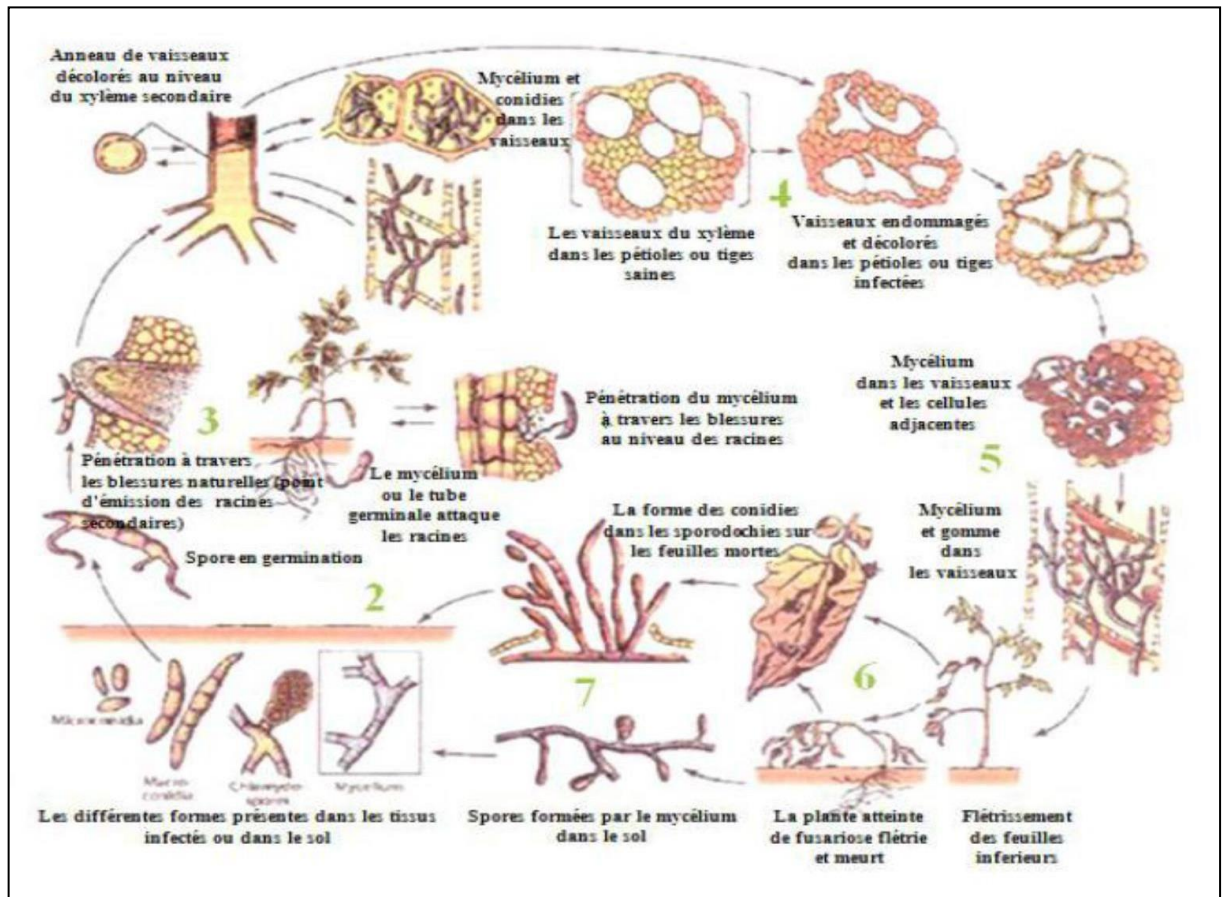
La présence des racines de l'hôte déclenche la germination des chlamydospores. Les hyphes infectieux adhèrent et pénètrent en suite à la surface de la racine. Puis, le mycélium envahit les cellules corticales radiculaires de manière intercellulaire et pénètre dans le système vasculaire par les fosses de xylème. Par la suite, le champignon présente une voie d'infection unique où il a tendance à coloniser exclusivement à l'intérieur des vaisseaux du xylème, colonisant plus rapidement l'hôte. Dans les vaisseaux, le champignon commence à produire des microconidies, qui sont transportées vers le haut à travers le flux de sève lors du détachement.

De plus, la germination des microconidies conduit à une pénétration mycélienne des vaisseaux supérieurs. Les symptômes caractéristiques du flétrissement apparaissent en raison d'un blocage des vaisseaux déclenché par la collecte d'hyphes fongiques et une combinaison d'interactions hôte-pathogène telles que la libération de toxines, de gommes, de gels et la formation de tyloses. Des indications typiques de la maladie, telles que l'épinastie des feuilles, le nettoyage des veines, le flétrissement et la défoliation, apparaissent et précèdent éventuellement la mort de la plante hôte.

Pendant cette phase, le champignon de la flétrissure vasculaire, qui reste limité aux vaisseaux du xylème, se propage à travers les tissus parenchymateux et commence à sporuler abondamment à la surface de la plante morte telle que feuille, vapeur, etc.

Les microconidies et les macroconidies tombent dans le sol et sont transformées en chlamydospores. Les chlamydospores restent dormantes et immobiles jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou exsudats racinaires. Suite à la germination, il y a formation d'un mycélium. Si les conditions sont favorables, le thalle produit des conidies, et ainsi de suite...

La dissémination du pathogène peut se produire via les graines, les greffes, le sol ou d'autres moyens (McGovern, 2015 ; Joshi, 2018 ; Agrios, 2005).



**Figure 2 :** Cycle général de la maladie flétrissement vasculaire causée par *F. oxysporum f.sp. lycopersici* chez la tomate (Agrios, 2005).

(1) Conidies, Chlamydospores ou mycélium vivant dans le sol ;(2) Germination des spores;(3)Pénétrationdutubegerminatifàl'intérieurdesracines;(4)Invasiondesvaisseaux par les conidies et / ou mycélium ;(5) Production de gomme à l'intérieur des vaisseaux ;(6) Flétrissement et mort de la plante ; (7) Sporodochies ou mycélium produisant des conidies.

## 6 Les mécanismes d'action de *Fusarium oxysporum f. sp.lycopersici*

Les champignons phytopathogènes transmis par le sol doivent posséder des mécanismes de signalisation appropriés qui leur permettent de répondre par des variations de l'expression génique, conduisant à la reconnaissance de l'hôte, à la pénétration des racines et à la prolifération des hyphes dans le tissu de l'hôte, ce qui permet de surmonter le mécanisme de défense de l'hôte et l'établissement de la maladie (Rep et Kistler,2010).

## 6.1 Enzymes lytiques

L'initiation de l'infection par la *Fol* nécessite la dégradation de la paroi cellulaire de l'hôte par l'action d'un complexe d'enzymes à activité lytique comme les xylanases, les cellulases, les pectinases et les polygalacturonases, qui contribuent à la pénétration et à la colonisation de la plante (Roncero *et al.*, 2003). Les gènes *xyl2* et *xyl3* sont responsables du codage des xylanases, qui dégradent le xylane. Le gène *xyl2* est exprimé au cours des derniers stades de la maladie, tandis que le *xyl3* est présent tout au long du cycle (Ruiz-Roldán *et al.*, 1999).

Husain et Dimond (2016), ont rapporté que l'action de la cellulase produite par *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* peut agir dans la pathogenèse. Elle est impliquée dans l'induction du flétrissement. Ainsi que, les produits hydrolytiques de l'activité cellulase peuvent fournir à *Fusarium* des hydrates de carbone pour son développement continu chez l'hôte et aussi, elle est impliquée dans la fuite du pathogène du tissu vasculaire à des stades avancés de la maladie.

Les gènes PG1 et PG5 sont responsables de l'expression des endopolygalacturonases extracellulaires, ces dernières étant exprimées principalement aux premiers stades de l'infection (Di Pietro et Roncero, 1998 ; García-Maceira *et al.*, 2001). D'autre part, la caractérisation de plusieurs enzymes à activité lytique, telles que la PG1, les exo-polygalacturonases (PG2 et PG3), une endoxylanase (XYL1) et une endopectatylase (PL1), a été rapportée. Codés par les gènes *pg1*, *pgx4*, *pg5*, *xyl2*, *xyl3*, *prt1* et *pl1*, ceux-ci sont exprimés à différents stades d'interaction avec la plante hôte indiquant un rôle possible dans la pathogenèse (Huertas-González *et al.*, 1999; Roncero *et al.*, 2000).

Il y a d'autres enzymes telles que l'endopolygalacturonase (PG), l'exopolygalacturonase (PGX), la tomatinase (TOM), la métalloprotéase (Mep) sérine protéase (Sep) produites aussi par *Fol* et contribuent également à la pathogénicité (de Sain et Rep, 2015).

## 6.2 Mycotoxines

Le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* joue un rôle dans la colonisation et le colmatage des vaisseaux en plus de la sécrétion de plusieurs toxines comprennent l'acide fusarique, la fumosine, la lycomarasmine, l'acide déhydrofusarique, etc., jouent un rôle majeur dans le développement et la progression des symptômes de flétrissement.

Dans une étude par Nirmaladevi *et al.*, (2012), ils ont utilisé une approche basée sur la PCR ciblant les gènes biosynthétiques de la fumosine qui permet la détection de souches productrices de Fumiosine de *Fol*.

Parmi les souches testées, les amorces ont été utilisées pour détecter les souches productrices de toxines de *Fol* indiquant que certaines des souches de *F.oxysporum responsables de la* tomate ont le potentiel de produire de la fumonisine (Nirmaladevi *etal.*,2012).

La fumonisine perturbe la biosynthèse des sphingolipides membranaires chez les espèces végétales, ce qui est probablement dû à l'accumulation d'intermédiaires sphingolipides toxiques qui inhibent l'enzyme céramide synthase et, par conséquent, perturbent la signalisation et les fonctions cellulaires (Merrill *et al.*, 2001 ; Abbas *et al.*, 1993).

L'acide fusarique est une autre toxine potentielle produite par *Fol*. Ce dernier est une toxine puissante qui contamine naturellement les plantes, causant des symptômes typiques de flétrissement chez les plantes et cependant, il a des effets néfastes sur les humains et les animaux en augmentant la toxicité des trichothécènes (Wang et Ng,1999).

### 63 Les protéines

Les souches de *Fusarium oxysporum f sp lycopersici* semblent avoir des chromosomes accessoires transférés horizontalement (Ma, 2014 ; Ma *et al.*, 2010) qui codent pour une série d'effecteurs appelés SIX protéines «SecretedInXylem»qui sont sécrétés dans le xylème de la plante hôte (Houterman *et al.*,2008).

Plusieurs produits protéiques sont libérés lors de l'infection dans les cellules hôtes (Schmidt *et al.*, 2013, Schmidt *et al.*, 2016). Deux protéines produites dans le xylème sont codées par les gènes *SIX1* et *SIX2* sont positionnées à moins de 8 kb l'une de l'autre et sont sur l'un des plus petits chromosomes(Boix-Ruíz*etal.*,2015,Repetal.,2004). Le produit *SIX1* est une petite protéine riche en cystéine qui s'est révélée essentielle pour la virulence *FOL* (Selim *et al.*, 2015). Huit protéines fongiques de la sève de xylème d'une plante malade ont été identifiées et le matériel génétique de ces protéines est présent dans la région similaire du chromosome (*SIX1*, *SIX2*) (Maldonado *et al.*, 2018, Sasaki *et al.*, 2015). Dans le même chromosome, un homologue de *SIX1* et *SIX1-H* sont présents qui, codant pour un homologue de salicylate hydroxylase, et un autre gène, *SIX3*, codent pour la protéine sécrétée par le xylème. *SIX1*, *SIX2*, *SIX3* et *SHH1* étaient uniques aux isolats*Fol*.

Les facteurs géniques de virulence fongique tels que *SIX1*, *SIX2* et *SIX3* codent pour une protéine, qui est sécrétée dans la sève du xylème, peut contribuer au flétrissement de la plante par la colonisation du battage médiatique fongique. Cette région génomique existait initialement dans le *Fo* ancestral et a ensuite disparu dans toutes les lignées clonales sauf *Fol* (Jelinski *et al.*, 2017, Maldonado *et al.*, 2018, Debbi *et al.*,2018).

Il y a d'autres protéines comme l'arabinanase, l'oxydoréductase, la sérine protéase qui sont sécrétées par la *FOL* dans la sève du xylème par colonisation de la tomate (Houterman *et al.*, 2007).



## 7 Propagation

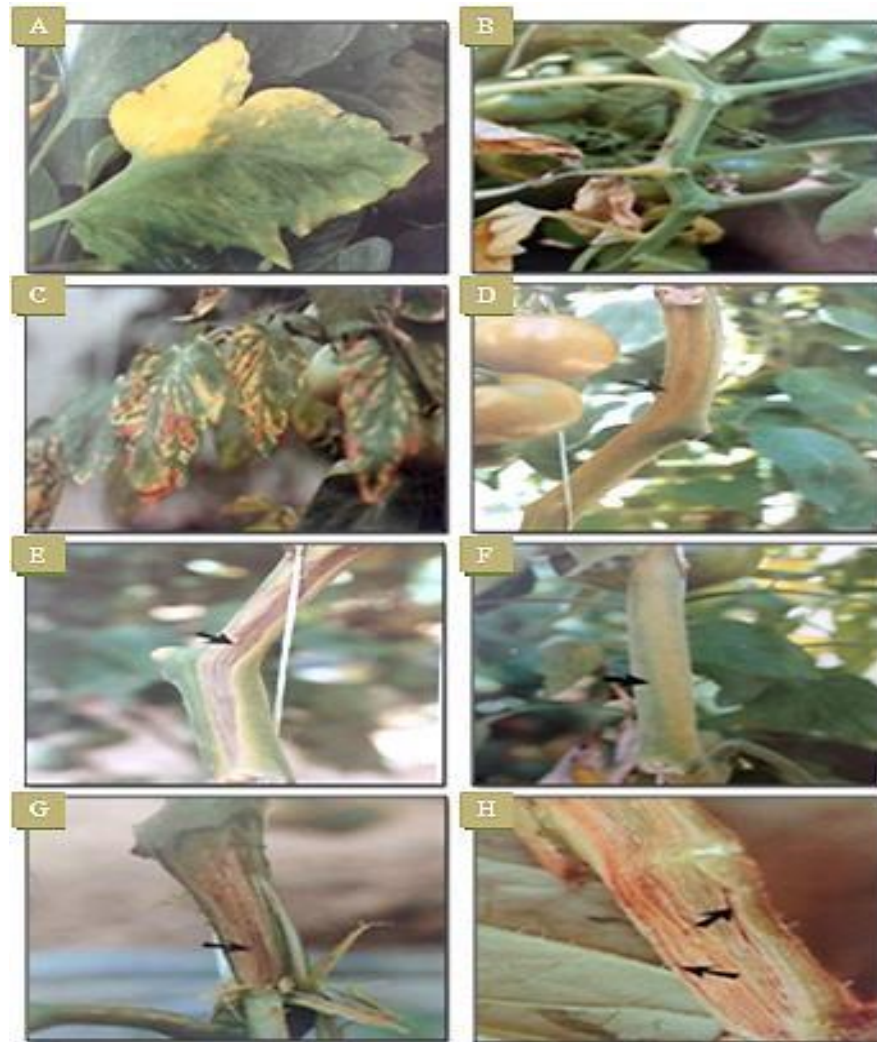
*La Fol* se propage sur de courtes distances principalement par l'eau d'irrigation, le matériel agricole contaminé, le vent et les tuteurs de tomates et elle peut se propager sur de longues distances à travers les greffes infectées, les sols, etc. (Agrios, 2005). Certes, une fois qu'une région est contaminée par la *Fol*, le champignon reste plusieurs années dans cette région (Animashaun *et al.*, 2017 ; Prihatna *et al.*, 2018).

## 8 Symptômes

Les symptômes de fusariose vasculaire de la tomate peuvent s'exprimer bien sur les plantules que sur les plantes adultes. En pépinière, les plantules affectées voient leur croissance réduite ; leurs vieilles feuilles peuvent jaunir, flétrir et plus ou moins s'incurver. Les jeunes plants peuvent flétrir totalement et mourir. Une coupe dans la tige révèle une teinte brune des vaisseaux assez marquée (figure 3).

Les plantes adultes subissent des symptômes assez comparables à ceux décrits précédemment sur plantules. Ainsi, certaines vieilles feuilles présentent des jaunissements unilatéraux, c'est-à-dire affectant les folioles situées sur un côté des feuilles et un secteur du limbe (figures 3A et 3B), c'est une des caractéristiques des maladies vasculaires. Ces jaunissements des tissus foliaires sont souvent associés à des flétrissements plus ou moins importants ayant tendance à s'accroître aux moments les plus chauds de la journée. Des feuilles finissent par se dessécher totalement, mais ne tombent pas. Par la suite, ces symptômes secondaires gagnent les autres folioles et se généralisent à terme à la plante, qui peut se dessécher totalement et mourir (figure 3C).

Des lésions longitudinales d'abord chlorotiques puis se nécrosant progressivement sont également visibles sur un côté de la tige (figures 3D à 3H). Elles peuvent s'étendre sur plusieurs dizaines de centimètres. Des racines indurcies peuvent se former sur la tige (Blancard, 1988).



**Figure 3 :** Les différents symptômes de la flétrissure vasculaire de la tomate

(A) Jaunissement unilatéral d'une foliole (B) Jaunissement unilatéral du rachis d'une feuille (C) Jaunissement et dessèchement des folioles. (D) Bandejaune assez marquée, et légère brunissement dans la partie centrale. (E) Sous altération jaune, brunissement des vaisseaux de la tige plus marqué à certains endroits. (F) Léger Jaunissement longitudinal d'une portion de la tige. (G) Nécrose beige à marron clair, à peine concave, localisée au centre de la bande jaune. (H) Brunissement des vaisseaux présentent par endroit des stries plus sombres.

## 9 Moyennes de lutte

Pour réussir, un programme de lutte contre les maladies des plantes, on doit examiner l'ensemble des interactions entre la plante et l'agent pathogène. Donc, on doit, soit empêcher ces interactions, soit faire pencher la balance en faveur de la plante. La réduction de la viabilité de

l'inoculum de l'agent pathogène (densités de population) et / ou de sa fonctionnalité (capacité d'infecter l'hôte avec succès) est la clé de ce programme de lutte ( Govern, 2015).

Mesures de lutte chimique (Fumigation des sols) restent les principales stratégies utilisées pour lutter contre les maladies, malgré le risque de pollution des eaux souterraines, les conséquences sur la santé humaine, la destruction de la microflore bénéfique non ciblée et l'évolution des pathotypes résistants aux fongicides (Sant *et al.*, 2010).

L'utilisation des variétés résistantes aux agents pathogènes est considérée comme la méthode la plus économique, saine et écologiquement inoffensive pour lutter contre les maladies. Cependant, les interactions hôte-pathogène impliquant la résistance sont loin d'être simple. Le flétrissement fusarien de la tomate causée par *Fusarium oxysporum f.sp Lycopersici* respectivement, continue de présenter des défis majeurs pour la production de cette culture importante, dans le monde entier. Des études intensives ont permis de mieux comprendre ces maladies et leur traitement. Des recherches récentes sur la lutte contre ces maladies, ont porté sur diverses stratégies individuelles et leur intégration, notamment la résistance de l'hôte, la lutte chimique, la lutte biologique et la lutte physique (McGovern, 2015).

## 9.1 Lutte culturale

Pour lutter contre *Fusarium oxysporum*, certaines mesures sont préconisées :

Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent la maladie : un sol léger et acide, un manque d'azote et de calcium, des températures élevées supérieure à 28°C (température optimale de développement du *Fusarium oxysporum*) et un manque de lumière en intensité et en temps (Barna *et al.*, 1985).

La méthode de prévention la plus courante est le chaulage afin de maintenir le pH entre 6.4 et 7 (Scott, 1923).

Barna *et al.*, (1985), soulignent l'importance de maintenir une fertilisation azotée élevée surtout sous forme de nitrate (fumier) afin de produire beaucoup de jeunes pousses.

Sun et Huang (1985) ont mis au point un amendement organique et minéral qui, à raison de 1% par poids de sol permet de lutter contre diverses espèces de *Fusarium* d'une manière efficace. Leur mélange (le mélange S-H) contient : 4,4% de bagasse (résidus de canne à sucre) ; 8,4% de son de riz ; 4,25% de coquilles d'huitres ; 8,25% d'urée ; 1,04% de nitrate de potassium ; 13,16% de superphosphate de calcium ; 60,5% de cendres minérales constituées de 31% de d'oxyde de silice,

4,4% d'oxyde de calcium, 1,7% d'oxyde de magnésium, 18% d'oxyde d'aluminium et 1% d'oxyde ferreux.

## 92 Lutte chimique

La lutte chimique reste la méthode la plus utilisée pour lutter contre les maladies fongiques. Cependant, la mauvaise utilisation des pesticides en agriculture représente un danger non négligeable pour la santé humaine ; par la présence de résidus sur la nourriture et le risque d'intoxication des agriculteurs et d'autres personnes en contact avec ces pesticides ; ajouté à cela, l'apparition de souches résistantes.

En effet, le flétrissement fusarien constitue une contrainte biotique sérieuse sur la production de la tomate car la complexité de l'environnement (le sol) rend l'agent pathogène difficile à combattre. Des fumigants à large spectre, tel que le bromure deméthyle (bromo-éthane) ont été utilisés pour lutter contre le pathogène. Cependant, suite au Protocole de Montréal (1998), la production de bromure de méthyle devrait être interdite depuis 2005, pour des mesures de protection de la couche d'ozone. De ce fait, le développement de méthodes alternatives de lutte contre la maladie est à considérer (Takahashi *et al.*, 2005).

Toutefois, selon Ajay *et al.* (2012), un contrôle efficace du flétrissement de la tomate peut être effectué par traitement des semences avec Thiram 75 WDP avant le semis suivi d'un trempage des racines des plantules pendant 10 minutes dans une solution de Carbendazim 50 WP à 0,3% avant la transplantation et un arrosage des racines avec l'oxychlorure de cuivre 50 WP à 0,3% + une solution des treptomycine à 0,01%, un mois après la transplantation. En Algérie, cette maladie est mal connue et elle est souvent confondue avec d'autres maladies. Par conséquent, le choix des traitements est aléatoire.

## 93 Lutte physique

Anchisi *et al.* (1985) ont développé un traitement à l'eau chaude pour protéger les plants dans un sol contaminé. La méthode consiste à traiter les racines avec de l'eau chaude 48-49 C° pendant 30 secondes avant de transplanter ou, dans les premières 48 heures juste après transplantation. Cela stimule la croissance des racines. Cependant, la stérilisation ou la solarisation ne sont pas des solutions à long terme.

## 94 Lutte agronomique

Elle est considérée comme la plus pratique, elle consiste à stopper la culture de la plante qui héberge le *Fusarium* pendant plusieurs années. Ainsi l'arrêt de l'exploitation des champs garantit l'apparition des chlamydospores (Smahi, 2008).

### 9.5 Lutte génétique

Elle consiste à introduire des gènes de résistance au niveau des plantes appelées plantes transgénétique. Ces sont responsables de la synthèse de protéines capables d'éliminer le parasite (Smahi, 2008).

Cependant, cette technique fut inefficace car elle a été à l'origine de l'apparition de races plus virulentes (Henni ,1998).

### 9.6 Lutte intégrée

C'est la combinaison de toutes les techniques précédentes afin de lutter contre les phytopathogènes pour une longue durée. Ces méthodes ne sont efficaces que si l'on a une meilleure connaissance des mécanismes qui sont à l'origine des interactions entre la plante et l'agent pathogène (Corbaz,1990).

### 9.7 Lutte biologique

La lutte biologique définie comme étant l'utilisation d'organismes vivants pour supprimer un pathogène sans avoir des effets néfastes pour la plante. Ces agents naturels sont réunis sous le concept de biopesticides (Lepoivre,2003).

La lutte biologique contre le *Fusarium oxysporum f sp lycopersici (Fol)* englobe un large éventail de micro-organismes. En effet, de nombreuses bactéries et champignons, ou des combinaisons de micro-organismes, prélevés sur des cultures de tomate en plein champ se sont révélés efficaces pour lutter contre la fusariose de la tomate (Taghdi *et al.*, 2015).

Les combinaisons d'agents de bio-contrôles testés contre cette maladie incluent différents isolats de la même espèce bactérienne, de genres bactériens différents, de genres fongiques différents et de mélanges de bactéries et de champignons. Dans la majorité des cas, les combinaisons d'agents de bio-contrôle sont plus efficaces que leurs composantes individuelles. Un certain nombre de micro-organismes expérimentés avec succès en lutte biologique contre le *Fol* et le *Forl* tels que : *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Fusarium oxysporum* (isolats non pathogènes), *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium funiculosum*, ont réduit de manière significative les symptômes. Ces microorganismes ont également induit une réduction de l'incidence de la maladie qui varie entre 53% et 78% ; parfois supérieurs aux fongicides conventionnels et ont contribué de ce fait, à augmenter les rendements (McGovern,2015).

## **Chapitre III**

# **Biocontrôle de la fusariose vasculaire par les PGPR**

## 1 Généralités sur le biocontrôle

Les interactions microorganismes plante dans la rhizosphère ont une grande influence sur l'état sanitaire de la plante, ces microorganismes peuvent s'associer aux racines et aider la plante à tolérer les stress abiotiques et biotique notamment les attaques phytopathogènes (Jaizme Vega *et al.*, 2004).

La lutte biologique contre les maladies cryptogamiques des plantes fait appel aux communautés bactériennes vivant dans le sol, particulièrement celles adaptées aux rhizosphères (rhizobactéries) (Suty, 2010), qui peuvent intervenir dans l'amélioration de la croissance et la protection des plantes (Leinhos, 1994 ; Zahir *et al.*, 2004 ; Ryu *et al.*, 2007).

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et offrent des modes d'action multipliés et différents (Paulitz et Belanger, 2001; Fravel, 2005). Ces biopesticides ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Et sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faible quantité et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multipliés et déclenchant donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites Integrated Pest Management (IPM) (Fravel, 2005 ; Thakore, 2006).

L'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contiennent plus un million de microorganismes par gramme de sol. Certaines de ces microorganismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et /ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

La plupart des souches bactériennes, exploitées comme biopesticides, appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (Haas et Defago, 2005). *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Caballero- Mellado *et al.*, 2004). Et les plus utilisés appartiennent aux genres de *Pseudomonas*. Ce dernier type de bactéries se sont les plus étudiées car ils sont des colonisateurs de la rhizosphère et possèdent une grande activité dans le contrôle biologique des maladies causées par les microorganismes du sol et aussi grâce à leur capacité de produire de nombreux antibiotiques.

## 2 La rhizosphère et les bactéries rhizosphériques

Le sol est considéré comme l'un des environnements les plus complexes de la biosphère (Faugier, 2010), il est constitué de 5 composants majeurs : la fraction minérale, matière organique, eau, air et organismes vivants (Morel, 1989). Les microorganismes du sol présentent environ un quart de toute la biodiversité terrestre (Potočnik, 2010), ils comprennent les microbes (archées, bactéries, champignons) et la microfaune (animaux de moins de 0,1 mm) (Stengelet Gascuel, 2015), de part de leur diversité taxonomique, ces microorganismes jouent un rôle fondamental dans le fonctionnement du sol, au travers du cycle du carbone, de l'azote et de la biodisponibilité des éléments nutritifs (Milou, 2009).

Les microorganismes du sol ont une influence directe sur le développement de la plante. Il existe une zone où les relations entre plantes et microorganismes sont particulièrement actives; c'est la rhizosphère. La rhizosphère est le lieu d'une multitude d'interactions (plante- pathogène – antagoniste). En effet, outre les différents facteurs du sol comme l'acidité, la teneur en eau, la température ou la disponibilité en minéraux, le développement de végétal peut aussi être influencé par la présence d'organismes vivants, et notamment des microorganismes (Van Loon, 2005).

## 3 Rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR)

Les rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) ont été décrites par Kloepper et Schrothen en 1978. Ces rhizobactéries possèdent la capacité d'adaptation physiologique et métabolique polyvalente (Struz et Christie, 2003). Formant un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques de la rhizosphère (Soltani, 2010).

Ces rhizobactéries varient selon leur degré de proximité à la racine et l'intimité de l'association. En général, elles peuvent se retrouver au niveau intra ou extracellulaire, au niveau intracellulaire, qui pénètrent dans les cellules racinaires, généralement sont spécialisées dans la nodulation (bactéries symbiotiques) sont dites endophytiques et au niveau extracellulaire, existant dans la rhizosphère ou dans l'espace intercellulaire du cortex racinaire (bactéries non symbiotiques) elles sont rhizosphériques (Gray et Smith, 2004).

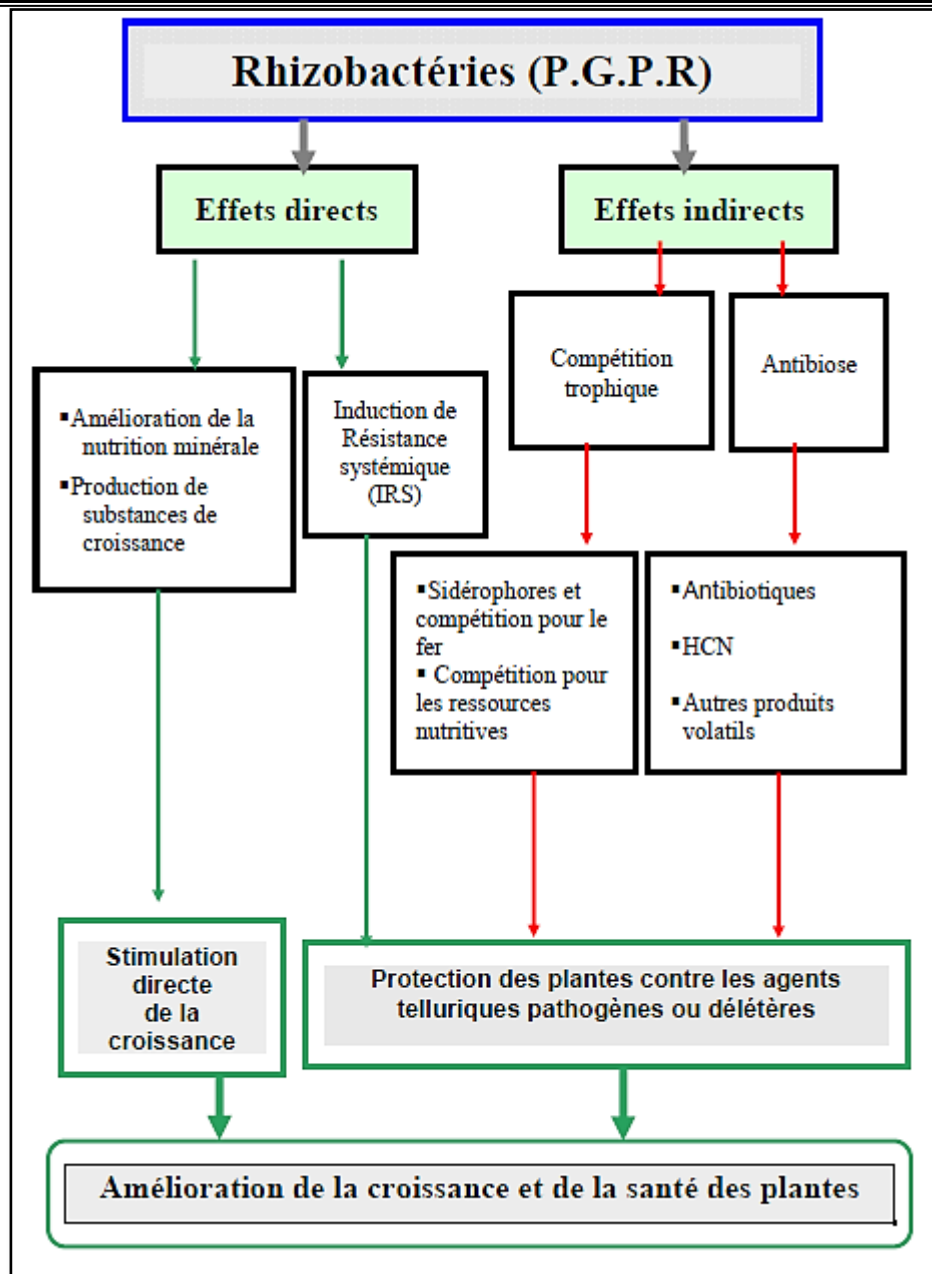
Les PGPR ont un effet bénéfique sur le développement et la santé de la plante. Ainsi que sur le rendement par des promotions directes ou indirectes. Bien que les PGPR sont introduites dans le sol, une partie de leur population peut aussi entrer à l'intérieur de cellules, par les semences ou dans les racines. Donc elles colonisent diverses parties de la plante afin d'améliorer la croissance des plantes et de les protéger contre différentes maladies.



#### 4 Mécanismes d'action des PGPR sur la plante

Dans les dernières décennies, l'utilisation des PGPR est devenue une alternative pour l'amélioration de la production agricole (Vergas *et al.*, 2009). Ces bactéries peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques sur la croissance des plantes par différents mécanismes (Nelson, 2004). Ainsi que, ces bactéries peuvent adapter aux conditions rhizosphériques et améliorant le développement des systèmes racinaires des plantes, l'augmentation de la capacité d'absorption de l'eau et les éléments nutritifs (Siddiqui, 2003), le renforcent des capacités défensives des plantes contre les maladies (Van loon *et al.*, 1998), elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures (Glick *et al.*, 1999).

Les PGPR affecte la croissance des plantes de deux manières (figure 4), indirectement ou directement (Glick, 1995). Elles stimulent directement la croissance des plantes, en augmentant le prélèvement des éléments nutritifs du sol, en induisant et produisant des régulateurs de croissance végétale et en activant les mécanismes de résistance induite chez les végétaux (Hallaman *et al.*, 1997). La promotion indirecte de la croissance des plantes se produit lorsque le PGPR diminue ou empêche les effets délétères d'un ou plusieurs organismes phytopathogènes (Glick, 1995) (Figure 4).



**Figure 4 :** Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes (Mattar, 1993)

## 5 Mécanismes d'action des *Pseudomonas* spp fluorescents

### 5.1 Les mécanismes directs

Les PGPR ont un effet bénéfique sur la croissance des plantes à différents stades physiologiques se traduisant par des gains au niveau de la germination et de la levée, du fonctionnement et de la croissance du système racinaire et du bilan global en nutrition hydrominérale de la plante (Lemanceau, 1992 ; Digat, 1994).

## 5.1.1 Production de substances de croissance des plantes

### 5.1.1.1 La production des phytohormones

La production des phytohormones par les PGPR est considérée comme l'un des mécanismes les plus importants pour améliorer la croissance des plantes. Ce sont des petites molécules design a le produites en très faible concentration, elles agissent comme des messagers chimiques influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes. Il existe cinq principaux groupes d'hormones : les auxines, les gibbérellines, l'éthylène, les cytokinines et l'acide abscissique (Martinez *et al.*,2010).

Les *Pseudomonas spp. Fluorescents* colonisent efficacement la spermosphère et peuvent assurer une bioprotection des semences avant et pendant la germination(Digat,1992),ainsi certaines souches de *Pseudomonas* peuvent améliorer la germination des semences et la levée des plantules (Kloepper *et al.*,1980),notamment lorsque les conditions d'environnement sont défavorables à leur germination (Compant *et al.*, 2005 ; Haas etDefago,2005).

Les *Pseudomonas spp flueorescence* peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant l'acide indole-3-acétique (AIA)le plus important du groupe des auxines (Patten et Glick, 2002), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes. Il joue un rôle très important aussi dans l'élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants par (Martinez-V *et al.*,2010 ; Taghavi *et al.*,2009).

Les cytokinines forment une classe de phytohormones qui stimulant les divisions cellulaires, l'élargissement et le développement des tissus(Salisbury,1994).Ce sont des signaux impliqués dans la médiation du stress environnemental des racines vers les parties supérieures de la plante. La production de cytokinines a été rapportée chez *P. fluorescens* (Garcia *et al.*,2001).

L'éthylène est la seule phytohormone gazeuse. Il est connu pour être l'hormone des blessures, parce que sa production dans la plante peut être induite par n'importe quel perturbation physique ou chimique des tissus (Salisbury, 1994). Parmi ses nombreux effets sur la croissance et le développement de la plante, la production d'éthylène peut causer l'inhibition de la croissance des racines. Glick *et al.*, (1998) ont émis, une théorie selon laquelle le mode d'action de certains PGPR serait par l'intermédiaire d'une AAC-désaminase. Cette enzyme clive l'AAC précurseur immédiat de l'éthylène. La 1-Amino-cyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase diminuerait la production d'éthylène au niveau des racines de la plante hôte et résulterait en leurs allongements.

Les *Pseudomonas spp fluorescents* sont des producteurs d'AAC-désaminase (Glick *e tal.*, 1994). La transformation des *Pseudomonas spp* par des gènes codant cette enzyme, permet àcelles-

ci de croître sur un milieu dont la seule source de carbone et d'azote est le AAC, et de stimuler l'élongation des racines (Shah *et al.*, 1998). Cette stimulation de la croissance est aussi exprimée dans des situations de stress, tels que les inondations (Grichko et Glick, 2001), ou encore dans les sols contaminés par les métaux lourds (Burd *et al.*, 1998 ; Belimov *et al.*, 2001).

### 5.1.1.2 Amélioration de la nutrition minérale

#### 5.1.1.2.1 Dénitrification

La dénitrification est un processus microbien dans lequel les oxydes d'azote sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons, pour la production d'énergie en absence d'oxygène. La dénitrification est composée de quatre réactions par lesquelles les nitrates sont réduits en dinitrogène (N<sub>2</sub>), par des métallo-enzymes comme la nitrate réductase, la nitrite réductase, l'oxyde nitrique réductase, et l'oxyde nitreux réductase. Les *Pseudomonas spp* fluorescents sont les dénitrifiants les plus communs des sols des régions tempérées (Gamble *et al.*, 1977). Les *Pseudomonas spp* fluorescents sont capables de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988).

#### 5.1.1.2.2 Solubilisation de phosphate

Le phosphore P est un macronutriment essentiel pour la croissance et le développement des plantes mais aussi un important élément nutritif limitant cette croissance. Les bactéries solubilisant le phosphate sont fréquentes dans la rhizosphère et peuvent être utilisées pour résoudre ce problème (Vessey, 2003). Ces bactéries ont la capacité de solubiliser le phosphore organique par l'action de phosphatase ou le phosphore inorganique par la libération d'acide organique (Kleopffer *et al.*, 1989). Une partie de phosphates est reprise par le système racinaire de la plante (Digat, 1994).

Les espèces de *Pseudomonas spp fluorescents* comme *P. chlororaphis*, *P. putida* et *P. aeruginosa* ont été identifiées comme rhizobactéries solubilisant le phosphate (Cattelan *et al.*, 1999; Bano et Musarat, 2003).

#### 5.1.1.2.3 Chélation du fer

Les *Pseudomonas spp fluorescents* ont la capacité de synthétiser des siderophores qui sont des molécules de faible poids moléculaire et montrent une affinité élevée pour chélater le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> (Benzina *et al.*, 2021), et le rendent sous forme assimilable afin de faciliter de l'absorption par le système racinaire de la plante surtout que cet élément est indispensable à une grande partie des activités physiologiques de plante (Crowly *et al.*, 1987), et l'utilisation comme un agent de lutte biologique étant donné que cette dernière est incapable de l'assimiler sous sa forme brute (Whipps, 2001 ; Li *et al.*, 2016). Surtout en condition de carence en cet élément nécessaire à la

croissance des *Pseudomonas spp fluorescens* (Ongena *et al.*, 2002), ces dernières sont impliquées dans la croissance et la sante des plantes (Latour *et al.*, 2009) et contribuent à l'acquisition du fer par les végétaux (Vansuyt *et al.*, 2003).

Les siderophores des espèces *Pseudomonas fluorescens* se traduisent par l'émission d'un pigment fluorescent appelé (pyoverdine) (Meyer et Abdellah, 1978) ou pseudobactine (Teintze *et al.*, 1980) qui forment avec le fer un complexe (ferri-pyoverdine).

### 5.1.2 Induction de la résistance systémique

Les rhizobactéries peuvent réduire la sévérité d'une maladie à travers la stimulation de mécanisme de défense inductible chez les plantes, l'induction de la résistance d'une plante consiste à activer des mécanismes de défense naturelle présents dans la plante mais qui sont à l'état latent, ce phénomène a été nommé (résistance systémique induite ISR) (Latour, 2002).

Ce phénomène d'induction de la résistance se traduit par une augmentation de la capacité de se défendre contre un large spectre d'agents pathogènes (fongiques, bactéries, viraux) (Pieterse *et al.*, 2002). L'ISR n'est active que lorsqu'il y a une attaque d'agent pathogène (Verhagen *et al.*, 2004).

L'induction des systèmes de résistance se traduit par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des éliciteurs. Ces dernières sont des substances mettant en branle les mécanismes de défense de la plante qui produira des phytoalexines et des protéines PR qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988 ; Toussaint, 1996).

Les événements moléculaires associés à l'ISR sont de mieux en mieux connus. Ainsi, la transmission du signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial (Glazebrook *et al.*, 2003). Ces voies s'interpénètrent et agissent avec d'autres mécanismes pour former un réseau de régulation modulable permettant à la plante d'initier une réponse défensive spécifique en fonction de la nature de pathogène (Virus, bactérie, champignon, insecte ou nématode) (De Vos *et al.*, 2005).

Certaines souches de *Pseudomonas spp fluorescens* sont responsables de l'amélioration des niveaux de résistance des plantes contre de différents agents pathogènes par l'activation des mécanismes de défenses (ISR) (Induced Systemic Resistance) (Van Loon *et al.*, 1998 ; Pieterse *et al.*, 2002).

## 5.2 Les mécanismes indirects

Certaines PGPR produisent des effets bénéfiques sur la croissance et protection des plantes en présence d'un pathogène. Ces modes d'action indirects sont généralement attribuables à la compétition, à la production d'antibiotiques et d'autres produits (Beauchamp, 1993).

### 5.2.1 La compétition trophique

La présence des PGPR dans la rhizosphère génère dans certains cas une relation de compétition trophique à l'avantage des bactéries bénéfiques. Cette compétition s'exprime surtout par rapport au fer, élément indispensable au métabolisme des organismes aérobies.

Des stratégies multiples de captage ont été développées par les microorganismes. Citons des sidérophores des *Pseudomonas* qui ont la capacité très élevée à extraire le fer du sol pour leur besoin nutritionnels (Kirdi, 2011 ; Latour et Lemanceau, 1997 ; Whipps, 2001). Dans des conditions de carence en fer, ces bactéries synthétisent les sidérophores (pyoverdine pyochiline), qui chélatent le fer ; ces molécules sont aussi nécessaires à la croissance. Cette chélation réduit la disponibilité des ions ferriques pour les agents pathogènes, ce qui provoque une diminution de leur croissance. Donc ces derniers sont mal alimentés et ont de grandes difficultés à se multiplier. (Kirdi, 2011 ; Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello- Cartieux *et al.*, 2003 ; Suty, 2010).

La réduction de la maladie peut être aussi le résultat d'une colonisation importante des racines ou des sites de l'infection par ces rhizobactéries bénéfiques, ce qui réduit l'espace nécessaire à la croissance de pathogène (Jacques *et al.*, 1993 ; Suty, 2010). Ces caractéristiques expliquent leur aptitude à s'installer en nombre et durablement sur et à proximité des racines (Latour et Lemanceau, 1997).

### 5.2.2 L'antibiose

L'antibiose est définie comme « l'inhibition d'un organisme par le produit métabolique d'un autre organisme » (Cook et Baker, 1974), c'est probablement le mécanisme le plus connu et peut-être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogènes dans les tissus de la plante hôte.

Les *Pseudomonas spp fluorescents* produisent une gamme importante de métabolites secondaires, en plus d'enzymes dégradant les parois cellulaires. Les plus caractérisées de ces métabolites secondaires sont les : phénazines, phloroglucinols, pyolutéorine, pyrrolnitrine, lipopeptides, et le cyanure d'hydrogène. Ces métabolites secondaires sont actifs vis à vis d'une large gamme de bactéries et de champignons.

### 5.2.2.1 Production des antibiotiques

Divers antibiotiques sont produit par les *Pseudomonas spp fluorescens* et qui sont impliquées dans le biocontrol des agents fongique tellurique tels que l'acide 1 phénazine carboxyclique, le 2,4-diacétyl- phloroglucinol (DAPG), pyobanine, pyoluteorine, pyrrolnitrine, (Dowling et O'Gava, 1994).

#### 5.2.2.1.1 Les phénazines

Sont des pigments hétérocycliques azotés intensément colorés, produits par différentes souches bactériennes (Leisinger et Margraff 1979 ; Budzikiewicz, 1993 ; Stevans *et al.*, 1994). Ces hétérocycles expriment un large spectre d'activité sur les bactéries et les champignons (Smirnov et Kiprianova, 1990). Les phénazines jouent aussi un rôle dans la compétition rhizosphérique, incluant la survie et la compétence des bactéries productrices (Mazzola *et al.*, 1992).

Phénazine-1-carboxylate (PCA), a été rapporté chez les *Pseudomonas spp fluorescents*, comme *P. fluorescens* (Gurusiddaiah *et al.*, 1986), *P. chlororaphis* (Pierson et Thamashow, 1992) et *P. aeruginosa* (Anjaiah *et al.*, 1998).

La phénazine-1-carboxamide (PCN), a aussi été rapportée chez les *Pseudomonas spp. fluorescents*, tel que *P. aeruginosa* et *P. chlororaphis* (Chin-A-Woeng *et al.*, 1998; Mavrodi *et al.*, 2001). La PCN diffère du PCA par la présence du groupement carboxamide (CONH) au lieu du groupement hydroxyle sur le carbone 1 du noyau phénazine. Cette molécule est plus stable que la PCA, et exprime ses activités antifongiques même à pH alcalin (Chin-A-Woeng *et al.*, 1998).

La pyocyanine (1-hydroxy-5methyl-phénazine), est prédominante chez *P. aeruginosa* (Demange *et al.*, 1989). Cette phénazine de couleur bleue est toxique pour une large gamme de bactéries et champignons (Hassan et Fridovich, 1980). Mais c'est aussi un facteur de virulence dans les infections opportunistes humaines (Price-Whelan *et al.*, 2006).

#### 5.2.2.1.2 Phloroglucinols

Les phloroglucinols sont des antibiotiques à large spectre, produits par une large variété de souches bactériennes. Le 2,4-diacétyl phloroglucinol (DAPG) est aussi un antibiotique phénolique à large spectre d'action produit par *P. fluorescens* Pf-5 (Howell et Stipanovic, 1979), *P. fluorescens* F113 (Fenton *et al.*, 1992), *P. fluorescens* CHAO (Keele *et al.*, 1992) et *P. fluorescens* Q2-87 (Bangera et Thomashow, 1996).

### 5.2.2.1.3 Pyrolnitrine (PRN)

La pyrrolnitrine (PRN) (3-chloro-4-(2'-nitro-3'-chlorophenyl)uncomposé pyrrole, est produite par les *Pseudomonas spp fluorescents* comme *P. fluorescens* (Kirner *et al.*, 1998) et *P. chlororaphis* (Elander *et al.*, 1968).

La production de ce composé par *P. fluorescens* est impliquée dans le contrôle de certains agents pathogènes racinaires comme *R. solani*, *Verticilium dahliae*, *G. graminis* et *Fusarium oxysporum* (Howell et Stipatovic, 1979, Homma *et al.*, 1989).

### 5.2.2.2 Production des produits volatils

La production de cyanure d'hydrogène (HCN) par les souches de *Pseudomonas spp fluorescents* qui est un métabolite secondaire impliqué dans la suppression des agents pathogènes des racines des plantes, L'HCN joue un rôle important dans la limitation de développement de pathogènes telluriques (O'Sullivan et O'Gara, 1992).

Difago *et al.*, 1990 suggèrent que la production de HCN par la souche CHA 0 provoque un stress pour la plante auquel elle réagit par une augmentation de son système racinaire et la stimulation de sa résistance naturelle.

### 5.2.2.3 Les enzymes

L'excrétion d'enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques est fréquemment impliquée dans les attaques des champignons phytopathogènes (Martin et Loper 1999 ; Nielsen et Sorensen, 1998 ; Picard *et al.*, 2000).

La lyse des parois cellulaires, par les enzymes dégradatives excrétées par les microorganismes est une fonction bien connue du mycoparasitisme. La Chitinase, la  $\beta$ -1,3glucanase et la cellulase sont d'importantes enzymes spécialement dans le contrôle fongique, par leurs activités dégradatives des composés des parois cellulaires tels que : la chitine, le  $\beta$ 1-6 glucane et les ponts glucosidiques (Schroth et Hancock, 1981 ; Chet, 1987 ; Lorito *et al.*, 1996). Les microorganismes excrétant la chitinase ont été rapportés comme des agents de biocontrôle efficaces (Ordentlich *et al.*, 1988; Inbar et Chet, 1991).



**Chapitre IV**  
**Isolement et caractérisation**  
**des PGPR cas de**  
***Pseudomonas spp* fluorescent**

## 1 Généralités sur les *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas spp fluorescentes* forment un groupe diversifié de bactéries qui peuvent généralement être distinguées visuellement des autres *Pseudomonas* par leur aptitude à produire un pigment jaune vert soluble dans l'eau (Palleroni *et al.*, 1973) qui sont les pyoverdines produites dans des milieux pauvres en fer (Palleroni, 1984). Ce sont des bacilles à Gram négatifs typiques à de 0,5 à 1 mm de diamètre sur 1,5 à 5 mm de long, chimiohétérotrophes mobiles avec un flagelle polaire (Palleroni *et al.*, 1973). Ils peuvent stimuler la croissance des plantes (Kloepper *et al.*, 1980b) et contrôler les maladies telluriques (Weller, 1988). Parmi les rhizobactéries non symbiotiques. Découvert et classé par Migula comme suite:

Règne :	Bacteria
Division :	Proteobacteria
Class :	Gammaproteobacteria
Ordre :	Pseudomonadales
Famille :	Pseudomonadaceae
Genre :	Pseudomonas

Les *Pseudomonas spp fluorescentes* sont connues pour leurs aptitude d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan (Weger *et al.*, 1994), produisent des antibiotiques (Garbaye, 1994 ; Natsch *et al.*, 1994), et des enzymes hydrolytiques (Limetal., 1991; Neilsen *et al.*, 1998). Elle sont une grande capacité à coloniser les racines et à maintenir une forte densité de population est remarquable. Cette grande rhizo compétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries ; et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large, souvent issus des exsudats racinaires, comme source d'azote ou de carbone (Haas et Keel, 2003).

## 2 Isolement et purification

L'isolement de l'agent antagoniste *Pseudomonas spp fluorescentes* a été le plus souvent réalisé à partir des sols rhizosphérique à vocations agricoles, la technique la plus utilisée est celle adoptée par (Benchabane, 2005). ; des systèmes racinaires entiers ou partiels récupéré avec la masse de sol adhérent, obtenaient de différents organes et grains de plantes de tomate infectés par Fol en utilisant la technique de suspension dilution.

## 21 Préparation des dilutions

Après élimination des éléments racinaires grossiers, le sol fortement adhérent aux racines a été récupéré par rinçage dans des fioles, contenant d'une solution d'eau physiologiques, puis laissées en agitation pendant 10mn, avant de préparer des dilutions, qui consiste tout d'abord à ajouter une masse connue de terre (en général 10 g) à 90 ml d'eau stérile, puis à agiter pendant un temps donné, Ce qui constitue la dilution  $10^{-1}$ . Des prélèvements successifs de 10 ml dans cette suspension, Puis dans les suivantes, ajoutées chaque fois à 90ml d'eau srile ,vont constituer lesdilutions $10^{-2}$ , $10^{-3}$ ,...jusqu'à  $10^{-6}$  en général. Un volume de chaque suspension servant aux opérations d'ensemencement sur le milieu King B (KB) (king *et al.*, 1954) (Benchabane,2005).

L'incubation a été réalisée à 25° Cependant 24 à 48h. Les colonies bactériennes individualisées fluorescents ont été révélées sous lumière ultraviolette (350nm), ont été sélectionnés, repiqués sur le même milieu KB additionné de glycérol (25%) et conservées à  $-20^{\circ}\text{C}$  (Benchabane,2005).

## 22 Mise en culture

100 ul de chaque dilution ont été prélevé puis étalés sur le milieu King B (annexe). Chaque dilution est ensemencée en triplicate. Les boites de Petri portant les indications nécessaires (dilution, la date...) ont été incubées à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48h.

Après l'incubation, les colonies d'aspects différents, fluorescents sous UV (365 nm), ont fait l'objet d'une purification sur le milieu King B (King *et al.*, 1954) puis désignées par un numéro de code (Ouargui et Chaalal, 2019).

## 23 Purification

La pureté des souches bactériennes de *Pseudomonas spp fluorescentes* a été vérifiée sur le milieu King B en réalisant plusieurs repiquages successifs jusqu'à l'obtention des souches pures(Ouarguiet Chaalal,2019).

## 3 Antagonisme *in vitro* et *in situ*

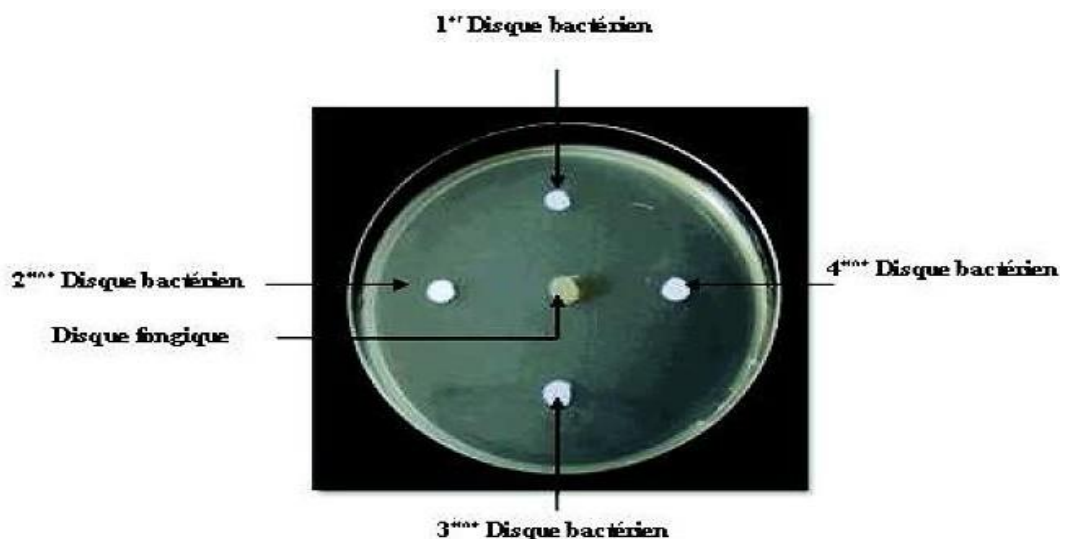
Après l'opération de l'isolement des échantillons, l'évaluation des propriétés antagonistes est la seconde étape de la sélection d'un agent de lutte biologique, elle repose sur l'antagonisme révélé *in vitro* ou sur la capacité de la souche à protéger *in situ* les organes inoculés par le pathogène en conditions contrôlées (Lepoivre, 2003).

### 3.1 Antagonisme *in vitro*

Un essai préliminaire d'antagonisme *in vitro* a été réalisé. Ce test consiste en la vérification et l'estimation des actions antagonistes des *Pseudomonas spp fluorescentes*. L'activité antagoniste vis-à-

vis du champignon phytopathogène *Fol*, a été étudiée par la méthode de Co-culture sur trois milieux nutritifs : milieu PDA favorable au développement de *Fol*, le milieu King B favorable au développement des *pseudomonas spp.fluorescents*.et le milieu mixte équilibré composé de parts égales des deux premiers milieux (King B + PDA). Un disque de champignon (*Fol*) de 5mm de diamètre est prélevé puis déposé à l'aide d'un emporte-pièce stérile sur une boîte de pétri à 2.8cm de la pastille de *Fol*, et quatre disques de 5 mm de diamètre de papier filtres stériles imbibés de crème bactérienne.

Le but de cet essai était de vérifier la capacité de *Pseudomonas spp flueorecents* de réduire la croissance mycélienne. Après l'incubation les mensurations de croissance de fol ont été effectuées afin d'évaluer les effets d'inhibitions.



**Figure 5 :** Essais d'antagonisme *in vitro* entre *Pseudomonas spp fluorescent* et *Fusarium.oxysporum* (Boukerma, 2012).

Cette opération a été répétée trois fois, et des témoins ont été réalisés en cultivant le champignon seul, sans la présence des bactéries, sur les trois milieux. L'incubation a été réalisée à 25° C pendant 8 à 10 jours le temps nécessaire au développement du témoin dans la totalité de la boîte.

La lecture a été faite sur la base de l'inhibition de la croissance du champignon. Les résultats obtenus après sept jours d'incubation à 25°C, ont montré que la croissance mycélienne du témoin pathogène est plus importante que celle obtenue avec celle du pathogène en confrontation. En effet, la croissance du *Fol* cultivé seul, contrairement qu'en présence de *Pseudomonas fluorescent*. Où nous

avons enregistré des diamètres faibles de la croissance mycélienne, avec un effet plus marquant sur le milieu PDA et le milieu mixte (King B+ PDA) (Boukerma, 2012).

### Paramètres d'évaluation

L'évaluation du taux d'inhibition exercé par *Pseudomonas fluorescent* est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (Hmouni *et al.*, 1996):

$$I(\%) = \left(1 - \frac{C_n}{C_o}\right) \times 100$$

Où :

**I (%)** : le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

**C<sub>n</sub>** : le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste

**C<sub>o</sub>** : le diamètre moyen des colonies témoins.

### 3.2 Antagonisme *in situ*

Après la sélection de la souche bactérienne antagoniste et la mise en évidence de son effet inhibiteur *in vitro* sur le développement de champignon pathogène, l'essai d'antagonisme *in situ* a été réalisé avec les antagonistes et l'isolat de champignon phytopathogène en interaction avec des semences et les plantules de tomate conduite sous serre en verre dans des conditions contrôlées, selon la méthode de Van Peer *et al.*, (1991)

Chaque alvéole, contenant un plant de tomate, une suspension bactérienne aux alentours des racines déterrée. Après une semaine de la bactérisation, une mesure de suspension conidienne de *Fol* sont apportés au même endroit.

Les témoins sont traités de la même manière avec l'eau distillée stérile. Après 24h d'inoculation, les plants sont transplantés en pots et déposés sous serre en verre. Ces pots sont préparés 15 jours avant la transplantation et chaque pot a reçu d'une suspension conidienne. Un rappel de bactérisation a été effectué 24 h après la transplantation pour chaque interaction rhizobactérie-champignon.

Les observations de l'expression des symptômes et du développement de la maladie ont commencé après une semaine de la transplantation, en raison d'une observation par semaine pendant deux mois. Dans le but de quantifier la réponse de l'hôte au terme des interactions (hôte-parasite-antagoniste), nous avons mis au point une échelle de classes des symptômes caractéristiques, composée de cinq classes: 1=absence des symptômes; 2=jaunissement des feuilles basales; 3=

jaunissement de la moitié ou plus de la plante ; 4 = flétrissement partiel ; 5 = flétrissement total ou mort de la plante (Benchabane *et al.*, 2000).

### Paramètres d'évaluation

Le suivi de la maladie est basé sur deux paramètres : le nombre de plants malades exprimé par le taux d'infection et la gravité de la maladie exprimée par la sévérité des symptômes apparus. Le niveau de protection des plants, vis-à-vis de la maladie, est exprimé en termes de taux d'inhibition de l'indice d'infection(I)et de la sévérité(S)par rapport aux témoins malades(Banchabane*etal.*,2000).

### Indice de la maladie

La plante est considérée malade après apparition des symptômes. Pour mesurer l'indice de la maladie on doit calculer l'indice d'infection(I)et la sévérité de la maladie(S)suivant les relations :

$$\text{Indice de la maladie (I)} = \left( \frac{\text{Nombre de plants malades} \times \text{Sévérité}}{\text{Nombre de plants} \times \text{Sévérité maximale}} \right) \times 100$$

### Sévérité de la maladie

La sévérité de la maladie est basée sur l'échelle d'infection citée ci-dessus, est exprimé selon la formule écrite par Fuchs et Défago(1991).

$$\text{Sévérité de la maladie (S)} = \left[ \frac{\sum (E \times a)}{N \times T} \right]$$

**N** : nombre total des plantes observés

**T** : valeur du degré le plus haut, c'est-à-dire le 5.

**E** : classe de symptômes qui de 1 à 5.

**a** : nombre de plantes malades à la classe considérée (Chennaoui , 2004).

## 4 Identification des souches

L'identification préliminaire des espèces de *Pseudomonase* est essentiellement basée sur des caractères génériques qui ont été effectuées selon les tests classiques décrits par Lelliot et Stead (1987) et Schaad (1988) : Fluorescence, coloration de Gram, morphologie cellulaire, test d'oxydase, catalase, dihydrolase arginine et la voix d'utilisation de glucose.

### 4.1 Identification morphologique

La caractérisation morphologique des souches bactériennes a été effectuée sur milieu B de King après incubation à 28°C pendant 24 heures. Elle consiste à une observation à l'œil nu des caractères cultureux tels que la forme, la couleur, l'aspect ainsi que l'élévation et les dimensions des colonies.

Également la recherche d'une diffusion d'un pigment fluorescent dans le milieu a été effectuée après 24 à 96 h d'incubation à 25°C±2.

D'après Bell-Pekins et Lynch (2002), les *Pseudomonas* sont des bacilles à 1µm de diamètre sur 1.5 à 5µm de long.

#### 4.1.1 Production du pigment fluorescent

La production du pigment fluorescent diffusible a été recherchée sur le milieu KB ensemencé avec des cultures pures et incubé pendant 24 à 96heures.

Quand l'intensité des pigments est forte, il est observable à l'œil nu ; dans le cas de faible intensité la fluorescence est révélée sous UV (350-400nm) (Larbaoui, 1999).

#### 4.1.2 Coloration de Gram

C'est la coloration de référence en bactériologie. Le test de Gram est réalisé selon deux technique ; la classique (la coloration de Gram) et celle de KOH.

La première elle est réalisée comme suit : Sur un frottis fixé à la chaleur ou à l'alcool, la lame est recouverte de violet de gentiane, après 1 minute, le colorant est rejeté, et la lame est recouverte de lugol pendant 1 minute puis il est rejeté, une décoloration à l'alcool est ensuite réalisée, la lame étant tenue inclinée, la durée de décoloration à l'alcoole est variable selon l'épaisseur du frottis. En pratique, la durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée devient clair, la décoloration est stoppée par un nouveau lavage à l'eau. La lame est recouverte ensuite de fuchsine diluée pendant 30 secondes à 1 minute puis lavée à l'eau et séchée entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur, elle est ensuite examinée à l'immersion. Les bactéries à Gram positif doivent apparaître colorées en violet et les bactéries à Gram négatif en rose (Lanotte *et al.*, 2016).

La deuxième a été effectuée selon la méthode classique. Parallèlement, un test plus rapide, a été effectué. Deux gouttes d'une solution d'hydroxyde de potassium (KOH 3%), sont mises en contact avec une crème bactérienne sur une lame en effectuant un mouvement circulaire. La solution de KOH devient visqueuse en présence de bactéries à gram négatifs. La réaction est considérée positive si la viscosité est obtenue après 30s (Bourgault et Lamothe, 1988).

## 4.2 Identification biochimique

### 4.2.1 Recherche de la catalase

La catalase a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 10 volumes. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles, suite au dégagement gazeux d'oxygène (Lévy *et al.*, 1992).

### 4.2.2 Recherche de l'oxydase

La recherche du cytochrome oxydase a été effectuée selon la méthode décrite par Moore *et al.* (1988). Une crème bactérienne 24h est étalée sur le disque d'oxydase. Le cytochrome oxydase se manifeste par l'apparition d'une coloration violette après 10 secondes. La réponse est positive tardive lorsqu'elle apparaît en retards (10 à 60 secondes), après ce temps la réponse est négative. Les *Pseudomonas spp fluorescentes* sont à cytochrome oxydase positive (Benchabane, 2005).

### 4.2.3 Mobilité

Le milieu utilisé est Mannitol-Mobilité, il permet de mettre en évidence l'utilisation de mannitol comme source de carbone, ainsi que la mobilité des souches bactériennes.

Cette technique consiste à ensemercer sur le milieu Mannitol–Mobilité les souches âgées de 24 h par une pique centrale (Gardan et Luisetti, 1981) à l'aide d'une pipette pasteur. L'incubation est réalisée à une température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . L'apparition d'une coloration jaune correspond au Mannitol positive. Le développement des bactéries dans toute la gélose signifie qu'elles sont mobiles (Abdallah et kaci, 2015).

### 4.2.4 Les galeries Api 20NE

Le système Api 20NE comporte 20 microtubes combiné entre 8 tests conventionnels et 12 tests d'assimilation. Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne d'eau physiologique. Les réactions produites pendant la période l'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

La lecture des résultats est faite par le catalogue de galerie Api20NE. L'identification est réalisée par le logiciel API WEB selon les étapes suivantes :



- **Préparation de la galerie** : Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et remplir les alvéoles avec l'eau distillée pour créer une atmosphère humide, ensuite déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

- **Préparation de l'inoculum**: prélever quelque souche bien isolée identique sur milieu gélosé et la mettre dans un tube d'eau distillé stérile pour réaliser une suspension bactérienne.

Ouvrir une ampoule d'API NaCl et transférer la suspension précédente et les homogénéiser.

- **Inoculation de la galerie** : Introduire la suspension bactérienne dans les tubes (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension bactérienne précédente à l'aide d'une pipette stérile.

- a. Remplir tubes et cupules des tests GLU et PAC avec la suspension bactérienne.

- b. Pour les tests GLU ADH URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de vaseline.

- c. Refermer la boîte d'inoculation et l'incuber à 30° C pendant 24h à 48h.

- **La lecture des résultats du test NO<sub>3</sub>** consiste à rajouter les deux réactifs Nit1 et Nit2. Après 5 minutes, si elle devient rouge ça indique une réaction positive, une réaction négative signalée par la présence de microbulles ajouter le réactif Zn après 5min, si la cupule restée incolore ça indique une réaction positive, si la cupule devient rouge donc c'est une réaction négative (Ouargui et Chaalal, 2019).

- **Test TRP** : Rajouter le réactif James, une couleur rose apparaît indiquée que TRP positif Si incolore TRP négatif.

- **Test d'assimilation** : Une cupule trouble donc c'est positif, si elle reste transparente donc négatif (Gardan et Luisetti, 1981).

#### 4.2.5 Fermentation des sucres

La fermentation des sucres (glucose, lactose) ainsi que la production de H<sub>2</sub>S ont été recherchées sur le milieu d'identification combiné : milieu Hajna-Kligler, en ensemençant abondamment la surface par des stries ou par inondation, le culot est inoculé par simple piqûre centrale avant de les mettre à l'étuve pendant 24h à 30°C (Hildebrand *et al.*, 1988).

#### 4.2.6 Dénitrification

La réduction des nitrates a été testée selon la méthode décrite par Roussel-Delif *et al.* (2005). Des tubes contenant du bouillon nutritif à 0.2 % de KNO<sub>3</sub> et une cloche, pour détecter la formation de gaz, sont inoculés et incubés à température ambiante (22 à 25°C).

La présence de nitrate est révélée après 7 jours par addition de quelques gouttes du réactif de Nessler, la réaction positive donnant une coloration orange à rouge brique. L'adjonction de poudre de Zinc sous forme de  $ZnCl_2$  va permettre la réduction des nitrates en nitrites et donc de confirmer le pouvoir dénitrifiant des isolats. Les isolats capables de produire du gaz ainsi que ceux réduisant les nitrates en nitrites sont aussi considérés comme des dénitrifiants potentiels (Hildebrand *et al.*, 1988).

#### 4.2.7 Protéolyse

Les tubes contenant le milieu gélatine ont été ensemencés avec une crème bactérienne de 24 heures et incubés pendant 72 heures à 25°C. Les tubes inoculés ainsi que le tube témoins ont chauffés légèrement (+5 °) pour vérifier la liquéfaction de la gélatine. La protéolyse se traduit par la liquéfaction du milieu, par comparaison à un témoin négatif qui doit rester solide (Lelliot et Stead, 1987).

#### 4.2.8 Arginine dihydrolase

Certaines *pseudomonas* peuvent se développer en conditions anaérobiques grâce à un système dihydrolase de l'arginine, selon deux réactions enzymatiques : dégradation de l'arginine en citriculline +  $NH_3$  par l'arginine desmidase et la transformation de la ciriculline en orthinine +  $NH_3$  +  $CO_2$  par la citriculline ureidase.

Cette réaction a été testée sur le milieu 2A (Thornly, 1960). Les tubes inoculés ont été recouverts par une légère couche de vaseline et incubé à 26°C pendant 5 jours. La réaction positive se traduit par l'apparition d'une coloration rouge pour présuite à l'alcalinisation du milieu à cause de présence de  $NH_3$  (Hildebrand *et al.*, 1988).

#### 4.2.9 Test d'hypersensibilité

Le test d'hypersensibilité (HR) a été effectué avec des suspensions bactériennes en eau physiologique stérile. L'inoculation de la face inférieure des feuilles de tabac d'une plante à 6 feuilles, par infiltration, à l'aide d'une seringue hypodermique. Les plants de tabac inoculés ont été déposés dans le laboratoire, à la température 20-25°C. Le témoin négatif est inoculé avec de l'eau physiologique stérile. Le développement de collapse au niveau des zones inoculées 2 à 3 jours après, traduit une réaction d'hypersensibilité positive (Klement, 1963).

#### 4.2.10 Production de levane sucrase

La recherche de levane sucrase a été effectuée sur milieu NA à 5 % de sucrose. Après ensemencement du milieu, et incubation de 3 à 5 jours à température ambiante, le développement de colonies blanchâtres, convexes et brillantes indique la présence de levane sucrase (Lelliot et Stead, 1987 ; Hildebrand, 1988).

#### 4.2.11 Le système BIOLOG

Le système BIOLOG, appelé aussi GENIII Microplaque, est un panel de tests permettant l'identification de plus de 2500 espèces de bactéries, levures et moisissures. Ce système d'identification sur plaques donne des résultats rapides, en 4 à 24 heures pour les microorganismes et en moins de 48 heures pour les cellules de mammifères. Le Phénotypage Microarrays couvre les applications de recherche en biologie cellulaire et génétique : cancérologie, cellules souches, toxicologie et optimisation de bio-process. L'omnilog et la Microstation sont des automates assurant l'incubation, la lecture des plaques et l'interprétation et la comparaison des phénotypes cellulaires (Ghorri, 2015).

Cette méthode a été appliquée par Benoussaid *et al.* (2018), pour l'identification des souches de *pseudomonas spp fluorescentes* pour le biocontrôle de la fusariose vasculaire de la tomate.

#### Principe du BIOLOG

Le BIOLOG est une technologie prometteuse, elle se base sur des ensembles de plaques de microtitrage à 96 puits (figure 6). Chaque puits, contenant un milieu de culture de cellule différentes, est conçu pour tester une fonction unique (activité enzymatique, activité protéique, effet antagoniste, etc.) ou de phénotype cellulaire (identification biochimique, tolérance aux différentes sources de carbone, de sucre, d'azote ou autre, tolérance aux différents pH ou salinité, etc.).



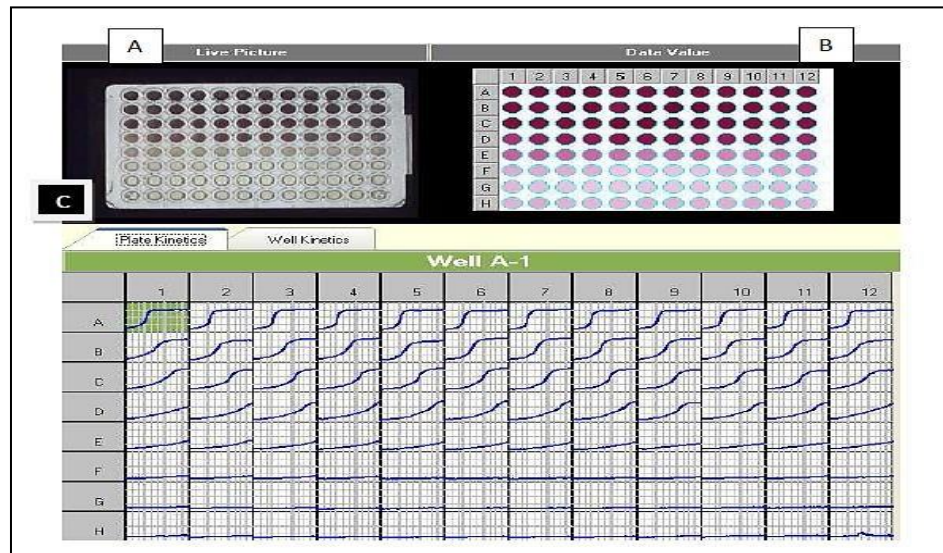
**Figure 6 :** Plaques de micro titrage à 96 puits (Ghorri, 2015)

Après inoculation avec une suspension de cellules, les microplaques sont placées dans un incubateur-lecteur Omnilog (figure 7) et le comportement phénotypique est enregistré par une caméra CCD



**Figure 7 :** System BIOLOG (Ghorri , 2015)

La réponse des cellules dans chaque puits est surveillée par colorimétrie, en utilisant une chimie redox brevetée qui intègre la respiration des cellules au cours du temps. Le résultat observé, est un changement de couleur, d'incolore à violet .Si les cellules présentent un phénotype attendu et peuvent se développer dans un puits, ils respirent normalement pour donner une couleur violette foncée. Si le phénotype et la croissance sont faibles, ils respirent plus lentement et donnent une couleur violette claire. Enfin, si le phénotype et la croissance sont négatifs, le bien reste incolore. Le suivi de la réaction est réalisé à l'aide de système Omnilog de l'appareil Biolog couplé à un ordinateur. Le système Omnilog interprète les résultats sous trois formes : une photo réelle de la plaque, une schématisation de la photo réelle et une cinétique de développement de chaque souche dans chaque puits (figure 8) (Ghorri ,2015).



**Figure 8** : Résultats de BIOLOG (Ghorri , 2015)

(A) photo réelle de la plaque ; (B) photo significative ;  
(C) : cinétique de développement des cellules testées.

### 4.3 Identification génétique

#### 4.3.1 Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN bactérien est une étape primordiale avant toute manipulation génétique. L'ADN bactérien chromosomique est extrait par chauffage à dans un tampon Tris-EDTA(TE)(1mM deTris-HCl et EDTA10 mMpH7,4). Quelques colonies d'une culture pure sont introduites dans un tube Eppendorf stérile contenant de tampon TE stérile. La suspension est agitée puis chauffée à 100°C dans un bain sec pendant 10mn, elle est ensuite placée dans un bain de glace pendant 10mn; le choc thermique permet la lyse cellulaire. La suspension est centrifugée. Le surnageant est récupéré stérilement dans un autre tube Eppendorf pour être conservé à 4°C pendant une nuit pour permettre l'élimination de l'ARN par lyse (Cherif,2014).

#### 4.3.2 Dosage de l'ADN

Un dosage est nécessaire pour déterminer la qualité, la quantité et la pureté de l'ADN dans les échantillons. Il est effectué à l'aide d'un Spectrophotomètre UV. 1µl de chaque surnageant est déposé dans une cellule de l'appareil et la lecture de la DO se fait par un balayage de 230 à 280 nm (Cherif, 2014).

#### 4.3.3 Amplification par PCR

La PCR permet l'amplification spécifique d'un fragment de l'ADN cible en présence d'oligonucléotides codant cette région d'intérêt. Le principe de la PCR consiste en la répétition d'un

cycle triphasique : 1- Dénaturation de l'ADN à amplifier .2-Hybridation de deux amorces de part et d'autre de la séquence cible. 3-Une élongation des amorces par l'activité d'une ADN polymérase en présence de dNTP (Cherif, 2014).

La Taq ADN polymérase possède une activité terminal-transférase qui a pour effet l'ajout d'une désoxyadénosine aux extrémités 3' des fragments amplifiés. La PCR est réalisée dans un thermocycleur après addition des réactifs suivants : dNTP, du tamponMgCl<sub>2</sub>, Taq-polymérase, l'échantillon d'ADN, les amorces spécifiques du gène à amplifier, H<sub>2</sub>O. L'amplification de l'ADN se déroule comme suit : après une première phase de dénaturation (5mn à 94°C), plusieurs cycles comprenant chacun trois étapes de variation de température : une dénaturation de 45 s à 94°C, une hybridation de 1mn à 55° Cet une élongation de 2mn à 72°C. A la fin du dernier cycle, une incubation de 7 mn à 72°C permet d'achever les synthèses de l'ADN en cours. Un refroidissement de 10 mn est réalisé à 14°C.La réaction PCR nécessite un témoin positif (ADN d'une souche de collection de référence amplifiée selon le même protocole), un témoin négatif (réactifs sans ADN) (Cherif,2014).

#### 4.3.4 Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits d'amplification sont analysés sur gel d'agarose contenant quelques gouttes d'une solution de bromure d'éthidium. Après la migration, le gel est visualisé sous lumière UV (Cherif, 2014).

#### 4.3.5 Séquençage

Le produit de l'amplification du gène de l'ARNr 16S est séquencé. Une purification des fragments d'ADN amplifiés est effectuée au préalable par un traitement enzymatique dégradant les amorces et les d NTP restants. Par la suite, les échantillons sont réamplifiés et marqués en utilisant un kit de marquage. Le milieu réactionnel est composé : de Taq polymérase, dNTP, ddNTP marqués par un composé fluorescent. L'amplification s'effectue dans un thermocycleur. L'ADN obtenu est ensuite précipité, puis lavé et centrifugé une deuxième fois. Le culot est séché par centrifugation dans une centrifugeuse. Le culot sec est suspendu dans une solution de formamide, puis introduit dans un séquenceur (Cherif,2014).

#### 4.3.6 Analyse phylogénique

Les séquences partielles de l'ARNr 16S des souches obtenues sont comparées avec les séquences des ARNr 16S disponibles par la recherche des BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>), dans le National Center of Biotechnology Information- USA (NCBI) data-base.

L'alignement multiple des séquences est réalisé en utilisant le Clustal W version 1.8.

Le dendrogramme phylogénétique est analysé par la méthode Neighbor -Joining en utilisant le logiciel Mega 5 (5.05) (Cherif, 2014).

## 5 Importance et commercialisation des biopesticides

### 5.1 Importance

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

Les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique, mais peuvent aussi être utilisés dans des situations pour lesquelles aucune solution de contrôle utilisant des produits de synthèse, n'est actuellement disponible (Ji *et al.*, 2006 ; Lee *et al.*, 2006 ; Saravanakumar *et al.*, 2007).

Ces produits ont été développés pour contrôler de multiples maladies sur divers céréales, légumes, fruits et fleurs (Paulitz et Bélanger, 2001 ; Fravel, 2005), il a été récemment mis en évidence que certains micro-organismes endophytes et/ou certaines rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Rhizobacteria ou PGPR) peuvent conférer à certaines cultures une tolérance aux stress abiotiques comme la sécheresse (Compant *et al.*, 2010 Wang *et al.*, 2012).

Les biopesticides microbiens comprennent les bactéries, champignons, oomycètes, virus et protozoaires. L'efficacité d'un nombre important d'entre eux repose sur des substances actives dérivées des micro-organismes. Ce sont en principe ces substances actives qui agissent contre le bio-agresseur, plutôt que le micro-organisme lui-même (Philippe *et al.*, 2013).

### 5.2 Marché des biopesticides

L'utilisation des biopesticides a longtemps été cantonnée à l'agriculture biologique. Selon Fravel (2005), le marché mondial des pesticides était évalué en 1995 à environ \$29 milliards

USD dont \$388 millions pour les biopesticides. Au cours des dernières années, le marché des pesticides synthétiques avait diminué grâce au développement des biopesticides. Les biopesticides

représentent 2.5% (672millions \$ en 2005) des ventes de produits phytosanitaires (26 milliards \$), alors qu'il était seulement de 0.2% en 2000 (Thakore, 2006).

Les fournisseurs des biopesticides sont principalement des petites et moyennes entreprises qui ont des difficultés compréhensibles à développer de nouveaux produits et à commercialiser pleinement ceux déjà existants (Farm Chemical International, 2010). La majorité des biopesticides commercialisés est d'origine microbienne (Rosas-Garcia,2009). Parmi les biopesticides microbiens, les produits à base de bactéries, ils représentent 74% du marché mondial (Fravel, 2005).

### 53 Critères de choix des biopesticides commercialisés

Un bon antagoniste défini dans des conditions expérimentales doit posséder certaines propriétés pour être utiliser dans la lutte biologique à grande

- Aptitude à la colonisation de la rhizosphère et à la conservation.
- Propriétés technologiques, telle que la multiplication facile de l'antagoniste.
- Propriétés toxicologiques: indemne de pathogénicité pour l'homme, les animaux et les végétaux traités et ne présentant pas de risque lors de sa préparation.
- Propriété agronomique : l'utilisation de l'antagonisme doit pouvoir s'inscrire dans un itinéraire technique aboutissant à la meilleure stratégie visant à associer la lutte biologique à une lutte chimique ou à une amélioration des plantes(Fernandes,2005).



**Conclusion**

---

## Conclusion

Le présent travail a porté sur une synthèse bibliographique des différents travaux portant sur le biocontrôle et l'utilité des rhizobactéries dans le contrôle biologique des tracheomycoses fusariennes.

Certaines bactéries du sol ont la capacité de favoriser le développement des cultures agricoles en stimulant leur croissance à travers la production de métabolites (siderophores, cyanure d'hydrogène (HCN), antibiotiques et produits volatiles) impliqués directement dans leur fonctionnement ou en réduisant les dommages causés par les agents pathogènes.

Notre travail a porté sur les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR). Un type de bactéries phytobénéfiques qui jouent un rôle important dans l'amélioration de la croissance des espèces végétales par des effets direct ou indirect (production de la substance de la croissance, induction d'ISR et production d'antibiotiques).

L'introduction de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère est un moyen alternatif à l'utilisation des substances chimiques. Parmi les espèces les plus expérimentées, les *Pseudomonas* occupe une place de choix. Elles peuvent agir d'une façon directe et indirecte par rapport à la plante et à travers plusieurs mécanismes d'actions. Elles agissent directement par une action d'antibiose tels que la production des phénazines, des pyolutéorine, des pyrrolnitrine et de 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG). Ces bactéries sont également capables de synthétiser des sidérophores appelés pyoverdines ou pseudobactines, impliquées dans l'amélioration de la croissance et de la santé des plantes.

Ces *Pseudomonas spp fluorescents* doivent prouver une efficacité *in vitro* et *in situ* avec une forte capacité d'inhibitrice de l'infection et de la sévérité de la maladie. Sur la base de leur capacité inhibitrices, les souches sélectionnées font l'objet d'une caractérisation classique, morphologique et biochimique, et même moléculaire.

Cette étude souligne la diversité des mécanismes d'actions qui peuvent être exploités chez ce genre de microorganismes antagonistes, surtout pour lutter contre de telles pathogènes dont l'origine tellurique, l'action systémique et les potentialités de conservation et de transmission ne font qu'aggraver et de rendre même impossible l'efficacité de méthodes de lutte classique

Il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations relatives à la mise en œuvre des mécanismes antagonistes, en respectant mieux les aspects microbiologiques (trophiques et adaptatifs dans le sol), sans omettre les possibilités de formulation et de conception des inoculums microbiens destinés à l'emploi pratique. Les inoculums microbiens bénéfiques peuvent apporter un plus aux méthodes classiques, diminuer le recours systématique aux pesticides chimiques et même participer activement dans la restauration de la fertilité des sols.

**Références  
Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

- Abbas, HK; Duke, SO And Tanaka, T. (1993). Phytotoxicité Des Fumonisines Et Des Composés Apparentés. *J. Toxicol. Toxin Rev.*12:225–251.
- Abdallah, K., & Kaci, N. (2015). Activités Antagonistes In Vitro De Deux Souches De *Pseudomonas Spp Fluorescens Vis-A-Vis Des Fusarioses Vasculaires* (Doctoral Dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Achouche, S., & Haroun, D. (2019). Mise En Evidence De L'activité Antagoniste Des Deux Souches De *Pseudomonas Spp. Fluorescens vis-A-Vis De Certaines Trachéomycoses* (Doctoral Dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Agrios, GN. (2005). *Plant Pathology 5*. Edition Elsevier Academic Press, California. 922P.
- Aguayo Et Al., (2017). Développement D'un Test En Temps Réel Basé Sur Une Sonde D'hydrolyse Pour La Détection De Souches Tropicales De *Fusarium Oxysporum F Sp Cubense Race 4*. *Plos ONE*, 12(2)(2017), P.E0171767.
- Akhter, A., Hage-Ahmed, K., Soja, G., & Steinkellner, S. (2016). Potentiel Des Chlamydospores Induisant La Flétrissure Fusarienne, Comportement In Vitro Dans Les Exsudats Racinaires Et Physiologie De La Tomate Dans Un Sol Amendé Par Biochar Et Compost. *Plante Et Sol*, 406 (1), 425-440.
- Alexander, L. J., & Tucker, C. M. (1945). Physiologic Specialization In The Tomato Wilts Fungus *Fusarium Oxysporum F.Sp.*
- Alioui, S., Segni, B. (2020). Etude De La Qualité Physico-Chimique Et Microbiologique De La Conserve Du Concentré De Tomate.
- Anchisi, M., Gennari, M. Et Matta, A. (1985). Retardement Des Symptômes De La Flétrissure Fusarienne Chez La Tomate Par Des Traitements Pré Et Post-Inoculation Des Racines Et Des Parties Aériennes De L'hôte Dans De L'eau Chaude. *Pathologie Physiologique Des Plantes*, 26 (2), 175-183.
- Animashaun, BO, Popoola, AR, Enikuomihin, OA, Aiyelaagbe, IOO Et Imonmion, JE (2017). Résistance Induite A La Fusariose (*Fusarium Oxysporum*) Chez La Tomate A L'aide D'un Activateur De Croissance Végétale, L'acibenzolar-S-Méthyl. *Journal Nigérian De Biotechnologie*, 32, 83-90.

- Arbaoui,A.(2000). Mise En Evidence De La Production De Siderophores, De L'acide Cyanhydrique Et D'antibiotiques Chez Quelques Souches De Pseudomonas Fluorescens (Doctoral Dissertation).
- Arie, T., Takahashi, H., Kodama, M., & Teraoka, T. (2007). La Tomate Comme Plante Modèle Pour Les Interactions Plante-Pathogène. *Biotechnologie Végétale* , 24 (1),135-147.
- Armstrong, GM, GM, A., &JK, A. (1981). *Formae Speciales Et Races De Fusarium Oxysporum Provoquant Des Maladies DeFlétrissement*.
- Attitalla, IH, Fatehi, J., Levenfors, J. Et Brishammar, S. (2004). Une Méthode Moléculaire Rapide Pour Différencier Deux Formes Spéciales (Lycopersici Et Radicis-Lycopersici) De Fusarium Oxysporum. *Recherches Mycologiques* , 108 (7), 787-794.
- Balasundram, N., Sundram, K., &Samman, S. (2006). Phenolic Compounds In Plants And Agri-Industrial By-Products: Antioxidantactivity, Occurrence, And Potential Uses. *Food Chemistry*, 99(1),191-203.
- Bano,N.,&Musarrat, J. (2003).CharacterizationOfANewPseudomonasAeruginosaStrain NJ-15 As A Potentialbiocontrol Agent. *Currentmicrobiology*, 46(5),0324-0328.
- Beauchamp, C. J. (1993). Mode Of Action Of Plant Growth-Promotingrhizobacteria And Theirpotential Use As Biological Control Agent.*Phytoprotection*.
- Beckman, CH (1987). *La Nature Des Maladies Du Flétrissement Des Plantes* . PresseAPS.
- Bénard, C.(2009).EtudeDeL'impactDeLaNutritionAzotéeEtDesConditionsDeCulture Sur Le Contenu En Polyphénols Chez La Tomate (Doctoral Dissertation, Institut National Polytechnique De Lorraine).
- Benchabane, M. (2005). Caractérisation Des Effets D'antagonisme Microbien Et De Promotion De La Croissance Végétale De Souches De Pseudomonas Spp. Fluorescents (DoctoralDissertation).
- Benchabane,M.,Bakour,R.,Toua,D.,&Boutekrabt,A.(2000).MiseEnEvidenceDeL'effet Antagoniste De Pseudomonas Fluorescens Vis-A-Vis De La Fusariose Vasculaire De La Tomate. *EPPO Bulletin*, 30(2),243-339.
- Benoussaid, N., Benchabane, M., & Thonart, P. (2018). Identification Of Fluorescent Pseudomonas Strains And Application Of Their Freeze-Dried In Biocontrol Of Tomato Fusarium Vascular Wilt. *Agrobiologia*, 8(1),753-764.
- Bernard,F.(2012).LeDéveloppementDesChampignonsPathogènesFoliairesRépondALA Température, Mais A Quelle Température? (Doctoral Dissertation, Paris,AgroParisTech).
- Bertin, C., Yang, X. Et Weston, LA (2003). Le Rôle Des Exsudats Racinaires Et Des Allélochimiques Dans La Rhizosphère. *Plante Et Sol* , 256 (1),67-83.

- Bérubé, M. E., Vanasse, A., Rioux, S., Bourgeois, G., Bourget, N., Tremblay, G., & Dion, Y. (2009). Effet Du Glyphosate Et Du Travail Du Sol Sur L'incidence De La Fusariose De L'épi Chez Le Blé Et L'orge. Journée D'information Scientifique–Grandes Cultures, CRAAQ, Drummondville, 19.
- Biju V C Et Al., (2017). De Multiples Trajectoires Evolutives Ont Conduit A L'émergence De Races Chez *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici*. *Appl. Environ. Microbiol.* , 83 (2017) , P. E02548 - E2616.
- Blancard, D. (1988). *Maladies De La Tomate. Observer, Identifier, Lutter* (Pp. 212-P). INRA Editions.
- Blancard, D. (2009). *Les Maladies De La Tomate: Identifier, Connaître, Maîtriser*. Quae.
- Boix-Ruíz, A., Gálvez-Patón, L., De Cara-García, M., Palmero-Llamas, D., Camacho-Ferre, F., & Tello-Marquina, J. C. (2015). Comparison Of Analytical Techniques Used To Identify Tomato-Pathogenic Strains Of *Fusarium Oxysporum*. *Phytoparasitica*, 43(4), 471-483.
- Booth, C. (1971). *Le Genre Fusarium. Le Genre Fusarium*.
- Borguini, R. G., & Ferraz Da Silva Torres, E. A. (2009). Tomatoes And Tomato products As Dietary Sources Of Antioxidants. *Food Reviews International*, 25(4), 313-325.
- Borisade, O. A., Uwaide, Y. I. Et Salami, A. E. (2017). Rapport Préliminaire Sur *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* (Sensu Lato) De Certaines Zones Agroécologiques Productrices De Tomates Dans Le Sud-Ouest Du Nigeria Et La Sensibilité A L'infection Des Hybrides De Tomate Résistants A La F1 (F1-Lindo). *Recherche Et Revue Annuelles En Biologie* , 1-9.
- Bost, S. C. (2001). Premier Signalement De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* Race 3 Sur Tomate Au Tennessee. *Maladie Des Plantes* , 85 (7), 802-802.
- Boudoudou, H., Hassikou, R., Ouazzani Touhami, A., Badoc, A., & Douria, A. (2009). Paramètres Physicochimiques Et Flore Fongique Des Sols De Rizières Marocaines. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148, 17-44.
- BOUKERMA, L. (2012). Effet Des Pgpr (*Pseudomonas* Spp. Fluorescents) Sur Le Biocontrôle Et L'induction De La Résistance Systemique (Irs) Chez La Tomate Vis-A-Vis De La Fusariose Vasculaire (Doctoral Dissertation).
- Bourgault, A. M., & Lamothe, F. R. A. N. Ç. O. I. S. (1988). Evaluation Of The KOH Test And The Antibiotic Disk Test In Routine Clinical Anaerobic Bacteriology. *Journal Of Clinical Microbiology*, 26(10), 2144-2146.
- Brookie, K. L., Best, G. I., & Conner, T. S. (2018). Intake Of Raw Fruits And Vegetables Is Associated With Better Mental Health Than Intake Of Processed Fruits And Vegetables.

- Frontiers In Psychology, 9, 48. Budzikiewicz, H. (1993). Métabolites Secondaires Des Pseudomonades Fluorescentes. FEMS Microbiology Letters , 104 (3-4), 209-228.
- Cattelan, A. J., Hartel, P. G., & Fuhrmann, J. J. (1999). Screening For Plant Growth-Promoting Rhizobacteria To Promote Early Soybean Growth. Soil Science Society Of America Journal, 63(6), 1670-1680.
  - Causse, M., Caranta, C., Saliba-Colombani, V., Moretti, A., Damidaux, R., & Rousselle, P. (2000). Valorisation Des Ressources Génétiques De La Tomate Par L'utilisation De Marqueurs Moléculaires. Cahiers Agricultures , 9 (3), 197-210.
  - Chauv, C. L., & Foury, C. L. (1994). Cultures Légumières Et Maraichères. Tome III: Légumineuses Potagères, Légumes Fruit. Tec Et Doc Lavoisier, Paris.
  - Chellemi, D. O., Dankers, H. A. Et Croisier, B. (1992). Premier Signalement De Fusarium Oxysporum F. Sp. Lycopersici Race 3 Sur Tomate Dans Le Nord-Ouest De La Floride Et En Géorgie. Maladie Des Plantes , 76.
  - Chellappan Et Al., (2014). Evolution Des Races Au Sein De Fusarium Oxysporum F Sp Lycopersici. Pathologie Moléculaire Des Plantes, Institut Swammerdam Des Sciences De La Vie, Université d'Amsterdam, 1090 Go Amsterdam, Pays-Bas ;2014.
  - Cherif, H. (2018). Amélioration De La Croissance Du Blé Dur En Milieu Salin Par Inoculation Avec Bacillus Sp. Et Pantoea Agglomerans Isolées De Sols (Doctoral Dissertation).
  - Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B. Et Staskawicz, B. J. (2006). Interactions Hôte-Microbe : Façonner L'évolution De La Réponse Immunitaire Des Plantes. Cellule , 124 (4), 803-814.
  - Choudhary D. K. And Johri B. N., (2009). Interaction Of Bacillus Spp. And Plants \_With Spécial Référence To Induced Systemic Résistance (ISR). Microbiological Research. 164 (5): 493-513.
  - Cirad. (2002). Organisme, France Ministère Des Affaires Etrangères, Cirad, Centre De Coopération Internationale En Recherche Agronomique Pour Le Développement Groupe De Recherche Et D'échanges Technologique, Ministère Des Affaires Etrangère). Mémento De L'agronomie. Ed. Quae. P. 1045-1046.
  - Çolak, A., & Biciçi, M. (2013).
  - Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. (2010). Bactéries Favorisant La Croissance Des Plantes Dans La Rhizo Et L'endosphère Des Plantes : Leur Rôle, Leur Colonisation, Les Mécanismes Mis En Jeu Et Les Perspectives D'utilisation. Biologie Et Biochimie Des Sols , 42 (5), 669-678.

- Daami-Remadi, M., Souissi, A., Oun, H. B., Mansour, M., & Nasraoui, B. (2009). Effets De La Salinité Sur La Gravité De La Flétrissure Fusarienne Et La Croissance De La Tomate. *Sol Dynamique, Plante Dynamique*, 3 (1), 61-69.
- Dalila, TOUA, Benchabane, M., Bensaid, F., & Bakour, R. (2013). Évaluation De *Pseudomonas Fluorescens* Pour Le Contrôle Biologique De La Fusariose De La Tomate Et Du Lin. *Journal Africain De Recherche En Microbiologie*, 7 (48), 5449-5458.
- Damidaux, R. (1989, March). La Tomate Pour L'industrie. Evolution Des Objectifs De Selection. Mecanisation. In *Journee Technique De L'iriam. IRIAM*.
- Davet, P. (1967). Les Maladies Des Solanacées Maraîchères En Tunisie. *Annales I.N.R.A40* (3): 1-13.
- Davis, R. M., Kimble, K. A. Et Farrar, J. J. (1988). Une Troisième Race De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* Identifié En Californie. *Maladie Des Plantes*, 72 (5).
- De Sain, M., & Rep, M. (2015). Le Rôle Des Protéines Sécrétées Par Des Agents Pathogènes Dans Les Maladies Fongiques Du Flétrissement Vasculaire. *Journal International Des Sciences Moléculaires*, 16 (10), 23970-23993.
- DEBBI, A. (2019). Etude De La Diversité Génétique De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* Agent Du Flétrissement De La Tomate Et Recherche De L'effet Antagoniste De *Trichoderma* Spp. A L'égard De L'agent Pathogène (Doctoral Dissertation).
- Debbi, A., Bouregghda, H., Monte, E., & Hermosa, R. (2018). Distribution Et Variabilité Génétique De *Fusarium Oxysporum* Associée Aux Maladies De La Tomate En Algérie Et Stratégie De Lutte Biologique Avec *Trichoderma* Spp. *Frontières En Microbiologie*, 9, 282.
- Defago, G., Berling, C. H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Keel, C., ... & Wüthrich, B. (1990). Suppression De La Pourriture Noire Des Racines Du Tabac Et D'autres Maladies Des Racines Par Des Souches De *Pseudomonas Fluorescens* : Applications Et Mécanismes Potentiels. *Lutte Biologique Contre Les Phytopathogènes Du Sol*, 93-108.
- Degioanni, B. (1997). *La Tomate*. Paris, Hatier. P96.
- Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. (2013). Les Biopesticides, Compléments Et Alternatives Aux Produits Phytosanitaires Chimiques (Synthèse Bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société Et Environnement*.
- Di Pietro, A., & Roncero, M. I. G. (1998). Clonage, Expression Et Rôle Dans La Pathogénicité De Pg1 Codant Pour La Principale Endopolygalacturonase Extracellulaire Du Pathogène De La Flétrissure Vasculaire *Fusarium Oxysporum*. *Interactions Moléculaires Plante-Microbe*, 11 (2), 91-98.



- Di Pietro, A., Madrid, MP, Caracuel, Z., Delgado-Jarana, J., & Roncero, MIG (2003). Fusarium Oxysporum : Exploration De L'arsenal Moléculaire D'un Champignon De La Flétrissure Vasculaire. *Mol. Phytopathol* , 4 (5),315-325.
- DIGAT, B. (1994). Les Bactéries Stimulatrices De La Croissance Des Plantes: Le Cas Des Pseudomonas. *Comptes Rendus De l'Académie D'agriculture De France*, 80(2),113-122.
- Doohan,FM,Brennan,J.,&Cooke,BM(2003).InfluenceDesFacteursClimatiquesSurLes Espèces De Fusarium Pathogènes Des Céréales. Dans *Épidémiologie Des Champignons Producteurs De Mycotoxines* (Pp. 755-768). Springer,Dordrecht.
- Dowling, DN, Et O'Gara, F. (1994). Métabolites De Pseudomonas Impliqués Dans Le Biocontrôle Des Maladies Des Plantes. *Tendances En Biotechnologie* , 12 (4),133-141.
- Duffy, BK, & Défago, G. (1999). Les Engrais A Macro Et Microéléments Influencent La Gravité De La Pourriture Du Collet Et Des Racines De La Tomate Par Fusarium Dans Un Système De Production Hors Sol. *Hortscience* , 34 (2),287-291.
- Fernando,WD,Ramarathnam,R.,Krishnamoorthy,ASEtSavchuk,SC(2005).Identification Et Utilisation De Volatils Antifongiques Organiques Bactériens Potentiels En Biocontrôle. *Biologie Et Biochimie Des Sols* , 37 (5),955-964..
- Fravel, D. R. (2005). Commercialization And Implementation Of Biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43,337-359.
- Gabe, H.L And Kright, B.C. (1973). The Occurence Of A Second Race Of The Tomato Fusarium Wilt In The Greenhouse. *Brit. Insectic Fungic.* 3:334.
- Gallais, A., &Bannerot, H. (1992). Amélioration Des Espèces Végétales Cultivées. Objectifs Et Critères De Sélection. EditionsQuae.
- Gamble, T. N., Betlach, M. R., &Tiedje, J. M. (1977). Numerically Dominant DenitrifyingbacteriafromWorldSoils.*AppliedAndEnvironmentalmicrobiology*,33(4),926-939.
- Gams, W., & Nirenberg, HI (1989). Une Contribution A La Définition Générique De Fusarium. *Mycotaxon* , 35 (2),407-416.
- Garbaye, J. (1994). Tansley Avis No. 76 Bactéries Auxiliaires : Une Nouvelle Dimension A La Symbiose Mycorhizienne. *Nouveau Phytologue* , 128 (2),197-210.
- García-Maceira, FI, DiPietro, A., Huertas-González, MD,Ruiz-Roldán, MC Et Roncero, MIG (2001). Caractérisation Moléculaire D'une Endopolygalacturonase De Fusarium Oxysporum Exprimée Au Cours Des Premiers Stades De L'infection.*Microbiologie Appliquée Et Environnementale* , 67 (5), 2191-2196.

- Gardan, L., Bella, P., Meyer, J. M., Christen, R., Rott, P., Achouak, W., & Samson, R. (2002). *Pseudomonas Salomonii* Sp. Nov., Pathogenic On Garlic, And *Pseudomonas Palleroniana* Sp. Nov., Isolated From Rice. *International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 52(6), 2065-2074.
- Ghorri, S. (2015). Isolement Des Microorganismes Possédant Une Activité Anti.
- Glick, BR (1995). L'amélioration De La Croissance Des Plantes Par Des Bactéries Libres. *Revue Canadienne De Microbiologie* , 41 (2), 109-117.
- Grattidge, R., & O'brien, RG (1982). Occurrence D'une Troisième Race De Flétrissure Fusarienne Des Tomates Dans Le Queensland. *Maladie Des Plantes* , 66 (2), 165-166.
- Gray, EJ Et Smith, DL (2005). PGPR Intracellulaire Et Extracellulaire : Points Communs Et Distinctions Dans Les Processus De Signalisation Plante-Bactérie. *Biologie Et Biochimie Des Sols* , 37 (3), 395-412.
- Guignard, L. (2000) *Biochimie Végétale*. 274p.
- Haas, D., & Keel, C. (2003). Régulation De La Production D'antibiotiques Chez *Pseudomonas* Spp. Et Pertinence Pour La Lutte Biologique Contre Les Maladies Des Plantes. *Revue Annuelle De Phytopathologie* , 41 (1), 117-153.
- Haas, D., & Défago, G. (2005). Contrôle Biologique Des Agents Pathogènes Du Sol Par Les *Pseudomonades* Fluorescentes. *Nature Reviews microbiology* , 3 (4), 307-319.
- Hamel, LP, Nicole, MC, Duplessis, S., & Ellis, BE (2012). Signalisation De La Protéine Kinase Activée Par Les Mitogènes Dans Les Champignons Interagissant Avec Les Plantes : Messages Distincts Des Messagers Conservés. *La Cellule Végétale* , 24 (4), 1327-1351.
- Henni, J. E. (1998). Morphologie, Pouvoir Pathogène Et Diversité Génétique Chez *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* (Doctoral Dissertation, Thèse De Doctorat D'état. Université d'Oran).
- Henni, J., Boisson, C., & Geiger, J. P. (1994). Variabilité Du Pouvoir Pathogène Chez Le *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici*. *Phytopathologia Mediterranea*, 10-16.
- Hildebrand, D. C. (1971). Pectate And Pectin Gels For Differentiation Of *Pseudomonas* Sp. And Other Bacterial Plant Pathogens. *Phytopathology*, 61(7).
- Holtz, G. (1976). Race Two Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* In The Republic Of South Africa. *Phytophylactica* 8:87-88.
- Houterman, PM, Cornelissen, BJ, & Rep, M. (2008). Suppression De L'immunité Basée Sur Les Gènes De Résistance Des Plantes Par Un Effecteur Fongique. *Pathogènes Plos* , 4 (5), E1000061.

- Houterman, P.M., Speijer, D., Dekker, H.L., DeKoster, C.G., Cornelissen, B.J., & Rep, M. (2007). Le Protéome Mixte De La Sève Du Xylème De Plantes De Tomates Infectés Par *Fusarium Oxysporum*. *Pathologie Moléculaire Des Plantes*, 8 (2), 215-221.
- Huat, J. (2008). Diagnostic Sur La Variabilité Des Modes De Conduite D'une Culture Et De Leurs Conséquences Agronomiques Dans Une Agriculture Fortement Soumise Aux Incertitudes: Cas De La Tomate De Plein Champ A Mayotte.
- Hubbeling, N., Alexander, L. J., & Cirulli, M. (1971). Resistance To *Fusarium* And *Verticillium* Wilts In Tomato.
- Huertas-González, M. D., Ruiz-Roldán, M. C., Maceira, F. I. G., Roncero, M. I. G., & Di Pietro, A. (1999). Cloning And Characterization Of P11 Encoding An In Planta-Secreted Pectate Lyase Of *Fusarium Oxysporum*. *Current Genetics*, 35(1), 36-40.
- Husaini, A.M., Neri, D. (2016). Strawberry Growth, Development And Diseases. 212p.
- Inbar, J., & Chet, I. (1991). Preuve Que La Chitinase Produite Par *Aeromonas caviae* Est Impliquée Dans Le Contrôle Biologique Des Agents Pathogènes Des Plantes Du Sol Par Cette Bactérie. *Biologie Et Biochimie Des Sols*, 23 (10), 973-978.
- Jeannequin, B., Dosba, F., & Amiot-Carlin, M.J. (2005). Fruits Et Légumes Caractéristiques Et Principaux Enjeux. Collection «Un Point Sur Les Filières». INRA. Paris.
- Jelinski, N.A., Broz, K., Jonkers, W., Ma, L.J. Et Kistler, H.C. (2017). Les Suites De Gènes Effecteurs Dans Certains Isolats Du Sol De *Fusarium Oxysporum* Ne Sont Pas Des Prédicteurs Suffisants Du Flétrissement Vasculaire De La Tomate. *Phytopathologie*, 107(7), 842-851.
- Jesúsperiago, M., García-Alonso, J., Jacob, K., Belén Olivares, A., José Bernal, M., Dolores Iniesta, M., ... & Ros, G. (2009). Bioactive Compounds, Folate And Antioxidant Properties Of Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) During Vine Ripening. *International Journal Of Food Sciences And Nutrition*, 60(8), 694-708.
- Jeunot, B. (2005). Les Fusariotoxines Sur Céréales: Détection, Risque Et Nouvelle Réglementation (Doctoral Dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V., & Wilson, M. (2006). Integrated Biological Control Of Bacterial Speck And Spot Of Tomato Under Field Conditions Using Foliar Biological Control Agents And Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Biological Control*, 36(3), 358-367.
- Jones, D.L., Hodge, A., & Kuzyakov, Y. (2004). Régulation Végétale Et Mycorhizienne De La Rhizodéposition. *Nouveau Phytologue*, 163 (3), 459-480.

- Joshi, R. (2018). Une Revue De Fusarium Oxysporum Sur Son Interaction Avec Les Plantes Et Son Utilisation Industrielle. *J. Méd. Plantes Stud* , 6 (3),112-115.
- Júnior, V. L., Maffia, L. A., Da Silva Romeiro, R., & Mizubuti, E. S. (2006). Biocontrol Of Tomato Late Blight With The Combination Of Epiphytic Antagonists And Rhizobacteria. *Biological Control*, 38(3),331-340.
- Klement, Z. (1963). Rapid Detection Of The Pathogenicity Of Phytopathogenic Pseudomonads. *Nature*, 199(4890),299-300.
- Kloepper, J. W. (1978). Plant Growth-Promotingrhizobacteria On Radishes. In *Proc. Of The 4th Internat. Conf. On Plant Pathogenicbacter*, Station De Pathologie Vegetale Et Phytobacteriologie, INRA, Angers, France, 1978 (Vol. 2, Pp.879-882).
- Lambert, DH, Powelson, ML Et Stevenson, WR (2005). Interactions Nutritionnelles InfluençantLesMaladiesDeLaPommeDeTerre.*AmericanJournalOfPotato Research*,82 (4),309-319.
- Lanotte, P., & Isnard, C. (2016). Du Prélèvement A La Caractérisation Des Souches. *Bacteriologie Medicale: Techniques Usuelles*,15.
- Latigui, A. (1984). Effects Des Différents Niveaux De Fertilisation Potassique Sur La Fructification De La Tomate Cultivée En Hiver Sous Serre Non Chauffée (Doctoral Dissertation, Thèse De Magister. INRA El-Harrach,Algérie).
- Latour,X.,&Lemanceau,P.(1997).MétabolismeCarbonéEtEnergétiqueDesPseudomonas Spp Fluorescents Saprophytes A Oxydase Positive. *Agronomie*, 17(9-10),427-443.
- Latour, X., Delorme, S., Mirleau, P., &Lemanceau, P. (2009). Identification Of Traits Implicated In The Rhizospherecompetence Of Fluorescent Pseudomonads: Description Of A Strategybased On Population And Model Strainstudies. *Sustainable Agriculture*,285-296.
- Laumonier, R. (1979). *Culture Légumière Et Maraîchère*, JBBallièreeds.
- LD, MB, Villarruel Ordaz, JL, Oropeza, C., & Sánchez-Espinosa, AC Sécrétés Dans Les Gènes Xylem (Six) Dans Fusarium Oxysporum F. Sp. Cubense Et Leur Acquisition Potentielle Par TransfertHorizontal.
- Lee,J.P.,Lee,S.W.,Kim,C.S.,Son,J.H.,Song,J.H.,Lee, K.Y.,...&Moon,B.J.(2006). EvaluationOfFormulationsOfBacillusLicheniformisForTheBiologicalControlOfTomato Gray Mold Caused By Botrytis Cinerea. *Biological Control*, 37(3),329-337.
- Leisinger, T., &Margraff, R. (1979). Métabolites Secondaires Des Pseudomonades Fluorescentes. *Revue Microbiologiques* , 43 (3),422-442.
- Lelliott, R. A., & Stead, D. E. (1987). *Methods For The Diagnosis Of Bacterial Diseases Of Plants*. Blackwell ScientificPublications.

- Lemanceau, P. (1992). Effets Bénéfiques De Rhizobactéries Sur Les Plantes: Exemple Des Pseudomonas Spp Fluorescents. *Agronomie*, 12(6),413-437.
- Lemanceau, P., Expert, D., Gaymard, F., Bakker, P.A.H.M. And Briat, J.F., 2009. Role Of Iron In Plant–Microbe Interactions. *Adv. Bot. Res.* 51:491-549.
- Leslie JF And Summerell AB (2006) *The Fusarium Laboratory Manual*. Wiley-Blackwell, New York.
- Levy, E., Eyal, Z., Chet, I., & Hochman, A. (1992). Resistance Mechanisms Of Septoria Tritici To Antifungal Products Of Pseudomonas. *Physiological And Molecular Plant Pathology*, 40(3),163-171.
- Lievens, B., Houterman, PM, & Rep, M. (2009). Le Criblage Des Gènes Effecteurs Permet Une Identification Sans Ambiguïté De Fusarium Oxysporum F. Sp. Races Lycopersici Et DiscriminationDesAutresFormaeSpeciales.LettresDeMicrobiologieFEMS,300(2),201- 215.
- Lim, HS, Kim, YS Et Kim, SD (1991). Transformation Génétique De Pseudomonas Stutzeri YPL-1EtMécanismeAntifongiqueContreFusariumSolani,UnAgentDeLaPourritureDes Racines Des Plantes. *Microbiologie Appliquée Et Environnementale* , 57 (2),510-516.
- Ma, LJ (2014). Transfert Horizontal De Chromosomes Et Stratégies Rationnelles PourGérer LesMaladiesDuFlétrissement VasculaireFusarien.*PathologieMoléculaireDesPlantes*,15 (763).
- Ma, LJ, Van Der Does, HC, Borkovich, KA, Coleman, JJ, Daboussi, MJ, Di Pietro, A., & Rep, M. (2010). La Génomique Comparative Révèle Des Chromosomes Mobiles De Pathogénicité Chez Fusarium. *Nature* , 464 (7287),367-373.
- Marlatt, ML, Correll, JC, Kaufmann, P., & Cooper, PE (1996). Deux Populations Génétiquement Distinctes De Fusarium Oxysporum F. Sp. Lycopersici Race 3 Aux États-Unis. *Maladie Des Plantes* , 80 (12),1336-1342.
- Mattar, J. (1993). Les Pseudomonas Fluorescents De La Rhizosphère: Caractérisation, IncidenceDeLaTempératureEtDeLaMicrofloreAutochtoneSurLaColonisationRacinaire (Doctoral Dissertation, Lyon1).
- MCGovern,R.J.(2015).ManagementOfTomatoDiseasesCausedByFusariumOxysporum. *Crop Protection*, 73,78-92.
- MCKeen, CD, & Wensley, RN (1961). Longévité De Fusarium Oxysporum En Culture En Tube De Sol. *Sciences* , 134 (3489),1528-1529.

- Merrill, A. H., Sullards, M. C, Wang, E., Voss K. A And Riley, R. T. (2001). Sphingolipid Métabolisme: Rôles Dans La Transduction Du Signal Et La Perturbation Par Les Fumonisines. Environ. Point De Vue De La Santé. 109:283-289.
- Mezaache-Aichour,S.,Guechi,A.,Nicklin,J.,Drider,D.,Prevost,H.,&Strange,RN(2012). Isolement, Identification Et Activité Antimicrobienne Des Pseudomonades Isolées De La Rhizosphère De Pommes De Terre Cultivées En Algérie. Journal De Pathologie Végétale , 89-98.
- Miyao, G., & Davis, M. (2012, Juin). Déplacement De Fusarium Oxysporum Via L'équipement.DansXIISymposiumInternationalSurLaTransformationDeLaTomate971 (Pp.111-112).
- Morel, J. L., Bitton, G., Chaudhry, G. R., &Awong, J. (1989). Fate Of Geneticallymodifiedmicroorganisms In The Corn Rhizosphere. Currentmicrobiology, 18(6), 355-360.
- Munro, D. B., & Small, E. (1998). Les Légumes Du Canada. NRCResearchpress.
- Naika, S., De Jeude, J. V. L., De Goffau, M., Hilmi, M., & Van Dam, B. (2005). Cultivation Of Tomato. Production, Processing And Marketing, Agromisa/CTA.Revisededition.
- Natsch, A., Keel, C., Pfirter, HA, Haas, D., & Défago, G. (1994). Contribution Du Gène Régulateur Global Gaca A La Persistance Et A La Dissémination De La Souche CHA0 De Lutte Biologique De Pseudomonas Fluorescens Introduite Dans Les Microcosmes Du Sol. Microbiologie Appliquée Et Environnementale , 60 (7),2553-2560.
- Nelson, K. A., Schart, P. C., Bundy, L. G., &Tracy, P. (2004). CropManagement.
- Nielsen, MN, Sørensen, JAN, Fels, J., & Pedersen, HC (1998). Antagonisme Secondaire Dépendant Du Métabolite Et De L'endochitinase Envers Les Microchampignons Phytopathogènes Des Isolats De Pseudomonas Fluorescens De La Rhizosphère De La Betterave Sucrière. Microbiologie Appliquée Et Environnementale , 64 (10),3563-3569.
- NirmaladeviD,VenkataramanaM,SrivastavaRK,UppalapatiSR,GuptaVK,Yli-MattilaT, Tsui KMC, Srinivas C, Niranjana SR And Chandra NS (2016) Molecular Phylogeny, Pathogenicity And Toxigenicity Of Fusarium Oxysporum F. Sp. Lycopersici. Sci. Rep. 6: 21367.
- Nirmaladevi,D.,&Srinivas,C.(2012).VariationCulturelle,MorphologiqueEtPathogénicité Chez Fusarium Oxysporum F. Sp. Lycopersici Provoquant Le Flétrissement De La Tomate. Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi , 2 (1),1-16.
- Ordentlich, A., Elad, Y., &Chet, I. (1988). Le Rôle De La Chitinase De Serratiamarcescens Dans Le Biocontrôle De Sclerotiumrolfsii. Phytopathologie , 78 (1),84-88.

- Ouargui, H., Chalaal, R. (2019). Isolement Et Caractérisation De Quelques Souches De Pseudomonas Spp Fluorescents Productrices D'antibiotiques De Nature Phenazique.
- Ozenda, P. (1990). Les Organismes Végétaux. 1. Végétaux Inférieurs. Masson.
- Palleroni, New Jersey (1984). Genre I. Pseudomonas. Manuel De Bactériologie Systématique De Bergey, 1, 141-199.
- Palleroni, NJ, Kunisawa, R., Contopoulou, R., & Doudoroff, M. (1973). Homologies D'acides Nucléiques Dans Le Genre Pseudomonas. Journal International De Microbiologie Systématique Et Evolutive, 23 (4), 333-339.
- PARC, D. (1959). Certains Aspects De La Biologie De Fusarium Oxysporum Schl. Dans Le Sol. Annales De Botanique, 23 (1), 35-49.
- Paulitz, T. C., & Bélanger, R. R. (2001). Biological Control In Greenhouse Systems. Annual Review Of Phytopathology, 39(1), 103-133.
- Pecaut, P., & Laterrot, H. (1966). Perspectives Sur La Sélection De Variétés De Tomate Résistantes Aux Maladies. Genet, Agr, 20, 110-120.
- Pena, (2005). La Fusariose De La Tomate Causée Par Fusarium Oxysporum F So Lycopersici Race 3 En Baja California Sur. Mexique. Plant Dis., 12(2005), P.1360.
- Pesson, P., & Louveaux, J. (1984). Pollinisation Et Productions Végétales INRA. 663pp.
- Petit-Houdenot Et Fundal (2017). Interaction Complexes Entre Les Genes De Virulence Fongique Et Leurs Genes De Résistance Végétale Correspondants Et Conséquences Pour La Gestion De La Résistance Aux Maladies Front. Plante. Sci., 8(2017), P.1072.
- Picard, C., Di Cello, F., Ventura, M., Fani, R., & Guckert, A. (2000). Fréquence Et Biodiversité Des Bactéries Productrices De 2,4-Diacétylphloroglucinol Isolées De La Rhizosphère Du Maïs A Différents Stades De Croissance Des Plantes. Microbiologie Appliquée Et Environnementale, 66 (3), 948-955.
- Picot, A., Hourcade-Marcolla, D., Barreau, C., Pinson-Gadais, L., Caron, D., Richard-Forget, F. & Lannou, C. (2012). Interactions Between Fusarium Verticillioides And Fusarium Graminearum In Maize Ears And Consequences For Fungal Development And Mycotoxin Accumulation. Plant Pathology 61, 140-151.
- Pilkington, L.J., Messelink, G., Van Lenteren, J.C. & Le Mottee, K. (2010). Contrôle Biologique Protégé »- Lutte Biologique Contre Les Ravageurs Dans L'industrie Des Serres. Biol. Contrôler. 52, 216-220. Doi: 10.1002 /Ps.5270.
- Polese, J. M. (2007). La Culture Des Tomates. Editions Artemis.
- Prihatna, C., Barbetti, MJ Et Barker, SJ (2018). Un Nouveau Gène De Tolérance A La Fusariose De La Tomate. Frontières En Microbiologie, 9, 1226.

- Rana, A., Sahgal, M. Et Johri, BN (2017). *Fusarium Oxysporum : Génomique, Diversité Et Interaction Plante-Hôte*. Dans *Développements En Biologie Fongique Et Mycologie Appliquée* (Pp. 159-199). Springer, Singapour.
- Recorbet, G., Steinberg, C., Olivain, C., Edel, V., Trouvelot, S., Dumas-Gaudot, E., ... & Alabouvette, C. (2003). Recherche : Molécules Marqueurs Liées A La Pathogénèse De *Fusarium Oxysporum*. *Nouveau Phytologue* , 159 (1),73-92.
- Regragui, A. (2005). Contribution A L'étude De L'effet De La Salinité Sur Le Couple Tomate-Verticillium: Conséquences Physiologiques Et Impact Sur La Bioprotection Des Tomates Contre La Verticilliose.
- Reis, A., Costa, H., Boiteux, LS Et Lopes, CA (2005). Premier Signalement De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* Race 3 Sur Tomate Au Brésil. *Fitopatologia Brasileira* , 30 , 426-428.
- Renaud, V. (2006). *Les Tomates Qui Ont Du Gout*. Paris. Éditions Eugen Ulmer. P95.
- Rep, M., & Kistler, HC (2010). L'organisation Génomique De La Pathogénicité Des Plantes Chez Les Espèces De *Fusarium*. *Opinion Actuelle En Biologie Végétale* , 13 (4),420-426.
- Rey, Y., & Costes, C. (1965). *La Physiologie De La Tomate: Etude Bibliographique*, Par Yvette Rey Et C. Costes... Institut National De La Recherche Agronomique.
- Roncero, MI, Di Pietro, A., Ruiz-Roldán, MC, Huertas-González, MD, Garcia-Maceira, FI, Méglecz, E., ... & Páez, MJ (2000). Rôle Des Enzymes Dégradant La Paroi Cellulaire Dans La Pathogénicité De *Fusarium Oxysporum*. *Revista Iberoamericana De Micologia* , 17 (1), S47-53.
- Roncero, MIG, Hera, C., Ruiz-Rubio, M., Maceira, FIG, Madrid, MP, Caracuel, Z., ... & Di Pietro, A. (2003). *Fusarium* Comme Modèle D'étude De La Virulence Des Phytopathogènes Du Sol. *Pathologie Physiologique Et Moléculaire Des Plantes* , 62 (2),87-98.
- Rosas-García, NM (2009). Production De Biopesticides A Partir De *Bacillus Thuringiensis* : Une Alternative Respectueuse De L'environnement. *Brevets Récents En Biotechnologie*, 3 (1),28-36.
- Rowe, RC (1980). Pathogénicité Comparative Et Gammes D'hôtes Des Isolats De *Fusarium Oxysporum* Causant La Pourriture Du Collet Et Des Racines Des Tomates De Serre Et De Plein Champ En Amérique Du Nord Et Au Japon. *Phytopathologie* , 70 (12),1143-1148.
- Ruiz-Roldán, MC, Di Pietro, A., Huertas-González, MD, & Roncero, MIG (1999). Deux Gènes De Xylanase Du Pathogène De La Flétrissure Vasculaire *Fusarium Oxysporum* Sont Exprimés De Manière Différentielle Au Cours De L'infection Des Plants De Tomates. *Génétique Moléculaire Et Générale MGG* , 261 (3),530-536.



- Ryu,CM,Farag, MA, Hu,CH,Reddy,MS,Kloepper,JW, &Paré,PW(2004).Les Volatiles Bactériens Induisent Une Résistance Systémique Chez Arabidopsis. *Physiologie Végétale* , 134 (3),1017-1026.
- Sant, D., Casanova, E., Segarra, G., Avilés, M., Reis, M., & Trillas, MI (2010). Effet De La Souche T34 De *Trichoderma Asperellum* Sur La Flétrissure Fusarienne Et L'utilisation De L'eau Dans L'œillet Cultivé Sur Un Milieu De Croissance A Base De Compost. *Contrôle Biologique* , 53 (3),291-296.
- Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N., & Samiyappan, R. (2007). PGPR-Induced Defense Responses In The Tea Plant Against Blister Blight Disease. *Crop Protection*, 26(4), 556-565.
- Sasaki, K., Nakahara, K., Tanaka, S., Shigyo, M., & Ito, SI (2015). Variabilité Génétique Et Pathogène De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. Cepae Isolé De L'oignon Et De L'oignon Gallois Au Japon. *Phytopathologie* , 105 (4),525-532.
- Scheffknecht,S.,Mammerler,R.,Steinkellner,S.,&Vierheilig,H.(2006).RootExudatesOf Mycorrhizal Tomato Plants Exhibit A Different Effect On Microconidia Germination Of *FusariumOxysporum*F.Sp.*Lycopersici*ThanRootExudatesFromNon-MycorrhizalTomato Plants. *Mycorrhiza*, 16(5),365-370.
- Schmidt, SM, Houterman, PM, Schreiver, I., Ma, L., Amyotte, S., Chellappan, B., ... &Rep, M. (2013). Les MITE Dans Les Promoteurs Des Gènes Effecteurs Permettent De Prédire De Nouveaux Gènes De Virulence Chez *Fusarium Oxysporum*. *Génomique BMC* , 14 (1), 1-21.
- Schmidt, SM, Lukasiewicz, J., Farrer, R., Van Dam, P., Bertoldo, C., & Rep, M. (2016). Génomique Comparative De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Melonis* Révèle La Protéine Sécrétée Reconnue Par Le Gène De Résistance Fom-2 Dans Le Melon. *NouveauPhytologue* , 209 (1), 307-318.
- Schroth, M. N., & Hancock, J. G. (1981). Selected Topics In Biological Control. *Annualreviews In Microbiology*, 35(1),453-476.
- Schulz, B., & Boyle, C. (2005). Le Continuum Endophytique. *Recherches Mycologiques* , 109 (6),661-686.
- Segorbe, D., Di Pietro, A., Pérez-Nadales, E., & Turrà, D. (2017). Trois Protéines Kinases Activées Par Les Mitogènes (MAPK) De *Fusarium Oxysporum* Ont Des Rôles Distincts Et Complémentaires Dans L'adaptation Au Stress Et La Pathogénicité Entre Les Royaumes. *Pathologie Moléculaire Des Plantes* , 18 (7),912-924.

- Selim, ME, & El-Gammal, NA (2015). Rôle De La Mycotoxine De L'acide Fusarique Dans Le Processus Pathogène Du Flétrissement De La Tomate Causé Par *Fusarium Oxysporum*. *Journal Of Bioprocessing & Biotechniques* , 5 (10),1.
- Shahi Et Al.,(2016). Dynamique Nucléaire Et Réarrangement Génétique Dans Les Colonies Hétérocaryotes De *Fusarium Oxysporum*. *Fungal Gen. Biol.*, 91(2016),Pp.20-31.
- Shankara, N., Van Lidt De Jeude, J., De Goffau, M., Hilmi, M., Van Dam, B. Et Florijin, A. (2005). *La Culture De La Tomate : Production, Transformation Et Commercialisation*. 5ème (Ed). *Foundationagromisa Et CTA,Wageningen*.
- Sharoni, Y., & Levi, Y. (2006). Cancer Prevention By Dietarytomatolycopene And Itsmolecularmechanisms. *Tomatoes, Lycopene&Humanhealth*,111-125.
- Siddiqui,Z.A.(2006).ProspectiveBiocontrolAgentsOfPlantPathogens.PGPR:Biocontrol And Biofertilization. Strainisolatedfromsunflowerroots. *Appl. Environ. Microbiol*, 66, 3393- 8.
- Singh, AK Et Kamal, S. (2012). Lutte Chimique Contre Le Flétrissement De La Tomate (*Lycopersicon Esculentum L.*). *Journal International D' Horticulture* , 2.
- Siou, D. (2013). Développement Epidémique De La Fusariose Des Epis De Blé Et ConséquencesDesInteractionsEntreEspècesDuComplexeFusarien(DoctoralDissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- Sood, AK Et Kumar, P. (2002). Gestion Du Flétrissement Bactérien De La Tomate Avec VAM Et Antagonistes Bactériens (N°RESEARCH).
- StallR.E.(1961).DevelopmentOfFusariumWilt.OnResistantVarietiesOfTomatoCaused ByAStrainDifferentFromRace1IsolatesOfFusariumOxysporumF.Sp.Lycopersici.*Plant Dis. Rep.*45:12-15.
- Steinkellner,S.,Mammerler,R.EtVierheilig,H.(2005).GerminationDesMicroconidiesDu Pathogène De La Tomate *Fusarium Oxysporum* En Présence D'exsudats Racinaires. *Journal Des Interactions Avec Les Plantes* , 1 (1),23-30.
- Stewart,M.(1988).TraitementD'imagesParOrdinateurDeMicrographiesElectroniquesDe Structures Biologiques A Symétrie Hélicoïdale. *Journal De La Technique De Microscopie Electronique* , 9 (4),325-358.
- Stravato, VM, Buonauro, R., & Cappelli, C. (1999). Premier Signalement De *Fusarium OxysporumF.Sp.Lycopersici*Course2SurTomateEnItalie.*MaladieDesPlantes*,83(10), 967-967.

- Strom Et Bushley,(2016). Deux Génomes Valent Mieux Qu'un : Histoire, Génétique Et 483 Applications Biotechnologiques Des Hétérocaruons Fongiques. *Fungal Biol. Biotechnol.*,(2016),P.4.
- Sturz, AV, & Christie, BR (2003). Allélopathies Microbiennes Bénéfiques Dans La Zone Racinaire : La Gestion De La Qualité Du Sol Et Des Maladies Des Plantes Avec Les Rhizobactéries. *Recherche Sur Les Sols Et Le Travail Du Sol* , 72 (2),107-123.
- Sun, SK Et Huang, JW (1985). Amendement De Sol Formulé Pour Lutter Contre La Flétrissure Fusarienne Et D'autres Maladies Transmises Par Le Sol. *Maladie Des Plantes* , 69 (11),917-920.
- Taghdi,Y.,Hermosa,R.,Dominguez,S.,Rubio,MB,Essalmani,H.,Nicolas,C.,&Monte, E.(2015).EfficacitéDesCompostsEtDesSouchesDeTrichodermaPourLeContrôleDeLa Fusariose De La Tomate. *Phytopathologia Mediterranea* ,232-240.
- Takahashi, H., Shimizu, A., Arie, T., Rosmalawati, S., Fukushima, S., Kikuchi, M., ... & Watanabe, Y. (2005). Catalogue Des Réponses De La Tomate Micro-Tom Aux Agents Pathogènes Fongiques, Bactériens Et Viraux Courants. *Journal De Pathologie Végétale Générale* , 71 (1),8-22.
- Thakore, Y. (2006). The Biopesticide Market For Global Agricultural Use. *Industrial Biotechnology*, 2(3),194-208.
- Thakore, Y. (2006). The Biopesticidemarket For Global Agricultural Use. *Industrialbiotechnology*, 2(3),194-208.
- Toua D, Benchabane M, Bensaid F And Bakour R (2013) Evaluation Of Pseudomonas Fluorescens For The Biocontrol Of Fusarium Wilt In Tomato And Flax. *African Journal Of Microbiology Research* 7 (48):5449-5458.
- Toufouti, Z. H. (2013). Contribution A L'étude Des Maladies Bactériennes De La Tomate (*Lycopersiconesculentum* Mill) Cultivée En Serres Dans l'EstAlgérien.
- Valenzuela-Ureta, JG, Lawn, DA, Heisey, RF Et Zamudio-Guzman, V. (1996). Premier SignalementDeFusariumWiltRace3,CauséeParFusariumOxysporumF.Sp.Lycopersici, De La Tomate Au Mexique. *Maladie Des Plantes* , 80 (1),105.
- Van Dam Et Al., (2016).Les Profils Effecteurs Distinguent Les Formes Spéciales De Fusarium Oxysporum.*Environ Microbiol.*, 18(2016), Pp.4087-4102.
- VanDerDoes,H.C.,Constantin,M.E.,Houterman,P.M.,Takken,F.L.W.,Cornelissen, B. J. C., Haring, M. A., ... & Rep, M. (2019). Fusarium Oxysporum Colonizes The Stem Of ResistantTomatoPlants,TheExtentVaryingWithTheR-GenePresent.*EuropeanJournalOf Plant Pathology*, 154(1),55-65.

- Van Loon, LC, & Bakker, PAHM (2005). Résistance Systémique Induite En Tant Que Mécanisme De Suppression De La Maladie Par Les Rhizobactéries. Dans PGPR: Biocontrôle Et Biofertilisation (Pp. 39-66). Springer, Dordrecht.
- Van Loon, LC, Bakker, PAHM Et Pieterse, CMJ (1998). Résistance Systémique Induite Par Les Bactéries De La Rhizosphère. *Revue Annuelle De Phytopathologie* , 36 (1), 453-483.
- Van Peer, R, And Schippers, B. D. 1995. Induced Resistance And Phytoalexin Accumulation In Biological Control Of Fusarium Wilt Of Camellia By Pseudomonas Sp Strain WCS 417r. *Phytopathology* 81, 728-734
- Vargas, L. K., Lisboa, B. B., Schlindwein, G., Granada, C. E., Giongo, A., Beneduzi, A., & Passaglia, L. M. P. (2009). Occurrence Of Plant Growth-Promoting Traits In Clover-Nodulating Rhizobial Strains Isolated From Different Soils In Rio Grande Do Sul State. *Revista Brasileira De Ciência Do Solo*, 33, 1227-1235.
- Vesey, JK (2003). La Croissance Des Plantes Favorisant Les Rhizobactéries Comme Biofertilisants. *Plante Et Sol* , 255 (2), 571-586.
- Volin, RB Et Jones, JP (1982). Une Nouvelle Race De Fusariose De La Tomate En Floride Et Sources De Résistance. Dans *Actes De La Florida State Horticultural Society* (Vol. 95, Pp. 268-269).
- Wang, C. J., Yang, W., Wang, C., Gu, C., Niu, D. D., Liu, H. X., ... & Guo, J. H. (2012). Induction Of Drought Tolerance In Cucumber Plants By A Consortium Of Three Plant Growth-Promoting Rhizobacterium Strains. *Plos One*, 7(12), E52565.
- Wang, H., & Ng, TB (1999). Activités Pharmacologiques De L'acide Fusarique (Acide 5-Butylpicolinique). *Sciences De La Vie* , 65 (9), 849-856.
- Weller, DM (1988). Contrôle Biologique Des Phytopathogènes Du Sol Dans La Rhizosphère Avec Des Bactéries. *Revue Annuelle De Phytopathologie* , 26 (1), 379-407.
- Whipps, J. M. (2001). Microbial Interactions And Biocontrol In The Rhizosphere. *Journal Of Experimental Botany*, 52(Suppl\_1), 487-511.
- Zahir, ZA, & Arshad, M. (2004). PERSPECTIVES EN AGRICULTURE. *Avancées Agronomiques* , 81 , 97.
- Zhao, X., Mehrabi, R., & Xu, JR (2007). Voies De La Protéine Kinase Activées Par Les Mitogènes Et Pathogènes Fongiques. *Cellule Eucaryote* , 6 (10), 1701-1714

**Annexe**

## Annexe

### **Milieu King B :**

pH 7,2

Agar purifié 12,0

Peptone bactériologique 20,0

Glycérol 10,0

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (anhydre) 1,5

MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O 1,5

### **Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) :**

pH 7

Saccharose 20,0

Agar 15,0

Pommes de terre 200