

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

Université de Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)
Département des Biotechnologies



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master II
en science de la nature et de la vie

Option : Biologie des Interactions Plantes-Microorganismes (BIPM)

Application des rhizobactéries (*Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* sp.) dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire du pois.

Présenté par : BAZEMLAL Amine

Soutenu devant le jury :

M ^{me} AMMAD F.	M.C.B	USDB 1	Présidente de jury
M ^{me} AIT SAADI N.	M.A.A	USDB 1	Examinatrice
Mr. BENCHABANE M.	Professeur	USDB 1	Promoteur
M ^{lle} YALA A.	Doctorante	USDB 1	Co Promotrice

2016/2017

“Le rêve commence avec un professeur qui croit en vous, qui tire, pousse, vous mène jusqu'au niveau suivant et qui parfois vous pique avec un bâton pointu appelé « vérité »”

Dan Rather

Remerciements

Au terme de ce mémoire, je remercie en premier lieu Le Bon Dieu le tout Puissant de m'avoir illuminé et ouvert les portes du savoir et m'avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce modeste travail.

Je veux adresser tous mes remerciements aux personnes qui, d'une façon ou d'une autre, m'ont aidé durant la réalisation de mon mémoire

Je tiens à exprimer, en premier lieu, mes plus vifs remerciements au Pr. Benchabane M., directeur du laboratoire de Phytomycologie, qui a toujours été attentif et compréhensif. Je tiens à vous remercier pour votre engagement et vos enseignements, ainsi que votre soutien tout au long de ces années de formation.

Je remercie également ma promotrice, M^{lle} Yala A. d'avoir été si patiente avec moi, et de me soutenir lors de ce travail. J'ai grandement apprécié votre soutien, votre aide et le temps que vous m'avez consacré.

Je remercie très chaleureusement les membres de jury : le Professeur Benchabane M. d'avoir accepté de juger et d'évaluer ce travail de thèse, et à M^{me} Ammad F. et M^{me} Ait Saadi N. d'avoir accepté d'examiner cette thèse.

Ma gratitude ira également à M^{me} Foudil D., ingénieure de laboratoire de Phytomycologie, je la remercie pour sa disponibilité, ses encouragements, ses conseils et surtout sa gentillesse tout au long de ce travail.

Sans oublier bien sûr M. Bouarar W., ingénieur de laboratoire de Phytovirologie, pour son aide et sa disponibilité. Je tiens à remercier aussi M^{me} Benzahra S. de m'avoir accueilli au sein du laboratoire des cultures maraichères. Je remercie M^{lle} Mekhaldi D. pour sa présence et sa disponibilité.

Je remercie grandement mes enseignants, qui ont enrichi nos connaissances et de nous avoir guidé durant toute ces années, en particulier Pr. Belkahla H., Pr. Krimi Z., M^{me} Toua D., M^{me} Ammad F. et bien sûr notre Professeur Benchabane M. Je voudrais que vous sachiez que vos étudiants garderont toute leur vie un très bon souvenir de ces années d'études.

Je n'oublierai pas non plus tous mes collègues au laboratoire, dont je cite : Boukerchaoui S., Kara L., Izri H., Souaber M., ainsi que tous mes collègues de la promotion BIPM 2016/2017.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à ceux et celles qui m'ont supporté, encouragé ou contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

À MES CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes chers et adorable frère et sœur Mohamed et Sana, que j'aime profondément.

À toute ma grande famille.

À mes amis de toujours : Mohamed, Amine, Aflah, Omar, Redouane, Rostom et Mohamed.

Amine

Résumé

Application des rhizobactéries (*Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* sp.) dans le biocontrôle de la fusariose vasculaire du pois.

La fusariose vasculaire causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi* est une maladie redoutable, qui provoque des dégâts importants sur la culture du pois. Les rhizobactéries ont montré leur efficacité à stimuler la croissance des plantes, et à réduire les effets néfastes des agents phytopathogènes.

Notre travail a pour objectif de mettre en évidence les potentialités antagonistes *in situ* de trois souches rhizobactériennes (*Pseudomonas fluorescens* F21, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, le mutant de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*) vis-à-vis de deux races de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi* (*Fop* R1 et *Fop* R2F42) en interaction avec cinq géotypes de pois (JI1412, Polar, P615, Kelvedon Wonder Peas et P21).

Les essais d'application *in situ*, réalisés sous serre en verre, ont mis en évidence que les trois souches bactériennes, ont montré une activité antagoniste vis-à-vis des deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi* (*Fop* R1 et *Fop* R2F42), en interaction avec les géotypes étudiés, tout en stimulant leur croissance. Cette action de biocontrôle est détectable durant les 35 jours de suivi du développement de la maladie, par le calcul de son taux d'infection, sa sévérité, ainsi que les pois frais et les pois secs des parties aériennes et souterraines.

En comparant les résultats du taux d'infection et de la sévérité de maladie, nous constatons qu'il existe une correspondance entre ces deux paramètres. Et la souche antagoniste qui a donné les meilleurs résultats est la souche *Pseudomonas fluorescens* F21, suivi par la souche mutante de *R. leguminosarum* bv. *viceae*.

Mots clés : antagonisme, PGPR, *Rhizobia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pisum sativum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*

Abstract

Application of rhizobacteria (*Pseudomonas fluorescens* et *Rhizobium* sp.) in the biocontrol of fusarium wilt of pea

Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* is a disease that causes significant damage to the pea crop. Rhizobacteria have shown their efficiency in stimulating plant growth and in reducing the adverse effects of phytopathogenic agents.

Our aim is to demonstrate *in situ* the antagonistic potential of three rhizobacterial strains (*Pseudomonas fluorescens* F21, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, the mutant *Rhizobium leguminosarum* bv. *viveae*) against two races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (*Fop* R1 and *Fop* R2F42) interacting with five pea genotypes (JI1412, Polar, P615, Kelvedon Wonder Peas and P21).

The *in situ* application tests carried out under greenhouse made it clear that the three bacterial strains showed an antagonistic activity against the two strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (*Fop* R1 and *Fop* R2F42), in interaction with the genotypes studied, while stimulating their growth. This biocontrol effect is detectable during the 35 days after the development of the disease, by calculating its infection rate, its severity, as well as the fresh and the dry weight of the aerial and underground parts.

By comparing the results of infection rate and disease severity, we find that there is a correspondence between these two parameters. The antagonist strain which gave best results is strain *Pseudomonas fluorescens* F21, followed by the mutant strain of *R. leguminosarum* bv. *viciae*.

Key words: antagonism, PGPR, *Rhizobia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pisum sativum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*

ملخص

استعمال البكتيريا النافعة (*Rhizobium* sp. و *Pseudomonas fluorescens*) في الحماية البيولوجية ضدّ مرض *Fusariose vasculaire* عند البازلاء

مرض *Fusariose vasculaire* المسبّب من طرف *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* هو مرض خطير ينجم عنه تلف محصول نبات البازلاء. هذا وقد برهنت البكتيريا الجذريّة فعاليتها في تحفيز نمو النباتات وخفض الأضرار الناتجة عن الميكروبات المسبّبة لأمراض النبات. عملنا هذا يهدف إلى إبراز القدرات الدفاعية لثلاث سلالات بكتيرية نافعة (*Pseudomonas fluorescens* F21, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*,) (mutant de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* JI1412, Polar,) ضد سلالتين من *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* بالتفاعل مع خمسة أنماط وراثية للbazلاء (P615, Kelvedon Wonder Peas, P21).

برهنت التجارب التي أجريت في ظروف شبه مراقبة (بيت بلاستيكي) أنّ السلالات البكتيرية الثلاث قد أبدت مفعول إيجابي ضدّ السلالتان المرضيتان *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (Fop R1 et Fop R2F42)، وهذا على الأنماط الخمسة لنبات البازلاء، مع قدرتها على تحفيز نموها. كما يمكن ملاحظة هذا التأثير الإيجابي خلال 35 يوما من مراقبة تطوّر المرض، وهذا من خلال حساب نسبة الإصابة وحدّة المرض، وكذلك عن طريق قياس الوزن الطازج والجاف للجزء العلوي والسفلي للنبات.

بمقارنة النتائج المتحصّل عليها من حساب نسبة الإصابة وحدّة المرض، نلاحظ أنّ هناك توافق ما بينهما، مع العلم أنّ السلالة التي أعطت أفضل النتائج هي *Pseudomonas fluorescens* F21، تليها السلالة mutant de *R. leguminosarum* bv. *viciae*.

كلمات مفتاحيّة: التضاد البيولوجي، *PGPR*, *Rhizobia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pisum*, *sativum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*.

Liste des abréviations

% : pourcent	LPS : lipopolysaccharides
°C : celsius	min : minute
µm : micromètre	mm : millimètre
ADP : adénosine diphosphat	mut <i>Rlv</i> : mutant de <i>Rhizobium</i> <i>leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i>
AIA : Acide Indole 3-Acétique	N ₂ : azote atmosphérique
ANOVA : analyse de la variance	NH ₃ : ammoniac
ATP : adénosine triphosphat	nm : nanomètre
bv. : biovare	NPR : Nodulating promoting rhizobacteria
CFU : colonies forming unities	PDA : potatos dextros agar
cm : centimetre	<i>Pf</i> : <i>Pseudomonas fluorescens</i>
CWDE : Cellular wall degradation enzymes	PG : polygalacturonases
DAPG : 2-4 diacétylphloroglucinol	PGPR : Plant growth promoting rhizobacteria
DO : densité optique	Ph : potentiel hydrogène
EDS : eau distillée stérile	PL : pectate lyases
EPR : Emergence promoting rhizobacteria	<i>Rlv</i> : <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i>
et <i>al.</i> : et autre	rpm : tour par minute
ex : exemple	S. : sévérité de la maladie
f. sp. : forme special	SAR : Systemic acquired resistance
F. : feuilles	Sp. : espèce
Fe : fer	Spp. : espèces
FN : facteur Nod	Ssp. : sous-espèce
Fop : <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	T.I.% : taux d'infection
g : gramme	YMA : yeast mannitol agar
h : heure	
HCN : acide cyanhydrique	
ISR : Induced systemic resistance	
KB : King B	
K.W.P. : Kelvedon Wonder Peas	

Liste des figures

Figure 1 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries	5
Figure 2 : Photo microscopique de <i>P. fluorescens</i>	6
Figure 3 : Exemple de structure d'une pyoverdine	11
Figure 4 : Structure de 2-4 diacétylphloroglucinol.....	12
Figure 5 : <i>Rhizobium trifolii</i>	14
Figure 6 : Nodules de <i>Rhizobium leguminosarum</i> sur les racines du pois	15
Figure 7 : Structure de la nitrogénase.....	16
Figure 8 : Arbre phylogénétique de l'ADNr 16S α -, β et γ -protéobactéries.	18
Figure 9 : Structure chimique du Flavonoïde	19
Figure 10 : Structure du facteur Nod.....	19
Figure 11 : Infection intracellulaire chez les Légumineuses	20
Figure 12 : Planche colorée de <i>Pisum sativum</i>	23
Figure 13 : Vue microscopique de <i>F. oxysporum</i>	28
Figure 14 : Symptômes de la fusariose vasculaire chez le pois (<i>Pisum Sativum</i>).....	30
Figure 15 : Jaunissement unilatéral des feuilles.....	31
Figure 16 : Cycle biologique de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	33
Figure 17 : Les deux races de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lisi</i>	36
Figure 18 : Les trois souches bactériennes <i>Rlv</i> , mutant <i>Rlv</i> et <i>Pf</i> F21.	37
Figure 19 : Désinfection des semences avec l'hypochlorite de sodium (1%).....	38
Figure 20 : Germination des graines dans un pot de Perlite 7 jours après le semi.....	38
Figure 21 : Stade de trois nœuds	39
Figure 22 : Lit de tourbe dans un pot de perlite lors de l'inoculation bactérienne.....	39
Figure 23 : Inoculation fongique (immersion des racines du pois dans la suspension fongique).	40
Figure 24 : Dispositif expérimental.....	40
Figure 25 : Echelle de l'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de pois .	41
Figure 26 : Exemple de l'expression symptomatologique chez le génotype JI1412	44
Figure 27 : Exemple de l'expression symptomatologique chez le génotype Polar.....	46
Figure 28 : Expression symptomatologique chez le génotype P615	46
Figure 29 : Expression symptomatologique chez le génotype Kelvedon Wonder Peas	48
Figure 30 : Expression symptomatologique chez le génotype P21.....	49
Figure 31 : Coupes longitudinales au niveau du collet du génotype Polar	51

Liste des tableaux

Tableau 1 : Exemples d'associations entre rhizobia et légumineuses.....	18
Tableau 2 : Génotypes de pois utilisés.....	36
Tableau 3 : Souches bactériennes utilisées.	37
Tableau 4 : Les traitements étudiés.....	41
Tableau 5 : Taux d'infection(%) chez le génotype JI1412.....	45
Tableau 6 : Taux d'infection(%) chez le génotype Polar.	45
Tableau 7 : Taux d'infection(%) chez le génotype P615.....	47
Tableau 8 : Taux d'infection(%) chez le génotype Kelvedon Wonder Peas.	47
Tableau 9 : Taux d'infection(%) chez le génotype P21.....	50
Tableau 10 : Sévérité de la maladie chez les génotypes non bactérisés.....	52
Tableau 11 : Sévérité de la maladie chez les génotypes bactérisés en interaction avec <i>Fop</i> R1.	52
Tableau 12 : Sévérité de la maladie chez les génotypes bactérisés en interaction avec la souche <i>Fop</i> R2F42.	53
Tableau 13 : Poids frais et poids secs (g) des parties aériennes et souterraines des témoins saints et bactérisés pour les génotypes JI1412, Polar, P615 et Kelvedon Wonder Peas.	54
Tableau 14 : Poids frais et poids secs (g) des parties aériennes et souterraines des témoins malades et traités pour les génotype JI1412, Polar et P615.....	54

Table des matières

Remerciements	3
Dédicaces	4
Résumé	5
Abstract	6
ملخص.....	7
Liste des abréviations	8
Liste des Figures.....	9
Liste des tableaux	10
Table des matières	11
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
3	3
1. RHIZOBACTERIES	4
1.1. Rhizobacteries non symbiotiques : <i>Pseudomonas fluorescens</i>	6
1.1.1. Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> fluorescents	6
1.1.2. Présentation des effets bénéfiques	6
1.1.2.1. Stimulation de la croissance des plantes	7
1.1.2.2. Protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique.....	7
1.1.2.3. Stimulation de la germination.....	8
1.1.2.4. Stimulation des interactions entre la microflore symbiotique et la plante hôte .	8
1.1.3. Mécanismes responsables des effets bénéfiques	9
1.1.3.1. Modification des équilibres microbiens.....	9
1.1.3.2. Modification du métabolisme et de la physiologie de la plante	12
1.2. Rhizobactéries symbiotiques : <i>Rhizobium</i> sp.....	13
1.2.1. Généralité sur les <i>Rhizobium</i> :	13
1.2.2. Symbiose fixatrice d'azote	14
1.2.3. Symbiose légumineuses/ <i>Rhizobium</i>	17
1.2.3.1. Le nodule	18
1.2.4. <i>Rhizobium</i> et lutte biologique	20
1.2.4.1. Interaction <i>Rhizobium</i> /pathogène	21
1.2.4.2. Induction de l'immunité des plantes	22
2. Le pois	22
2.1. Généralité	22
2.2. Description botanique	22
2.3. Taxonomie	23
2.4. Facteurs limitant la production du pois.....	23
2.4.1. Contraintes abiotiques	23
2.4.2. Contraintes biotiques	24
2.4.2.1. Ravageurs.....	24
2.4.2.2. Maladies bactériennes et virales	24
2.4.2.3. Maladies fongiques	24

3.	Fusariose vasculaire	25
3.1.	Agent causal.....	25
3.1.1.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i>	25
3.1.2.	Taxonomie	26
3.1.3.	Caractéristiques	26
3.1.3.1.	Les Caractères physiologiques.....	26
3.1.3.2.	Les Caractéristiques morphologiques	26
3.1.4.	Reproduction	27
3.1.5.	Substances synthétisées par l'agent pathogène	28
3.1.6.	Races.....	29
3.2.	Symptômes.....	29
3.3.	Cycle	31
3.3.1.	Formation et germination des spores.....	31
3.3.2.	Infection.....	31
3.3.3.	La colonisation	32
3.3.4.	Développement de la maladie.....	33
3.4.	Lutte	33

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES 35

1.	Matériels Biologique	36
1.1.	Matériels végétal	36
1.2.	Isolats fongiques phytopathogènes	36
1.3.	Isolats bactériens phyto bénéfiques.....	36
2.	Activité antagoniste.....	37
2.1.	Désinfection des semences.....	37
2.2.	Préparation des inoculum	38
2.2.1.	Inoculum fongique.....	38
2.2.2.	Inoculum bactérienne	39
2.3.	Inoculation des plantes.....	39
2.4.	Dispositif expérimental	40
2.5.	Paramètres étudiés	41
2.6.	Analyse statistique	42

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION 43

1.	Taux d'infection	44
2.	Sévérité de la maladie	50
3.	Poids frais et poids sec	53
4.	Discussion	54

CONCLUSION	57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	58
ANNEXES	77

INTRODUCTION

L'agriculture moderne dépend fortement de l'utilisation des pesticides pour obtenir des rendements plus élevés. Cette dépendance est associée à des problèmes tels que la pollution de l'environnement, les dangers pour la santé, l'interruption du cycle naturel des nutriments écologiques et la destruction de communautés biologiques. Par conséquent, la production végétale et la lutte contre les maladies doivent être réalisées avec moins d'intrants nuisibles (Sivasakthi *et al.*, 2013).

Ces dernières années, la lutte biologique reçoit un intérêt particulier, grâce aux résultats prometteurs obtenus. Elle est considérée comme étant l'une des méthodes alternatives de la lutte chimique, son principe repose sur l'utilisation des microorganismes antagonistes, dont les plus étudiés sont les rhizobactéries (Guanpeng *et al.*, 2012).

Il s'agit de bactéries adaptées à un biotope particulier, la rhizosphère, qui est la partie du sol situé au voisinage immédiat des racines des plantes, et qui se caractérise par la présence d'exsudats racinaires (rhizo-dépôts). Les rhizobactéries sont en contact directe avec la plante, car elles colonisent la rhizosphère en utilisant les exsudats racinaires comme substrats nutritifs, lui conférant une dominance de ce site au détriment des autres microorganismes du sol, mais à la différence d'eux, elles ont en retour, un effet bénéfique sur la plante via une multitude de mécanismes d'action (Barriuso *et al.*, 2008 ; Vacheron *et al.*, 2017).

Ces rhizobactéries sont connues sous le nom de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Selon les différents mécanismes qu'elles impliquent, nous distinguons les PGPR phyto-stimulatrices, qui ont la capacité de produire des phytohormones, de fixer l'azote atmosphérique, de solubiliser le phosphate et cela stimule directement la croissance des plantes (Lugtenberg et Kamilova, 2009), et les PGPR protectrices, qui permettent de réduire l'effet des agents phytopathogènes (Lugtenberg *et al.*, 2001 ; Paul et Nair, 2008).

Selon leur relation avec la plante hôte, ces microorganismes sont classés en deux grandes catégories : les symbiotiques et les non symbiotiques (Khan et Zaidi, 2005).

Parmi les rhizobactéries non symbiotiques, nous avons les *Pseudomonas* spp. fluorescents, qui sont équipées de plusieurs mécanismes qui permettent la phyto-stimulation, la bioprotection et l'induction de la résistance chez les plantes. (Banasco *et al.*, 1998 ; Ali *et al.* 2009 ; Bano et Fatima, 2009).

Parmi les bactéries symbiotiques, nous avons les *Rhizobium* spp, connus pour leur relation symbiotique avec les légumineuses, et leur capacité à fixer

l'azote atmosphérique. Cette symbiose présente de grands intérêts agronomiques, économiques et écologiques (Parmar et Dadarwal, 1999).

L'étude des propriétés antagonistes des PGPR bioprotectrices a concerné principalement les interactions avec les agents fongiques phytopathogènes. Parmi ces agents les plus redoutables nous avons *Fusarium oxysporum*, agent de la fusariose vasculaire (Ryder et al., 1990).

Cette maladie tellurique a longtemps été la plus redoutée par les agriculteurs, car elle peut toucher plusieurs cultures. L'agent pathogène présente plusieurs formes spéciales qui peuvent causer d'énormes dégâts envers différentes cultures, parmi lesquels nous citons : la tomate, le palmier dattier, le lin, le coton et le pois (Mac Hardy et Beckman, 1981).

Fusarium oxysporum f. sp. *pisi* (*Fop*), est un agent pathogène destructeur, causant la fusariose vasculaire chez le pois (*Pisum sativum*). Il a été signalé dans tous les pays où le pois est cultivé (Kraft et Pflieger, 2001). Cette maladie représente l'une des maladies les plus destructrices, du fait qu'elle est sévère et cause des pertes économiques considérables (Kraft et al., 1998).

L'objectif de notre travail consiste à apporter un plus dans la lutte biologique, en mettant en évidence les potentialités antagonistes de trois souches rhizobactériennes (*Pseudomonas fluorescens* F21, *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* et le mutant de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viveae*), vis-à-vis de deux isolats fongiques de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (*Fop* R1 et *Fop* R2F42), en interaction avec cinq génotypes de pois (JI1412, Polar, P615, Kelvedon Wonder Peas et P21).

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. RHIZOBACTERIES

La rhizosphère est le lieu de multiples interactions entre microorganismes et racine, ces interactions étant bénéfiques, nuisibles, ou neutre pour la plante (Bais *et al.*, 2006). Certains microorganismes naturellement présents dans les sols sont bénéfiques pour la plante, ce qui améliore souvent la croissance végétale (Morgan *et al.*, 2005).

Ces microorganismes phyto-bénéfiques sont de deux types :

- A. Ceux qui établissent une relation de symbiose (association à bénéfices réciproques) véritable avec la plante.
- B. Ceux qui restent à l'état libre dans le sol, souvent proches ou sur les racines, et parfois localisées à l'intérieur des racines (endophytes) (Gray et Smith, 2005), et qui établissent une relation facultative à bénéfices réciproques appelée coopération ou association non symbiotique.

Les PGPR ou « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour ces effets nous les considérons comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale (Dey *et al.*, 2004 ; Herman *et al.*, 2008 ; Minorsky, 2008).

Ces PGPR peuvent avoir un impact positif sur les plantes de manière directe ou indirecte (Figure. 1). L'effet phyto-bénéfiques direct des bactéries PGPR peut correspondre à (i) une augmentation de la qualité de nutriments disponibles (fixation libre de l'azote, solubilisation du phosphate, etc.) (Dobbelaere *et al.*, 2003), (ii) une augmentation de la microstructuration du sol rhizosphérique qui retient alors mieux l'eau, (iii) une modification de l'équilibre hormonal de la plante (production de phytohormones, désamination du précurseur de l'éthylène, etc.) (Glick *et al.*, 1998 ; Dobbelaere *et al.*, 2003), et (iv) l'induction d'une réponse systémique chez la plante, de type ISR (Induced Systemic Resistance) ou plus rarement SAR (Systemic Acquired Resistance).

De nombreux travaux ont montré que ces rhizobactéries interviennent dans le biocontrôle de la plante par la diminution des effets délétères des phytopathogènes en synthétisant des antibiotiques spécifiques (Fischer *et al.*, 2009), en rentrant en compétition avec le pathogène pour l'espace et les nutriments (Haas et Defago 2005), et en chélatant le fer grâce à la production des sidérophores (Ongena *et al.* 2002) (Figure 1).

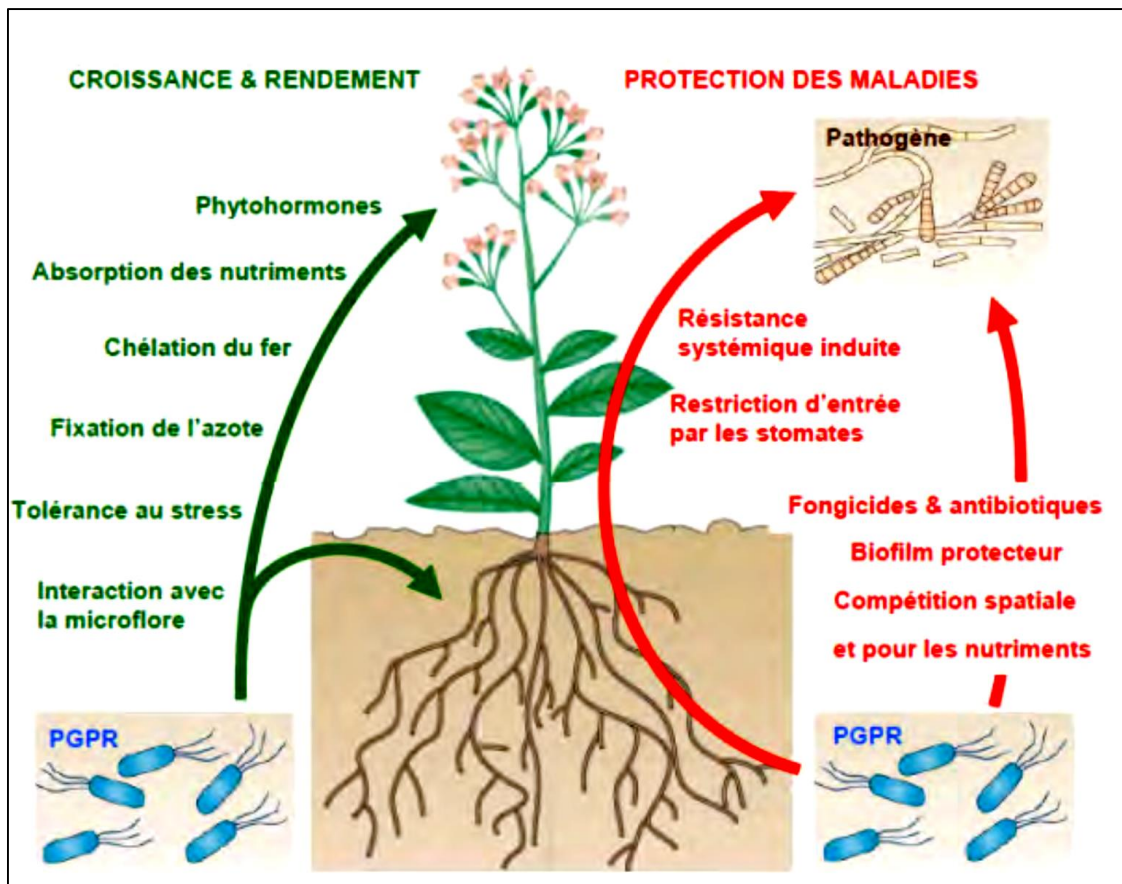


Figure 1 : Les mécanismes d'action des rhizobactéries (Ramos et al., 2009).

La colonisation des racines par les bactéries est observée depuis longtemps, mais son importance pour la croissance et le développement des plantes est devenu clair ces dernières décennies (Glick, 1995). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes. Ces dernières résultent de la synthèse de métabolites tels que les antibiotiques, sidérophores, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (Voisard et al., 1989 ; Van Peer et al., 1991). Cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante et de la fréquence des infections fongiques de la racine (Kloepper, 1993).

On peut diviser les rhizobactéries-selon leur relation avec la plante hôte-en deux groupes essentiels : les rhizobactéries non symbiotiques ; qui restent à l'extérieur des cellules végétale, appelées aussi PGPR extracellulaires (*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Azotobacter*...), et les rhizobactéries symbiotiques ; qui peuvent envahir l'intérieur des cellules végétale, les PGPR intracellulaires (tel que les *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*) (Vessey, 2003 ; Khan, 2005).

1.1. Rhizobactéries non symbiotiques : *Pseudomonas fluorescens*

Les bactéries non symbiotiques répondant à cette définition appartiennent à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Agrobacterium radiobacter*, *Azospirillum* spp, *Bacillus* spp, *Pseudomonas* spp fluorescents (Okon, 1985 ; Leong, 1986).

1.1.1. Généralités sur les *Pseudomonas* fluorescents

Le genre *Pseudomonas*, de la famille des Pseudomonadaceae, regroupe des bactéries mobiles aérobies Gram négatif, de 2 à 4 µm de longueur, en forme de bâtonnets renflés, avec des flagelles polaires qui jouent un rôle important dans la pathogénicité (Kayser et al., 2001 ; Willcox, 2007). Ces bactéries sont asporulées et peuvent produire des pigments, tels que la pyocyanine (vert-bleu) et la pyorubrine fluorescentes (jaune-vert) (Palumbo, 1972 ; Enoch et al., 2004 ; Willcox, 2007) (Figure 2).

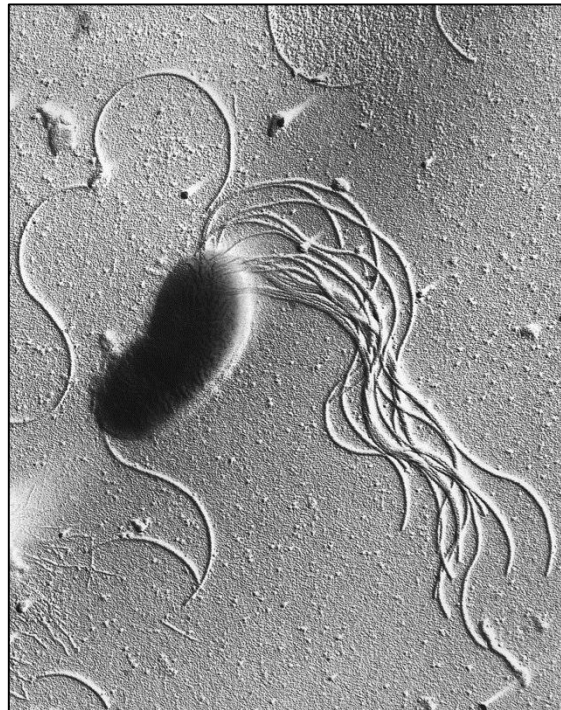


Figure 2 : Photo microscopique de *P. fluorescens*
(<http://cmr.asm.org/content/27/4/927/F7.large.jpg>)

De nombreuses bactéries appartenant à ce sous-groupe bactérien sont retrouvées au niveau de la zone de sol sous l'influence des racines de plantes (rhizosphère). Certaines souches appartenant à ce sous-groupe montrent même des effets bénéfiques pour la plante et sont alors qualifiées de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Loper et al., 2012).

1.1.2. Présentation des effets bénéfiques

Le but de la bactérisation est d'augmenter le rendement des cultures, seules certaines souches semblent présenter cette capacité (Weller, 1988). Elles ont été appelées PGPR par Kloepper et Schroth (1978).

L'augmentation de rendement d'une culture bactérisée résulte de deux effets bénéfiques principaux : la stimulation de croissance des plantes et la protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique (Lemanceau, 1992).

D'autres effets bénéfiques ont également été décrits : certaines souches de *Pseudomonas* stimulent la germination des graines, d'autres influencent positivement les interactions entre les microorganismes symbiotiques (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, champignons mycorhiziens) et la plante hôte (Lemanceau, 1992).

La diversité métabolique des *Pseudomonas* spp. fluorescents confère à ces bactéries une plasticité importante pour s'adapter à différents environnements (Misko et Germida, 2002), ce qui implique leur utilisation comme biofertilisants, phytostimulateurs et agent de lutte biologique (Misko et Germida, 2002).

1.1.2.1. Stimulation de la croissance des plantes

De nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après bactérisation. Il apparaît clairement que l'augmentation de rendement, observée en conditions normales de production, est toujours inférieure à l'augmentation de croissance des plantes cultivées en conditions contrôlées (culture en pots et en serre ou en chambre climatisée). Les *Pseudomonas* fluorescents sont capables de synthétiser différents métabolites secondaires, qui peuvent influencer positivement sur la croissance des plantes et sont impliqués également dans les relations de reconnaissances entre ces bactéries et les plantes (Sturz et Christie, 2003 ; Zahir et al., 2004).

1.1.2.2. Protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été étudiés depuis des décennies pour leurs effets bénéfiques sur la suppression efficace des maladies telluriques des plantes (Bakker et al., 2007). Ces rhizobactéries possèdent de nombreuses caractéristiques qui permettent leur utilisation dans la protection des cultures agricoles (Weller, 2007).

Les modèles biologiques utilisés exposent différentes souches de *Pseudomonas* et différentes maladies. Les problèmes pathologiques les plus étudiés sont : les fontes de semis, les fusarioses et les pourritures racinaires. Même si les travaux de lutte biologique sont très nombreux, il est regrettable de constater que seuls quelques-uns évaluent l'efficacité de cette lutte en termes d'augmentation de rendement (Leeman et al., 1991 ; Lemanceau et Alabouvette, 1991). La plupart des essais sont en effets réalisés en conditions contrôlées ou sont arrêtés avant la récolte.

Plusieurs souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont été signalées par leur effets antagoniste (Lepoivre, 2003 ; Kwak et al., 2011). L'antagonisme peut résulter d'un ou de plusieurs mécanismes en fonction de l'antagoniste impliqué (Whipps, 2001), en faisant intervenir divers métabolites, qui peuvent affecter les pathogènes par des réactions d'antibiose et/ou de compétition.

1.1.2.3. Stimulation de la germination

Une des composantes du rendement agronomique des grandes cultures est la densité du peuplement végétal. Or, cette densité est liée à la faculté et à l'énergie germinatives des semences. Certaines souches bactériennes, appartenant en particulier au groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents, semblent améliorer la germination des graines lorsque les conditions d'environnement sont défavorables. Ainsi Kloepper et *al.* (1986) ont montré que le taux de germination de graines de colza, semées dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation par certaines souches bactériennes. De même Hôte et *al.* (1991) ont enregistré une augmentation significative du taux de germination de semences de maïs soumises au froid après inoculation de deux souches de *Pseudomonas* fluorescents. L'une d'entre elles a, de plus, permis de maintenir le pourcentage de germination d'un lot de semences âgé de deux ans au même niveau que celui uniquement âgé d'un an. Ces souches sont appelées « Emergence Promoting Rhizobacteria (EPR) » (Kloepper et *al.*, 1986). Digat et *al.* (1990) ont montré que certaines souches de *Pseudomonas* peuvent stimuler significativement la germination de graines de tomate même lorsque les conditions d'environnement ne semblent pas favorables.

1.1.2.4. Stimulation des interactions entre la microflore symbiotique et la plante hôte

Certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents stimulent la nodulation des légumineuses. Ainsi, Grimes et Mount (1987) ont montré qu'une souche de *Pseudomonas putida* augmente de façon significative la nodulation du haricot par *Rhizobium*. De même, Polonenko et *al.* (1987) ont montré que certaines rhizobactéries pouvaient améliorer la nodulation du soja par *Bradyrhizobium*. Ces souches sont appelées « Nodulating Promoting Rhizobacteria (NPR) ».

Toutes ces souches stimulent la croissance racinaire, produisent de l'acide indole acétique et sont pectinolytiques. Elles provoquent une augmentation de la masse de nodosités plutôt que de leur nombre (Howell et Okon, 1987). De même, certaines souches de bactéries influencent positivement la colonisation racinaire de la plante hôte par des endomycorhizes ou par des ectomycorhizes (Alten et *al.*, 1991). Mamoun et Olivier (1992) ont montré que certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents améliorent la pérennité de l'association symbiotique entre l'ectomycorhize *Tuber melanosporum* et le noisetier. Par ailleurs, l'effet bénéfique, de l'inoculation mycorhizienne sur la plante, pourrait être stimulée par certaines rhizobactéries productrices de substances de croissance (Linderman et Paulitz, 1990) et par les rhizobactéries qui augmentent la solubilité des phosphates dans le sol (Raj et *al.*, 1981). Ainsi l'association d'endomycorhizes et de *Pseudomonas* fluorescents s'accompagne d'une plus grande stimulation de la croissance de la plante que la seule inoculation bactérienne ou fongique (Oliveira et *al.*, 1987).

1.1.3. Mécanismes responsables des effets bénéfiques

Afin d'améliorer l'efficacité de la bactérisation, il est nécessaire de comprendre les mécanismes responsables des effets bénéfiques. Deux types de mécanismes se dégagent de l'ensemble des travaux publiés : l'un concerne la modification des équilibres microbiens, l'autre la modification du métabolisme et de la physiologie de la plante (Weller, 1988).

1.1.3.1. Modification des équilibres microbiens

Kloepper et Schroth ont été les premiers à mettre en évidence l'effet bénéfique indirect d'une souche de *Pseudomonas* fluorescent sur la croissance des plantes (Kloepper et Schroth, 1981a).

À la suite de ces travaux, de nombreux auteurs ont montré que les effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp fluorescents sont associés à leur activité antagoniste à l'encontre de microorganismes qualifiés de pathogènes (Cook et al., 1987 ; Elad et al., 1987). Ces microorganismes, qui provoquent ou non des symptômes évidents, réduisent la croissance des plantes (Salt, 1979). La protection contre les microorganismes pathogènes par des *Pseudomonas* fluorescents antagonistes permet de soustraire la plante à leur activité néfaste. Selon l'efficacité de la protection biologique, la croissance des plantes bactérisées peut atteindre celle des plantes cultivées en absence de microorganismes pathogènes.

La relation entre cette protection et l'augmentation de croissance ou de rendement est très claire lorsque la plante est confrontée à des microorganismes qui déterminent des symptômes évidents et bien caractérisés (*Fusarium oxysporum* f. spp, *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*, *Thielaviopsis basicola*... etc). Ainsi la réduction de la gravité de la maladie s'accompagne d'une augmentation de rendement de la culture bactérisée (Lemanceau et Alabouvette, 1991).

Il apparaît donc clairement qu'un des mécanismes responsables des effets bénéfiques de certaines souches de *Pseudomonas* spp fluorescents repose sur l'activité antagoniste qu'ils exercent à l'encontre de microorganismes pathogènes. Parmi les modes d'action antagonistes de ces *Pseudomonas* fluorescents, la compétition et l'antibiose ont été particulièrement étudiées (Lemanceau, 1992).

a. Compétition

Les interactions microbiennes sont conditionnées par la nature et l'intensité de la compétition entre microorganismes (Alabouvette, 1983). Cette compétition peut s'instaurer pour l'espace et pour les nutriments. Les *Pseudomonas* fluorescents antagonistes participent à ces deux types de compétition.

Même si le rôle de la compétition pour l'espace ne peut être complètement exclu, l'essentiel des travaux relatifs à la compétition, instaurée par les *Pseudomonas* fluorescents, porte sur la compétition trophique et, en particulier, sur la compétition pour le fer, comme en attestent les différentes synthèses bibliographiques relatives à ce sujet (Neilands et Leong, 1986 ; Loper et Buyer,

1991). Le fer est en effet indispensable au métabolisme des microorganismes aérobies. Cette élément est peu soluble et donc peu disponible dans les sols cultivés. En effet, dans les sols normalement aérés, le fer est surtout oxydé (Fe^{+3}) (Lindsay et Schwab, 1981).

Pour acquérir cet élément indispensable mais peu soluble, les *Pseudomonas* fluorescents ont développé une stratégie d'acquisition de fer qui repose sur la synthèse de sidérophores et de protéines membranaires réceptrices (Neilands, 1973 ; Leong, 1986 ; Whipps, 2001). Cette synthèse n'a lieu qu'en situation de carence en fer (Weger et al., 1986). Les sidérophores sont des métabolites de faible poids moléculaire qui présentent une forte affinité pour le fer (Fe^{+3}) (Fallahzadeh-Mamaghani et al., 2009). La capacité des *Pseudomonas* spp. à produire les sédirophores est dépendante de la teneur en fer et le type de source de carbone dans le milieu (Djibaoui et Bensoltane, 2005).

La structure de sidérophores produits par différentes souches de *Pseudomonas* spp fluorescents a été décrite (Van der Hofstad et al., 1986). Ils sont constitués d'une petite chaîne peptidique d'acides aminés L et D en alternance, liée à un groupe chromophore fluorescent jaune-vert et à un groupe succinamide, qui une fois émis dans le milieu, ils chélatent le fer (Fe^{+3}). Ce complexe est reconnu de façon plus ou moins spécifique par des protéines membranaires réceptrices (Bitter et al., 1991), qui traverse la membrane cellulaire, puis intègre la cellule où il est réduit. Cette stratégie est plus ou moins efficace selon les microorganismes. Tous les sidérophores ne présentent pas en effet la même affinité pour le fer (Fe^{+3}).

Les *Pseudomonas* fluorescents produisent principalement des sidérophores appelés pyoverdine (Figure 3) (Ravel et Cornelis, 2003 ; Cornelis et al., 2008) ou pseudobactine, qui forment avec le fer (Fe^{+3}) un complexe appelé ferripyoverdine ou ferripseudobactine. Le fer chélaté par les pyoverdines ne peut pas donc être utilisé par certains champignons.

Les *Fusarium* spp produisent des sidérophores mais à une affinité moindre avec le fer (Fe^{+3}) (Lemanceau et al., 1986). De ce fait, les *Pseudomonas* fluorescents sont plus aptes à mobiliser le fer que les *Fusarium* (Lemanceau, 1988). La croissance de ces champignons en présence de *Pseudomonas* fluorescents ou de pyoverdine purifiée serait donc réduite du fait de la carence en fer (Bloemberg et Lugtenberg, 2001 ; Persello-Cartieaux et al., 2003 ; Suty, 2010). L'introduction de pyoverdine dans le sol détermine une diminution du taux de germination des chlamydospores de *Fusarium* (Elad et Baker, 1985) et de la gravité de la fusariose et du piétin.

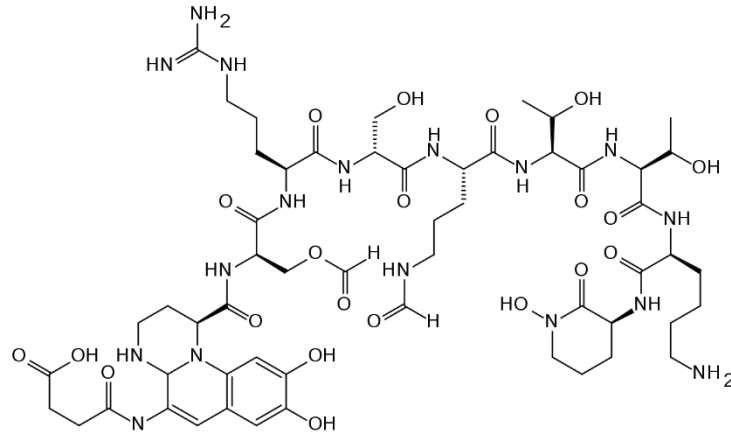


Figure 3 : Exemple de structure d'une pyoverdine
(<http://wiki.eanswers.com/en/Pyoverdine>)

L'activité antagoniste exercée par la pyoverdine est effectivement liée à la compétition pour le fer (Meyer *et al.*, 1987).

L'utilisation de mutants ayant perdu l'aptitude à synthétiser des sidérophores (Sid⁻) a permis de montrer que l'activité bénéfique de certaines souches de *Pseudomonas* fluorescents est bien due à la synthèse de pyoverdines (Loper, 1988).

La compétition pour le fer n'est cependant pas le seul mode d'action des *Pseudomonas*. Même lorsque la synthèse de sidérophores est réprimée à la suite de l'enrichissement en fer du milieu de culture, certaines souches de *Pseudomonas* fluorescents continuent à exercer leur activité antagoniste à l'encontre de divers microorganismes (Weller *et al.*, 1988). L'association entre l'enrichissement du milieu de culture en fer, la répression de la synthèse de sidérophores et la suppression de l'activité antagoniste de *Pseudomonas* spp fluorescents ne démontre pas nécessairement que la compétition pour le fer est le seul mode d'action antagoniste (Thomashow et Weller, 1990). En effet, la synthèse de certains antibiotiques, tout comme la synthèse de sidérophores, est régulée par la concentration en fer du milieu. Ceci a été démontré pour la souche de *Pseudomonas* fluorescent N2 130 antagoniste de *Pythium ultimum* (Gill et Warren, 1988) et pour la souche 2-79 antagoniste de *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* (Hamdan *et al.*, 1988).

b. Antibiose

Parmi les substances excrétées par les *Pseudomonas* pour inhiber la croissance des phytopathogènes, nous pouvons citer les antibiotiques (Jacques *et al.*, 1993). L'importance de l'antibiose dans les interactions microbiennes responsables de la protection biologique contre les maladies a fait l'objet d'une synthèse bibliographique.

L'antibiose exercée par certains *Pseudomonas* spp fluorescents a d'abord été mise en évidence *in vitro*. Lindberg (1981) a établi le spectre d'activité d'un antibiotique, la tropolone, synthétisé par une souche de *Pseudomonas*. Cet

antibiotique manifeste des propriétés antagonistes à l'encontre de différents champignons : *Alternaria*, *Cladosporium*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia*. Howell et Stipanovic (1980) ainsi que Fernando et *al.* (2005) ont caractérisé deux antibiotiques : la pyolutéorine et la pyrrolnitrine, synthétisés par la souche Pf5 de *Pseudomonas fluorescens*. Ils en concluent que la protection des plantes assurée par cette souche de *Pseudomonas* est liée à la synthèse de ces antibiotiques.

Ces métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne, la physiologie cellulaire et/ou la sporulation des agents phytopathogènes (Lepoivre, 2003)

L'utilisation de mutants dont les gènes responsables de la synthèse d'antibiotique ont subi une délétion, permet d'associer de façon plus directe la protection biologique à l'aptitude à produire l'antibiotique.

Enfin, des techniques de biologie moléculaire ont également permis de stimuler la production de 2-4 diacétylphloroglucinol (DAPG) par la souche CHAO (Figure 4), ou même d'induire la production d'acide cyanhydrique (HCN) (Voisard et *al.*, 1989), de phénazine, de 2-4 diacétylphloroglucinol et de pyolutéorine (Maurhofer et *al.*, 1991) dans différentes souches de *Pseudomonas*.

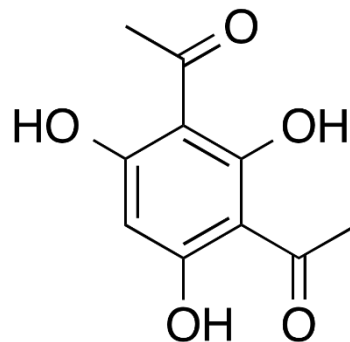


Figure 4 : Structure de 2-4 diacétylphloroglucinol.
(<http://www.wikiwand.com/en/2,4-Diacetylphloroglucinol>)

1.1.3.2. Modification du métabolisme et de la physiologie de la plante

Des publications traitant de l'alimentation minérale et de l'induction de résistance de la plante, attestent d'un regain d'intérêt en faveur des interactions directes entre la plante et les rhizobactéries.

a. Amélioration de l'alimentation minérale de la plante

L'amélioration de l'alimentation minérale de la plante en phosphore, a été la première hypothèse proposée pour expliquer l'effet bénéfique enregistré à la suite de la bactérisation de plantes. Les espèces, *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* et *Pseudomonas* spp fluorescents, augmenteraient la concentration en phosphore soluble soit par minéralisation des phosphates organiques, grâce à des phosphatases, soit par solubilisation des phosphates inorganiques, sous l'effet d'acides (Rosas et *al.*, 2006 ; Park et *al.*, 2009). Ces effets stimulent la croissance

et augmentent le rendement des cultures (Sturz et Christie, 2003 ; Zahir et *al.*, 2004).

b. Production microbienne de substances de croissance

La production de substances de croissance par les *Pseudomonas* fluorescents a été fréquemment mise en évidence *in vitro*. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant de l'Acide Indole 3-Acétique (AIA), qui constituent une hormone primordiale pour le développement des plantes (Khakipour et *al.*, 2008). De même, la production des cytokinines par les *Pseudomonas* a été signalée par plusieurs auteurs (Arkhipova et *al.*, 2005 ; Karadeniz et *al.*, 2006 ; Aslantas et *al.*, 2007). Ces substances peuvent être absorbées par les racines de la plante.

c. Induction de résistance de la plante

Des travaux portant sur des modèles d'étude différents ont mis en évidence la plus grande résistance naturelle des plantes bactérisées par certaines souches de *Pseudomonas*.

Ainsi, la souche bactérienne CHAO provoque une augmentation du chevelu racinaire et la résistance naturelle au *Thielaviopsis basicola* des plantes de tabac bactérisées (Voisard et *al.*, 1989). Ces auteurs associent ces deux effets bénéfiques à la synthèse bactérienne d'acide cyanhydrique (HCN).

Defago et *al.* (1990), suggèrent donc que la production de HCN par la souche CHAO, provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de son système racinaire et de sa résistance naturelle.

Pour Anderson et Guerra (1985), l'augmentation de la résistance des plantes du haricot au *Fusarium solani*, grâce à l'inoculation d'une souche de *Pseudomonas sputida* serait liée à leur plus grande teneur en lignine.

L'induction de résistance de l'œillet à la fusariose vasculaire par la souche de *Pseudomonas* WCS417r a été clairement établie par Van Peer et *al.* (1991). De plus, l'induction de résistance de plantes ainsi inoculées est associée à une augmentation de la synthèse de phytoalexines, comparées à celle des plantes témoins inoculées avec le *Fusarium* pathogène. L'induction de résistance des plantes bactérisées serait due aux lipopolysaccharides de la souche WCS417r.

1.2. Rhizobactéries symbiotiques : *Rhizobium* sp

Les rhizobactéries symbiotiques, aussi appelées PGPR intracellulaires, sont connues par leur faculté à pénétrer dans les cellules racinaires, et ce sont généralement spécialisées dans la nodulation, dont les plus étudiés *Rhizobium* sp. (Gray et Smith, 2005).

1.2.1. Généralité sur les *Rhizobium* :

Du grec rhiza (qui signifie racine) et bio (vie), *Rhizobium* signifie donc littéralement organisme vivant dans la racine. Ce sont des bactéries procaryotes, en forme de bâtonnets à l'état libre, non sporulantes, aérobies et chimiotrophes du

sol. Ce sont des organismes de petites tailles d'environ 0,5 à 0,9 μm de largeur et 1,2 à 3 μm de longueur. Les *Rhizobium* sont par ailleurs des bactéries gram négatives possédant soit un flagelle polaire ou 2 à 6 flagelles péritricheux pour leur déplacement (Figure 5) (Somasegaran et Hoben, 1994 ; Moulin et *al.*, 2001).



Figure 5 : *Rhizobium trifolii* (par Frank Dazzo, 1995).
(<https://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/zoo/zdrr0101.jpg>)

Les *Rhizobium* ont plusieurs propriétés bénéfiques pour la plante hôte. Des espèces tel que *R. leguminosarum*, *R. meliloti*, *M. mediterraneum*, *Bradyrhizobium* sp. et *B. japonicum* (Vessey, 2003 ; Afzal et Bano, 2008), ont le potentiel de solubiliser le phosphate. Ces bactéries synthétisent des acides organiques qui agissent sur le phosphore inorganique (l'acide 2-ketogluconic a été identifié chez *R. leguminosarum* et *R. meliloti* (Halder et Chakrabarty, 1993), comme ils peuvent synthétiser des enzymes (acide phosphatase, phosphohydrolase, phytase) (Glick, 2012).

R. leguminosarum bv. *phaseoli* et *S. meliloti* sont connus aussi pour produire des sidérophores (Arora et *al.*, 2001). Ces *Rhizobium* sont connus aussi par leur faculté de produire des phytohormones tel que l'Acide Indole 3-Acétique (AIA) (Afzal et Bano 2008 ; Senthilkumar et *al.*, 2009), les Cytokinines (Senthilkumar et *al.*, 2009) et les Gibberellines (Boiero et *al.*, 2007). Mais les *Rhizobium* sont surtout connus comme étant des bactéries symbiotiques fixatrices d'azotes, et peuvent être utilisées comme des inoculant pour améliorer la fixation de l'azote atmosphérique chez les légumineuses (Lindstrom et al. 1990).

1.2.2. Symbiose fixatrice d'azote

L'azote est parmi les éléments minéraux limitant la croissance des plantes, car ses formes assimilables sont présentes dans le sol en faible quantité. Le diazote atmosphérique est la forme dominante de l'azote présent sur terre, et seulement quelques espèces de procaryotes peuvent l'utiliser pour leur nutrition azotée. Les plantes acquièrent l'azote par l'assimilation de l'azote minéral (nitrate,

ammonium) et pour certaines d'entre elles en mobilisant l'azote atmosphérique par le biais de leur association avec des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote (Stougaard, 2000).

Les principaux types de symbioses fixatrices d'azote sont les symbioses nodulaires et les symbioses avec les cyanobactéries. Les symbioses nodulaires sont des associations très étroites, et nécessitent la formation d'un nouvel organe végétal « le nodule », qui héberge la bactérie symbiotique (Figure 6).



Figure 6 : Nodules de *Rhizobium leguminosarum* sur les racines du pois. (Burgess, 2013).
<https://fineartamerica.com/featured/Rhizobium-leguminosarum-root-nodules-drjeremy-burgess.html>

Ces nodosités représentent de véritables organes d'échanges métaboliques entre la bactérie et la plante. A l'intérieur de cet organe, les microsymbiotes différenciées en bactéroïdes, transforment l'azote atmosphérique N_2 en ammoniac (NH_3), en le réduisant par le complexe de nitrogénase, mais cette enzyme exige pour son bon fonctionnement une faible teneur en oxygène. La plante maintient les nodules en condition de microaérobie grâce au parenchyme nodulaire et la légghémoglobine, une protéine végétale, qui transporte et tamponne la concentration d'oxygène indispensable à la respiration, pour permettre une activité optimale de la nitrogénase (Perret et *al.*, 2000 ; Ott et *al.*, 2005). L'ammonium est la forme biologique que la bactérie échange avec la plante contre des photosynthétats (substrats carbonés).

Le complexe enzymatique nitrogénase est constituée de deux composants protéiques : la protéine MoFe qui est le site de la réduction du substrat (composant I), et la protéine Fe qui est le donneur d'électrons (composant II) (Figure 7). Le composant I, appelé dinitrogénase, est codé par les gènes *nifD* et

nifK, et le composant II, le dinitrogénase réductase, est codé par le gène nifH (Howard et Rees, 2000 ; Downie, 2005 ; Ott et *al.*, 2005).

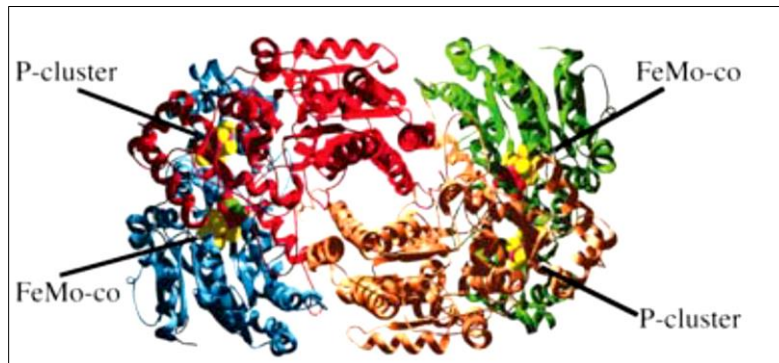


Figure 7 : Structure de la nitrogénase (Rubio et Ludden, 2005).

La régulation de l'expression de la nitrogénase fait intervenir au niveau transcriptionnel d'autres gènes nif de l'opéron (*nifA* et *nifL*) ce qui rend sa régulation plus complexe (Yamamoto et *al.*, 2008).

Les gènes *nod* peuvent être fonctionnellement divisés en trois classes : les gènes régulateurs, les gènes *nod* communs et les gènes spécifiques (Long, 2001 ; Wais et *al.*, 2002) :

- Les gènes régulateurs de transcription *nodD* codent pour les protéines NodD (Long, 2001).

- Les gènes *nod* communs, *nodABC*, sont des gènes présents chez les différentes espèces de rhizobia, à l'exception de certains *Bradyrhizobium* (Miche et *al.*, 2010) et sont responsables de la synthèse du squelette des facteurs Nod (FNs). Ces gènes sont requis pour les réponses de l'hôte et peuvent être échangés entre les *Rhizobium* sans généralement affecter la gamme de légumineuses nodulées (Wais et *al.*, 2002). Ils sont indispensables à la symbiose puisque l'inactivation de l'un d'eux se traduit par une absence de nodulation.

- Les gènes *nod* spécifiques sont responsables des substitutions qui s'opèrent sur le squelette de base des FNs. Ces gènes accessoires ne se retrouvent pas chez tous les *Rhizobium* et ils sont nécessaires pour la nodulation de certaines plantes. Chaque souche possédant son propre cortège de gènes *nod* spécifiques qui permettent la production d'un cocktail de FNs (Wais et *al.*, 2002).

La fixation de l'azote est une réaction très coûteuse en énergie (ATP et pouvoir réducteur). De ce fait, la fixation de l'azote par les bactéries diazotrophes à l'état libre est peu efficace : de l'ordre de la dizaine de kg N.ha⁻¹.an⁻¹. L'association symbiotique entre des bactéries fixatrices d'azote et certaines plantes permet d'améliorer considérablement cette valeur pour atteindre une centaine de kg N.ha⁻¹.an⁻¹ (Bohlool et *al.*, 1992).



La symbiose *Rhizobium*-Légumineuses est la plus étudiée car elle concerne beaucoup d'espèces d'intérêt agronomique (alimentation humaine et animale). Ce processus biologique joue un rôle essentiel dans l'agriculture durable, car il réduit l'apport en engrais azoté exogène (Bohlool et al., 1992 ; Stougaard, 2000 ; Hirsch et al., 2001 ; Wang et al., 2012).

1.2.3. Symbiose légumineuses/*Rhizobium*

La plus grande partie des Légumineuses (88% des espèces étudiées), interagissent avec les *Rhizobium* pour former des nodules fixateurs d'azote sur leurs racines (Hirsch et al., 2001). De ce fait, les Légumineuses sont parmi les plantes les plus étudiées (Gage, 2004 ; Patriarca et al., 2004 ; Stacey et al., 2006).

L'association *Rhizobium*-légumineuse est un modèle d'étude présentant une très grande complexité pour la spécificité de l'interaction entre les deux partenaires symbiotiques. L'identification et la caractérisation de couples de partenaires efficaces pour la nodulation et la fixation de l'azote, présente une grande importance pour leurs adaptations à des conditions écologiques ou agronomiques précises. Jusqu'à présent, le passage par des études expérimentales de tests de nodulation reste primordial afin de déterminer le spectre d'hôte d'une souche de *Rhizobium* et l'efficacité de l'association.

Le terme « rhizobia » regroupe des bactéries appartenant aux quatre différentes branches de la sous-classe α protéobactéries et se répartissent au sein de 12 genres bactériens (Figure 8 ; Tableau 1) : la branche *Mesorhizobium-Sinorhizobium-Rhizobium*, la branche des *Bradyrhizobium*, la branche des *Azorhizobium* et la branche des *Methylobacterium*. Les β -protéobactéries, contiennent 2 genres bactériens qui nodulent les légumineuses. Il s'agit des genres *Burkholderia* et *Cupriavidus*. Les bactéries appartenant au groupe des rhizobia sont très diverses et ont en commun l'aptitude d'induire la formation de nodules fixateurs d'azote sur les racines ou les tiges des Légumineuses (Moulin et al., 2001 ; Gyaneshwar et al., 2011). Le genre *Rhizobium* appartient à la classe des Alphaprotéobactéries, à l'ordre des Rhizobiales et à la famille des Rhizobiaceae (de Lajude et al., 2000).

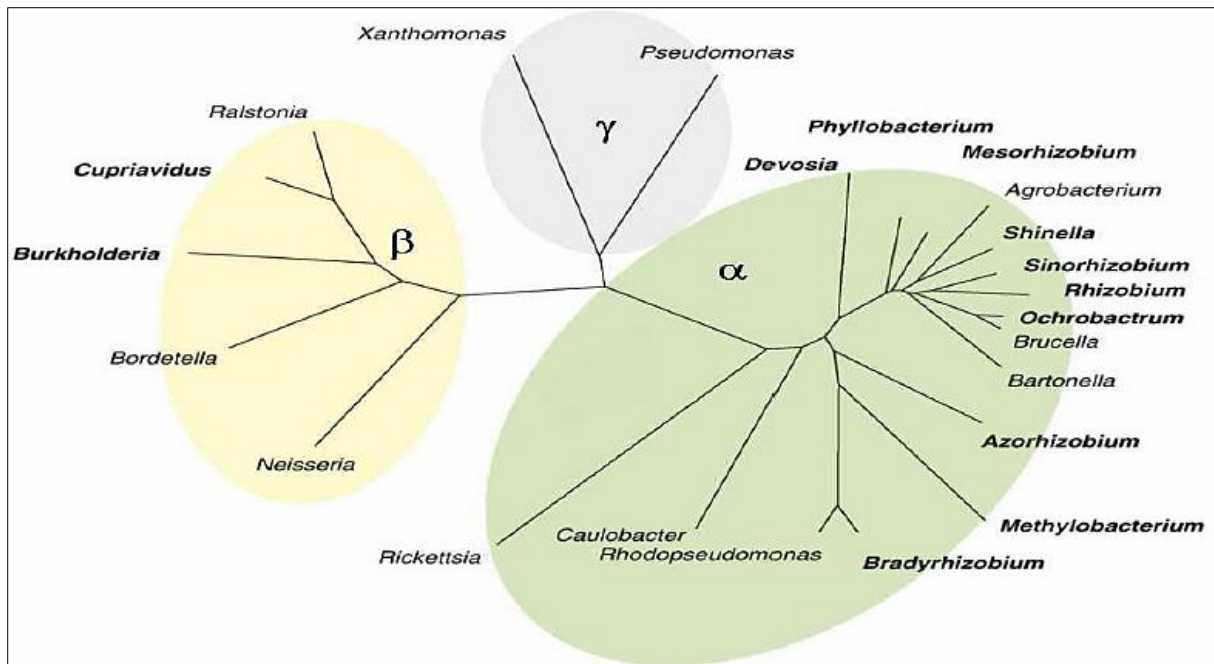


Figure 8 : Arbre phylogénétique de l'ADNr 16S α -, β et γ -protéobactéries. Les genres en gras contiennent les *Rhizobium* nodulant les légumineuses (Masson-Boivin et al., 2009).

Tableau 1 : Exemples d'associations entre rhizobia et légumineuses (Denarie et al., 1992 ; Sawada et al., 2003).

Rhizobia	Plantes hôtes
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Luzerne
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	
biovar <i>viveae</i>	Pois (<i>Pisum</i>), Vesce (<i>Vicia</i>)
biovar <i>trifolii</i>	Trèfle (<i>Trifolium</i>)
biovar <i>phaseoli</i>	Haricot (<i>Phaseolus</i>)
<i>Mesorhizobium loti</i>	Lotier (<i>Lotus</i>)
<i>Sinorhizobium fredii</i>	Soja (<i>Glycine</i>)
<i>Rhizobium</i> sp. NGR234	Large spectre et Parasponia (non légumineuse)
<i>Rhizobium tropicii</i>	Haricot (<i>Phaseolus</i>), Faux Mimosa (<i>Leucaena</i>)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Soja (<i>Glycine</i>)
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	Sesbania

1.2.3.1. Le nodule

Les conditions requises avant la mise en place de la symbiose sont une faible teneur en azote du sol et une photosynthèse active pour assurer une source suffisante d'énergie (A Kondorosi et E Kondorosi, 2000). Les étapes de formation des nodules sont les suivantes :

a. Préinfection

La formation du nodule exige une collaboration génétique intime entre la bactérie et la plante. (Michelle, 2006). L'interaction entre ces deux partenaires débute dans la rhizosphère, la plante permettant la croissance des bactéries de manière sélective (Savka et al., 2002). Les flavonoïdes (Figure 9) présents dans

les exsudats racinaires attirent les *Rhizobium* par chimiotactisme et induisent l'expression des gènes nod bactériens qui gouvernent la production des facteurs Nod (FNs) qui induisent des événements morphologiques, physiologiques et moléculaires chez la plante hôte (Perret et al., 2000 ; Mulder et al., 2005 ; Rodriguez-Navarro et al., 2007 ; Oldroyd et al., 2011).

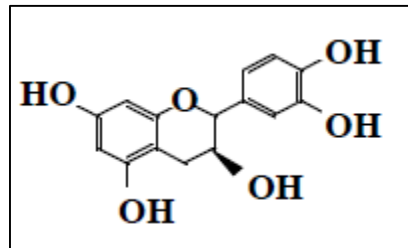


Figure 9 : Structure chimique du Flavonoïde

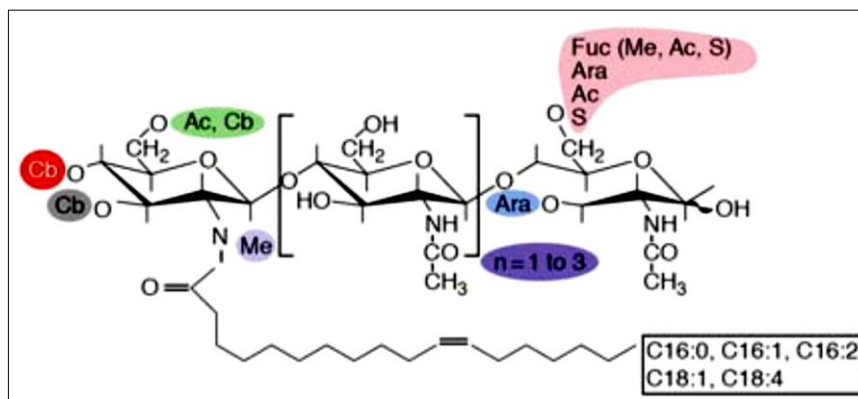


Figure 10 : Structure du facteur Nod. Structure chimique d'un facteur Nod générique avec quelques substitutions observées chez les différentes espèces de rhizobia indiquées en couleur. Les variations les plus courantes de la chaîne d'acides gras sont également représentées. Ac, acétyl ; Ara, arabinosyl ; Cb, carbonyl ; Fuc, fucosyl ; Me, méthyl ; S, sulfuryl. D'après Cullimore et al., 2001.

b. Infection

On distingue deux types d'infection : la voie intracellulaire qui est la plus étudiée et la voie intercellulaire. Au cours de l'infection intracellulaire, la pénétration de la bactérie est facilitée par la courbure du poil racinaire qui crée une zone confinée dans laquelle la bactérie est entourée par la paroi végétale, formant ainsi une micro-niche favorable à la prolifération des bactéries (Figure 11, Gage, 2004).

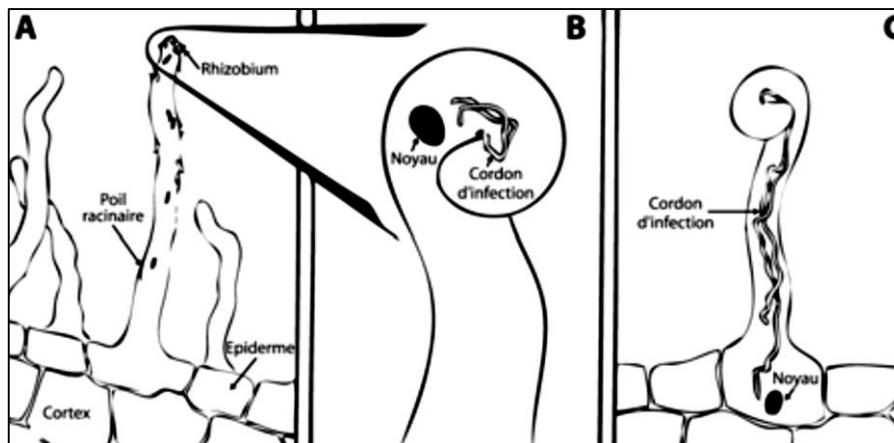


Figure 11 : Infection intracellulaire chez les Légumineuses. La bactérie colonise la rhizosphère et entre en contact avec le poil racinaire (A). Les facteurs Nod induisent la courbure du poil racinaire ce qui permet la création d'une zone confinée pour la bactérie qui initie l'infection (B). La mise en place du cordon d'infection suit le déplacement du noyau vers la base du poil (C). D'après Perret et al., 2000.

Un cordon d'infection est initié à partir de ce point par hydrolyse de la paroi (Mateos et al., 2001), invagination de la membrane végétale et production de matériel pariétal par la plante. Le cordon d'infection est une structure tubulaire qui croît à l'intérieur de la cellule et dans laquelle la bactérie prolifère (Gage, 2004).

c. Développement du nodule

Parallèlement à la progression de l'infection, l'organogenèse nodulaire se met en place. L'infection de la plante par les *Rhizobium* induit la différenciation et la division des cellules du cortex pour former un primordium nodulaire, lieu de libération des bactéries, et qui se différencie ensuite en nodosité mature.

A l'intérieur de la nodosité, la bactérie se différencie en bactéroïdes, forme sous laquelle elle est capable de réduire l'azote atmosphérique (N_2) en ammonium (NH_4^+) (Wang et al., 2012).

1.2.4. *Rhizobium* et lutte biologique

Les souches de *Rhizobium* sont souvent connues comme étant des bactéries fixatrices d'azotes (Nutman, 1976), mais sont aussi connues pour leurs effets antagonistes vis-à-vis des agents pathogènes, elles peuvent diminuer ou empêcher l'invasion des légumineuses par certaines espèces pathogènes tel que le *Fusarium* (Mew et Howard 1969). En effet, Johnston (1967) a montré que la présence de *Rhizobium meliloti* dans la rhizosphère de la luzerne, avait un certain effet protecteur contre l'invasion des racines par *Fusarium roseum*, cet effet est le résultat d'une compétition nutritive dans laquelle la source de carbone est le facteur critique.

Par la présence du microsymbiote, les légumineuses obtiennent un bénéfice nutritif, et deviennent aussi plus résistantes à certaines infections. *Rhizobium meliloti* et le *Bradyrhizobium japonicum* protègent, respectivement, la luzerne, et

le soja du *Fusarium oxysporum* (Bordeleau, 1989). L'effet protecteur résulterait d'une compétition nutritive entre le *Rhizobium* et l'agent pathogène, envers la source de carbone principalement.

Dans d'autres travaux, *Rhizobium meliloti* a inhibé la croissance de *Macrophomina pimedina*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium solani in vitro*. Dans des études en champ, il a été démontré que les souches *R. meliloti*, *R. leguminosarum* et *B. japonicum* ont réduit la sévérité de l'infection par *M. phareofina*, *R. solani* et *Fusarium spp*, de certaines légumineuses et non légumineuses. Ainsi des *Rhizobium* transgéniques, *R. leguminosarium* biovar *viciae* et *R. leguminosarum* biovar *trifolii* ont protégé les nodules du petit pois et de la féverole de l'attaque des larves de *Sitona flavescens*. Ces souches contiennent des fusions avec la séquence codante pour la protéine insecticide de *Bacillus subtilis* (M'lakhal, 2011).

Chez le pois et le haricot, une amélioration de l'assimilation du fer par la racine suivie d'une augmentation de la synthèse de chlorophylle ont été observées, grâce à la production des sidérophores par les *Rhizobium* (Becker et al., 1985).

Concernant Les interactions entre plantes/*Rhizobium* ou *Rhizobium*/pathogènes, plusieurs mécanismes ont été élucidés :

1.2.4.1. Interaction *Rhizobium*/pathogène

a. Hydrolyse

Les gènes de synthèse de la chitinase ont été clonés chez *Bradyrhizobium*, ce qui a permis de muter le locus et d'effectuer une mutagenèse dirigée par recombinaison réciproque avec le locus sauvage. Le mutant montre une production réduite de chitinases, une diminution de l'inhibition de l'élongation du tube germinatif fongique, et une protection réduite des plants de pois contre *Furariurn oxysporum* (Jones et al., 1986).

b. Compétition

Antoun et al., (1978), ont démontré que certaines souches de *Rhizobium* avaient un effet antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* var. *avenmeum*, dû principalement à une compétition pour le glucose.

Moore (1988) avance que les souches de *Rhizobium* qui synthétisent des sidérophores en absence de fer, inhibent la croissance des agents phytopathogène.

c. Antibiose

Smith et al. (1985), trouvent que *Rhizobium meliloti* peut produire la Rhizobactine (acide aminopolycarboxylique), qu'ils utilisent pour lutter contre les phytopathogènes et les ravageurs des légumineuses. La Rhizobactine est apparentée structurellement aux opines. Le *R. leguminosarum* produit l'antralinat, alors que *B. japonicum* est capable d'utiliser l'acide citrique comme sidérophores.

1.2.4.2. Induction de l'immunité des plantes

Le rôle des lipopolysaccharides (LPS) dans l'induction de la résistance de la plante a été démontré. En effet, des LPS ont été testés avec des résultats positifs vis-à-vis de divers phytopathogènes, tels que *Arabidopsis/F. oxysporum* ; haricot/*B. cinerea* ; tabac/*Phytophthora nicotianae* et pomme de terre/cyst nématode (VanWees et al., 1997).

2. LE POIS

Parmi les légumineuses, le pois (*Pisum sativum*) appelé aussi pois potager, est l'une des principales légumineuses alimentaires à cycle court, tout comme le haricot vert et la fève (Levesque, 1994).

2.1. Généralité

Le pois est une importante culture à grains qui a été largement cultivée comme source de protéines pour la nutrition animale et humaine depuis plusieurs siècles, et a une importance économique mondiale (Rubiales et al., 2012). En commun avec d'autres légumineuses, il joue un rôle essentiel dans la rotation des cultures pour profiter de l'enrichissement du sol en azote, et peut être utilisé pour le fourrage ou le fumier vert (Redden et al., 2005). Cette culture a également été utilisée pour les études génétiques et physiologiques en raison de ses grandes variations génétiques et morphologiques, il était le modèle original utilisé dans la découverte de Mendel des lois de l'héritage par Mendel des lois de l'héritage (1866), ce qui en fait le fondement de la génétique végétale moderne (Smykal et al., 2012).

Le pois préfère un pH supérieur à 6 et un sol poreux, ce qui favorise le développement des nodosités, mais il peut être cultivé dans tous types de sol. La densité de semis varie selon les types de sol. Elle est en moyenne de 80 plants/m². Les dates de semis varient selon la région et la variété concernée (Lecoeur, 2005).

2.2. Description botanique

Cette plante annuelle, représentée en figure 12, porte des fruits sous forme de gousses. La partie aérienne est constituée d'une tige principale et de ramifications issues des bourgeons latéraux. C'est une plante à fécondation autogame, donnant des gousses portant un nombre variable de graines dont le maximum est une caractéristique variétale (Lecoeur, 2005). La fleur de pois est typique de la famille des Papilionaceae, la corolle contient cinq pétales. Le pois est une culture cleistogame et doit être considéré comme une espèce strictement d'autonome (Cousin, 1997).

Dans sa partie souterraine, la plante de pois est constituée d'un système racinaire à pivot peu développé, ayant des racines secondaires. Sur ces racines peuvent se développer des nodosités, lieu de la symbiose entre la plante et des bactéries du sol qui permet la fixation de l'azote atmosphérique (Lecoeur, 2005).

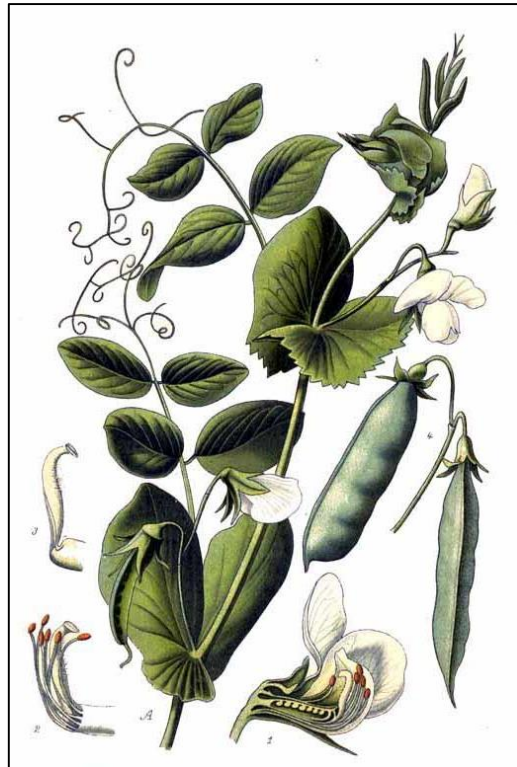


Figure 12 : Planche colorée de *Pisum sativum* (Masclef, 1891).

2.3. Taxonomie

Le genre *Pisum* est membre de la famille de Fabaceae, sous-famille de Papilionaceae et tribu de Vicieae, il regroupe trois espèces : *P. abyssinicum*, *P. fulvum* et *P. sativum*. *P. sativum* peut être divisé en sous-espèces tel que *P.s. ssp. sativum*, *P.s. ssp. elatius*, *P.s. ssp. humile*, *P.s. ssp. arvense*, *P.s. ssp. transcausicum* et *P.s. ssp. hortense* (Redden et al., 2005; Rubiales et al., 2012). Tous les taxons de *Pisum* sont diploïdes ($2n=14$) (Redden et al., 2005).

2.4. Facteurs limitant la production du pois

Les rendements potentiels des principales cultures sont généralement réduits en raison des contraintes abiotiques en plus des contraintes biotiques (Rubiales et al., 2012).

2.4.1. Contraintes abiotiques

Le froid, la sécheresse et les contraintes nutritionnelles, sont les stress environnementaux les plus importants qui affectent la production de pois. La plupart des cultivars de pois sont très sensibles au froid (Cousin, 1997). Seulement quelques lignes d'espèces sauvages de *Pisum* ou de pois chiches fourragers, probablement originaires de *P.s. ssp. arvense* ont été identifiés comme très tolérants au froid (Cousin, 1997).

La sécheresse est le deuxième stress abiotique le plus dévastateur chez le pois (Rubiales et al., 2012), elle empêche la fixation de l'azote et diminue la

production de la biomasse (Cousin, 1997). Le stress nutritionnel le plus est la salinité (Saxena, 1993), la fixation d'azote symbiotique est particulièrement sensible à la salinité élevée (Saxena, 1993).

2.4.2. Contraintes biotiques

2.4.2.1. Ravageurs

Les insectes, y compris les vers filiformes, les pucerons, les thrips, le charançon des feuilles de pois peuvent causer de graves dommages aux plantes et aux grains (Redden *et al.*, 2005). Les ravageurs les plus dommageables du pois sont les guêpes du pois (*Bruchus pisorum*).

Le pois est également affecté par un certain nombre de nématodes dont *Pratylenchus* spp., *Meloidogyne* spp. et *Heterodera goettingiana*, auxquels il existe peu de résistance (Rubiales *et al.*, 2012).

2.4.2.2. Maladies bactériennes et virales

Deux bactéries phytopathogènes très proches sont associées aux pois : *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* qui provoque la maladie de la graisse du pois, responsable de dégâts économiques importants, en particulier au printemps et en été, et la bactérie *P. syringae* pv. *syringae* (maladie de la tache brune), qui peut causer une maladie grave suite aux dommages causés par la grêle ou à des conditions excessivement humides (Mazarei et Kerr, 1991).

Concernant les maladies virales, il existe plus de 50 virus connus pour infecter le pois à l'échelle mondiale (Kraft et Pflieger, 2001), dont le plus important est le virus de la mosaïque du pois (*PSbMV*) répandu dans le monde entier (Cousin, 1997).

2.4.2.3. Maladies fongiques

Les principales maladies fongiques de cette culture comprennent les maladies foliaires et racinaires. Les maladies foliaires les plus importantes sont l'antracnose (causée par un complexe de trois espèces de champignons, *Ascochyta pisi*, *Didymella pinodes* et *Phoma medicaginis* var. *pinodella*) (Rubiales *et al.*, 2012), l'oïdium et la rouille du pois (Rubiales *et al.*, 2009).

Parmi les maladies telluriques qui causent le plus dégâts nous avons : la pourriture racinaire causée par *F. solani* f.sp. *pisi* et la fusariose vasculaire causée par *F. oxysporum* f.sp. *pisi* (*Fop*).

La fusariose vasculaire du pois causée par *Fop* est une maladie très grave, et est considérée parmi l'un des principaux facteurs limitants l'augmentation et de la stabilisation des rendements le pois (Kraft, 1994).

3. FUSARIOSE VASCULAIRE

La fusariose vasculaire est une maladie commune de flétrissement fongique, causée par l'agent pathogène « *Fusarium oxysporum* ». Elle représente un facteur limitant majeur dans la production de nombreuses cultures agricoles et horticoles tel que le pois, le palmier dattier, le lin, l'oignon, la tomate, le coton... etc. (Mac Hardy et Beckman, 1981).

La fusariose vasculaire du pois, causée par *F. oxysporum* f.sp. *pisi* (*Fop*) a été signalée dans tous les pays où les pois sont cultivés et peuvent être particulièrement sévères (Kraft et Pleger, 2001), il s'agit d'une trachéomycose qui entraîne une perte d'eau et de métabolites nécessaires à la survie des cellules végétales, détruisant ainsi les constituants essentiels des cellules (Agrios, 2005).

3.1. Agent causal

Le genre *Fusarium*, décrit pour la première fois par Linke en 1809, appartient à la famille des Tuberculariacées, dans le groupe des Hyphomycètes (champignons filamenteux). L'absence de reproduction sexuée permet de rattacher ces champignons aux Deutéromycètes (champignons imparfaits), regroupement artificiel de formes asexuées (ou anamorphes) variées, certaines espèces de *Fusarium* ont une forme sexuée, dite également forme parfaite ou téléomorphe, appartenant aux genres *Nectria* ou *Gibberella* (Gams et Nirenberg, 1989) dans l'ordre des Hypocréales, ou des Ascomycètes.

Les champignons du genre *Fusarium* sont ubiquistes, ils s'adaptent facilement à toutes les conditions environnementales et sont très répandus sous tous les climats (Burgess et Liddell, 1983). Ils sont particulièrement abondants dans les sols, sur les débris végétaux, et sur les parties souterraines et aériennes des plantes. Même si la plupart d'entre eux ne sont que saprophytes, c'est en tant que phytopathogènes qu'ils sont les plus connus. En effet, les espèces végétales attaquées par des souches de *Fusarium* sont nombreuses et variées, aussi bien en grandes cultures qu'en cultures sous serres, où les dégâts provoqués peuvent être spectaculaires (Nelson, 1981). Ils peuvent être responsables de fontes de semis, de pourritures de racines et du collet, ou de maladies vasculaires.

3.1.1. *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*

L'espèce *Fusarium oxysporum* comporte les formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés (Messiaen et Cassini, 1968), elle représente 80 à 90% de la flore fusarienne totale de la rhizosphère (Correll et al., 1986). Le genre *Fusarium* tire son nom du latin fucus car ses spores caractéristiques sont en forme de fuseau, appelées macroconidies (Burgess et Lidell, 1983).

3.1.2. Taxonomie

Le genre *Fusarium* a été profondément revu par Synder et Hansen (1940, 1945), Tousson et Nelson (1968) et Messiaen et Cassini (1968, 1981).

Aujourd'hui et grâce à l'utilisation des techniques de la biologie moléculaire, la systématique des *Fusarium oxysporum* a considérablement évoluée. (Di Pietro et al., 2003). Actuellement, plus de 120 formae speciales ont été définies.

Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Classe	Hymenoascomycètes
Sous-classe	Pyrenomycetidae
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	<i>Fusarium</i>
Espèce	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lisi</i>

3.1.3. Caractéristiques

La classification des *Fusarium* est comme pour tous les champignons, basée essentiellement sur les critères physiologiques et morphologiques (pigmentation, aspect du mycélium, présence ou absence des spores, taille, forme, nombre de cloisons, ...) (Bouhot, 1981).

3.1.3.1. Les Caractères physiologiques

Ce champignon se développe bien sur le milieu gélosé à base de pomme de terre : Potato Dextrose Agar (PDA) (Bouhot et Billotte, 1964). La croissance débute à 7°C et demeure faible jusqu'à 12°C, devient rapide entre 21°C et 27,5°C et s'arrête à 37°C (Malençon, 1947). L'optimum de croissance *in vitro* de ce champignon est obtenu à 28°C, et la meilleure germination des microconidies est à 27°C (Bounaga, 1975). Arib (1998), a montré que la croissance de *Fusarium oxysporum* est faible entre les pH 8,5 et 9,7, et est rapide à des pH de 5 à 6. Les sources de carbone les mieux métabolisées par ce champignon sont la pectine, le mannose, et le glucose. Les sources d'azote organique sont mieux utilisées que l'azote minéral.

3.1.3.2. Les Caractéristiques morphologiques

Fusarium oxysporum est un champignon imparfait, son mycélium aérien est généralement blanchâtre ou rosâtre (Daniel et al., 1973). Il peut prendre d'autres pigmentations (violette, mauve, orange ou beige), qui sont dues à la formation d'une multitude de spores en surface par des organes fructifères (sporodochies, pionnotes), ainsi qu'aux variations de la lumière et du milieu de culture (H Messaoudi et L Messaoudi, 1989).

Cependant, la grande variabilité morphologique est un phénomène commun chez les formes spéciales de *Fusarium oxysporum*, qui peut être expliquée par les

variations portées sur les caractères cultureux (aspect du mycélium aérien, pigmentation du thalle et du milieu), sur les caractéristiques biométriques, sur les spores (taille, forme, cloisonnement, etc...), sur les organes fructifères qui leur donnent éventuellement naissance (sporodochies et pionnotes), et enfin, sur la présence ou l'absence de sclérotés (Henni et *al.*, 1998).

L'aspect des souches de *F. oxysporum* peut fréquemment varier d'une culture à l'autre après des repiquages successifs, voir dans une même culture où des sections de couleurs ou d'aspects différents peuvent apparaître (Windels, 1992).

3.1.4. Reproduction

Fusarium oxysporum fait partie du groupe des champignons imparfaits chez lesquels la forme sexuée n'a jamais été observée. Ce champignon ne se multiplie donc que par voie végétative ou par l'intermédiaire de spores asexuées, conduisant à des descendances de types clonal (Assigbetse, 1993). Cette espèce produit trois types de spores asexuées (Figure 13) :

- La microconidie : c'est une spore de petite taille ($3-5 \times 10-15 \mu\text{m}$), en générale ovoïde à ellipsoïde, unicellulaire, quelque fois bicellulaire, agglomérées en fausses têtes, jamais en chaîne. Elle se forme sur le mycélium aérien, et sont produites en fausses têtes sur des conidiophores monophialides. La monophialide possède un pore ou une ouverture et donne naissance à plusieurs conidies (Guezlane, 1976 ; Agrios, 2005).
- La macroconidie : c'est une spore en forme de fuseau, cloisonnée transversalement et de grande taille ($5-10 \times 25-35 \mu\text{m}$). Dans les sporodochies, elle est formée à partir de monophialides et a une forme typique de taille uniforme ; sur les polyphialides, elle a une forme et une taille variable (Guezlane, 1976 ; Assigbetse, 1993). Comporte quatre à six cellules dont une cellule apicale plus mince que les autres et une cellule basale en forme de pied (Komi, 1993).
- Le chlamydospore : c'est une spore de résistance, entourée d'une paroi épaisse. Elle est sphérique ou ovoïde ($6 \times 30 \mu\text{m}$), intercalaire ou terminale, isolées ou en groupes (Guezlane, 1976 ; IMI, 1994).

La sporodochie, est un organe fructifère, en forme d'axes ramifiés porteurs à leur extrémité les monophialides donnant naissance aux macroconidies (Henni, 1998).

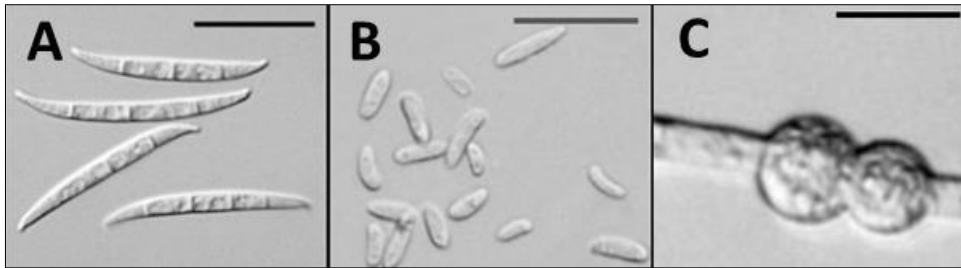


Figure 13 : Vue microscopique de *F. oxysporum* (A : macroconidia, B : microconidia, C : chlamydospores, bar d'échelle = 25 μ m) (Leslie et Summerell, 2006).

3.1.5. Substances synthétisées par l'agent pathogène

F. oxysporum a adapté un réseau de voies de signalisation hautement conservées, pour détecter et répondre aux indices environnementaux par des changements appropriés dans l'expression des gènes, y compris ceux qui conduisent à la reconnaissance de l'hôte, à la pénétration des racines, à la dégradation des défenses de l'hôte, à la prolifération dans les tissus de l'hôte et établissement de la maladie (Di Pietro et al., 2001 ; Rispaill et Di Pietro, 2010).

Une fois en contact avec la racine, le champignon doit pénétrer dans les parois cellulaires (Agrios, 2005). Certains des facteurs de virulence les mieux étudiés sont les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire (Cellular Wall Degradation Enzymes : CWDE). *F. oxysporum* sécrète un ensemble de CWDE, tels que les polygalacturonases (PG), la pectate lyases (PL), les xylanases et les protéases, lors de la pénétration de la racine et de la colonisation des plantes (Beckman, 1987 ; Agrios, 2005). En conséquence, les CWDE ont été grandement produits par *Fop* à l'intérieur de la plante, ce qui implique l'importance des CWDE dans la pathogénicité de *Fop* vis-à-vis de la culture de pois (Benhamou et Garand, 2001).

D'autre part, *F. oxysporum* est connu depuis longtemps pour produire des métabolites secondaires phytotoxiques (phytotoxines), qui ont été impliqués dans la pathogénèse de *F. oxysporum* (Di Pietro et al., 2003). La toxine la plus connue produite par *F. oxysporum* est l'acide fusarique, à haute concentration, il induit de nombreuses réponses physiologiques dans les cellules végétales, y compris l'altération de la croissance cellulaire, l'activité mitochondriale et la perméabilité membranaire, alors qu'à une faible concentration, il pourrait déclencher des réactions de défense des plantes et la mort cellulaire programmée (Bouizgarne et al., 2006). En dehors de l'acide fusarique, certains isolats de *F. oxysporum* ont montré qu'ils produisent des toxines supplémentaires telles que la beauvericine, l'ennantaine B, la bikaverine, la moniliformin, la fumonisine et le trichothécène (Mirocha et al., 1989 ; Moretti et al., 2002 ; Son et al., 2008 ; Irzykowska et al., 2012) qui peuvent également contribuer à leur pathogénicité.

En outre, *F. oxysporum* a développé différentes stratégies pour tolérer les composés antifongiques produits par la plante hôte. Il s'agit notamment de la modification de la teneur en stérols de la membrane (Défago et al., 1983), la

régulation des gènes spécifiques de la chitine synthéase qui ont récemment été considérés comme des facteurs de pathogénicité de nombreux *F. oxysporum* importants (Madrid et al., 2003 ; Martín-Urdiroz et al., 2008 ; Pareja-Jaime et al., 2010) et la sécrétion des enzymes qui dégradent et détoxifient les composés antifongiques, comme cela a été montré avec la phytoalexine de pois (la pisatin).

3.1.6. Races

L'organisme causal de la maladie de fusariose vasculaire du pois était initialement nommé *F. othoceras* var. *pisi* (Linford, 1928). L'agent pathogène a ensuite été désigné comme race 1 de *F. oxysporum* f.sp. *pisi* en 1935 (Goth et Webb, 1981). Depuis lors, les problèmes causés par la race 1 de *Fop* n'ont pas été éliminés, mais la maladie est maîtrisée par la croissance des cultivars résistants (Kraft et al., 1974).

Une deuxième infection par *Fop* a été observée chez le pois (race 2), ses symptômes apparaissent plus tard dans la saison de croissance (Hagedorn, 1984). Les isolats de cette nouvelle race étaient capables de causer la mort des plantes résistantes à la race 1. Delwiche Commando a été le premier cultivar développé possédant des gènes de résistance pour les deux races 1 et 2 (Goth et Webb, 1981). Les races 3 et 4 ont été décrites respectivement aux Pays-Bas et au Canada (Schreuder, 1951, Bolton et al., 1966). Elles ont été reclassés par la suite comme étant des isolats plus virulents de race 2 (Huebbling, 1974 ; Kraft et Haglund, 1978 ; Kraft et Pflieger, 2001).

En 1970, la race 5 a été décrite dans le nord-ouest de Washington (Haglund et Kraft, 1970), où tous les cultivars commerciaux résistants aux races 1 et 2 étaient sensibles.

En 1979, une nouvelle race de flétrissement a été décrite à nouveau à l'ouest de Washington, nommée race 6 qui était pathogène sur les cultivars résistants aux races 1, 2 et 5 (Haglund et Kraft, 1979).

La résistance génétique à la race 1, 2, 5 et 6 de *Fop* est conférée par des gènes dominants indépendants (Coyne et al., 2000 ; Kraft et Pflieger, 2001)

La pathogénicité des races 1, 2, 5 et 6 de *Fop* peut être distinguée par leur réaction sur les variétés différentielles, qui contiennent des gènes dominants pour la résistance à chaque race (Kraft, 1994 ; Kraft et Pflieger, 2001). Les races 1 et 2 entraînent des pertes économiques dans la plupart des régions de culture du pois, alors que les races 5 et 6 causent des pertes uniquement pour les cultures de pois primaires dans le nord-ouest de l'État de Washington et en Colombie-Britannique (Haglund et Kraft, 1979).

3.2. Symptômes

Lorsqu'une forme spéciale de *Fusarium oxysporum* infecte son hôte, l'action parasitaire se montre catastrophique.

La maladie causée par *Fop* entraîne souvent un flétrissement vasculaire et la mort de la plante du pois. Les symptômes causés par les races 1, 5 et 6 de *Fop* incluent : feuilles et stipules frisées vers le bas, épaississement d'entre nœuds basaux, feuilles et tiges devenant plus fragiles, jaunissement progressif et nécrose des feuilles. Ces dernières sont en général atteintes de bas en haut, le sommet de la plante pouvant rester vivant alors que les feuilles de base sont déjà mortes. La fusariose vasculaire se développe rapidement entraînant la mort de la plante (Figure 14). Bien que le système racinaire externe semble normal, le tissu vasculaire de la racine et de la tige peut devenir jaune à orange, cette décoloration vasculaire s'étend souvent à la tige supérieure (Hagedorn, 1984 ; Kraft, 1994 ; Kraft et al., 1998, Kraft et Pflieger, 2001, Biddle et Cattlin, 2007). Dans les terrains où les races 1, 5 et 6 sont répandues, les symptômes s'expriment généralement à n'importe quel stade de croissance, dans de petites ou grandes zones de plantes mortes, qui s'accroissent progressivement avec le temps (Messiaien, 1981 ; Hagedorn, 1984 ; Kraft, 1994 ; Kraft et al., 1998 ; Kraft et Pflieger, 2001). Le symptôme interne le plus important est le brunissement vasculaire (MacHardy et Beckman, 1981).



Figure 14 : Symptômes de la fusariose vasculaire chez le pois (*Pisum Sativum*). A : jaunissement des feuilles basales. B : Flétrissement et mort de la plante.

Les symptômes de la race 2 de *Fop* sont semblables aux symptômes des autres races, à la différence d'un jaunissement unilatéral qui se déplace asymétriquement sur un côté de la plante avant l'autre (Figure 15), puis se flétrit (Kraft et Pflieger, 2001). La décoloration vasculaire causée par la race 2 est généralement plus intense que les autres races, allant de l'orange au rouge foncé (Kraft, 1994 ; Kraft et al., 1998 ; Kraft et Pflieger, 2001), et les symptômes de cette race se produisent généralement plus tard dans la saison de croissance, souvent au moment de la floraison (Kraft et Pflieger, 2001 ; Biddle et Cattlin, 2007).



Figure 15 : Jaunissement unilatéral des feuilles.

3.3. Cycle

Une infection réussie de la plante par *F. oxysporum* est un phénomène complexe qui nécessite une série de processus hautement réglementés, dont : 1) la reconnaissance des racines par des signaux émis par l'hôte, 2) l'attachement à la surface radiale et la différenciation des hyphes de pénétration, 3) la pénétration du cortex racinaire et dégradation des barrières physiques de l'hôte telles que l'endoderme pour atteindre le tissu vasculaire, 4) adaptation au milieu des plantes hostiles, y compris la tolérance aux composés antifongiques végétaux, 5) prolifération des hyphes et production de microconidies dans les vaisseaux du xylème et 6) sécrétion des déterminants de la virulence tels que les petits peptides ou les phytotoxines (Figure 16) (Di Pietro et al., 2003).

3.3.1. Formation et germination des spores

Au cours des étapes initiales de l'interaction, les agents pathogènes fongiques doivent détecter les molécules signales de la plante, puis réagir avec des changements morphogénétiques et biochimiques appropriés. Ce processus de signalisation représente la première étape et la plus critique dans la définition du résultat de l'infection fongique, c'est-à-dire le succès ou l'échec dans l'établissement de la maladie (Di Pietro et al., 2003).

En tant qu'habitant du sol, *F. oxysporum* peut survivre à des périodes prolongées en l'absence de l'hôte, principalement sous forme de chlamydospores saprophyte (Beckman et Roberts, 1995). Les sécrétions racinaires induisent les chlamydospores dormants à la germination et à l'initiation d'une infection (Schippers et van Eck, 1981 ; Di Pietro et al., 2003).

3.3.2. Infection

Le processus d'infection vasculaire par *F. oxysporum* est complexe, il nécessite une série d'étapes hautement réglementés :

Adhésion : l'infection fongique commence lorsque les hyphes d'infection adhèrent à la surface de la racine hôte (Bishop et Cooper 1983a ; Di Pietro et *al.*, 2003). L'adhésion du champignon à la surface de l'hôte n'est pas un processus spécifique, car ils peuvent adhérer à la surface de l'hôte et des non hôtes (Vidhyasekaran, 1997). La liaison spécifique au site peut être importante pour ancrer les propagules à la surface de la racine, après quoi d'autres processus nécessaires à la colonisation peuvent se poursuivre (Recorbet et Alabouvette, 1997).

Pénétration : la pénétration est susceptible d'être contrôlée par une combinaison de différents facteurs, incluant les composés fongiques, les structures de surface de la plante, les activateurs ou les inhibiteurs de la germination des spores fongiques et la formation de tube germinatif (Mendgen et *al.*, 1996). Les moyens par lesquels les agents pathogènes de la fusariose vasculaire pénètrent dans les racines peuvent différer, mais il existe deux types distincts : certaines formes pathogènes pénètrent directement dans les racines, tandis que d'autres doivent entrer indirectement à travers des blessures (Lucas, 1998). Les sites les plus courants de pénétration directe sont situés à proximité de la pointe des racines (Lucas, 1998), l'agent pathogène entre dans la région apicale de la racine où l'endoderme qui n'est pas complètement différencié, et les champignons peuvent se développer et atteindre le protoxylème en développement. Bien que la blessure mécanique augmente l'infection, elle n'est pas essentielle pour l'infection racinaire latérale (Stover, 1962).

3.3.3. La colonisation

Au cours de la colonisation, le mycélium avance de manière intercellulaire à travers le cortex racinaire, jusqu'à ce qu'il atteigne les vaisseaux du xylème et les pénètre (Bishop et Cooper, 1983b ; Beckman, 1987 ; Olivain et Alabouvette, 1999 ; Benhamou et Garand, 2001 ; Olivain et *al.*, 2006 ; Czymmek et *al.*, 2007 ; Zvirin et *al.*, 2010). Le champignon reste alors exclusivement dans les vaisseaux du xylème, et progresse verticalement à travers eux pour coloniser l'hôte (Bishop et Cooper 1983b ; Beckman, 1987). La colonisation fongique du système vasculaire de l'hôte est souvent rapide, elle est facilitée par la formation de microconidies (Beckman et *al.*, 1961), qui sont détachées et portées vers le haut avec le courant de la sève (Bishop et Cooper 1983b).

Quand ce mouvement est empêché par une paroi transversale, les microconidies germent et le tube germinatif pénètre dans la paroi, puis la formation de microconidies reprend de l'autre côté de la paroi (Beckman et *al.*, 1961 ; Louvet, 1977).

A l'extérieur, l'agent pathogène produit des chlamydospores, et forme des organes de fructification à la surface des feuilles appelées sporodochies. Ces derniers développent des macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes, qui lorsqu'elles sont transportées par le vent, l'érosion ou les insectes elles donnent naissance à un deuxième cycle d'infection (Di Pietro et *al.*, 2003).

3.3.4. Développement de la maladie

Le flétrissement est probablement causé par une combinaison d'activités pathogènes, telles que l'accumulation de mycélium fongique et / ou la production de toxines et les réponses de défense de l'hôte (la production de gels, de gommages et de tyloses et le concassage des vaisseaux par la prolifération de cellules de parenchyme adjacentes) (Beckman, 1987 ; Di Pietro et *al.*, 2003) ou par dégradation des tissus hôtes (Kroes et *al.*, 1998 ; Olivain et Alabouvette, 1999 ; Ouellette et *al.*, 2002). Après le flétrissement et la mort de la plante, le champignon atteint la surface de celle-ci, où il produit des chlamydospores, qui seront dispersées sur le sol pour un deuxième cycle d'infection (Di Pietro et *al.*, 2003).

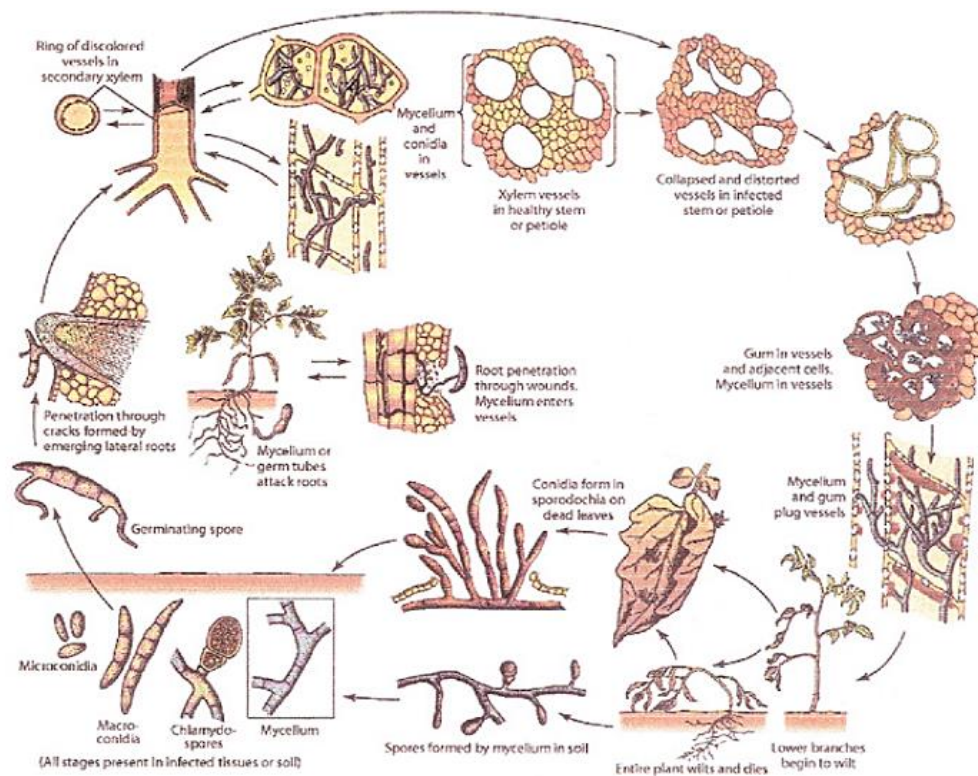


Figure 16 : Cycle biologique de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Agrios, 2005).

3.4. Lutte

Le contrôle du pathogène se réalise principalement par la combinaison de plusieurs techniques, y compris les pratiques agricoles, l'application de produits chimiques et l'utilisation de variétés résistantes et la lutte biologique (Kavanagh, 2005).

La rotation des cultures est la meilleure pratique agricole qui peut contribuer à réduire les dommages causés par les agents pathogènes fongiques. Cependant, la rotation des cultures n'a qu'un effet mineur dans la résolution du problème de la fusariose vasculaire du pois, non seulement parce que les chlamydospores de *Fop* survivent pendant très longtemps dans le sol, mais aussi parce que l'inoculum peut se multiplier sur les racines des plantes sans exprimer de symptômes. Néanmoins, une rotation qui comprend des cultures de pois au maximum une fois

en 5 ans, aidera à éviter que la maladie atteint des niveaux dommageables (Biddle et Cattlin, 2007).

La fumigation du sol avec un fongicide à large spectre est une autre méthode de contrôle potentielle qui fournit un bon contrôle initial (Keiko et Mashita, 2005), bien que la recolonisation des sols par *Fop* se produise très rapidement. En outre, la fumigation des sols est très coûteuse pour l'application sur le terrain, et en raison de l'impact négatif des produits chimiques sur les organismes non visés et du risque environnemental et sanitaire, la gamme et le taux de fongicides utilisés ont été progressivement limités, et il y a certains dont l'utilisation est devenue interdite, ex : le bromure de méthyle utilisé comme fumigant du sol pré-végétal depuis plus de 40 ans, considéré comme dangereux pour la couche d'ozone, a été progressivement éliminé sur le marché, et interdit d'utilisation en 2015 (Duniway, 2002). Plusieurs autres fongicides ont été utilisés pour lutter contre *Fop* : bénomyl, carbendazime, prochloraze, fludioxonil et azoxystrobine (Amini et Sidovich, 2010)

En plus de ces méthodes de lutte citées, l'utilisation de variétés résistantes des cultures de pois, semble être une mesure pratique pour contrôler la fusariose vasculaire sur terrain (Kraft et Pflieger, 2001). Cependant, jusqu'à présent, seul le gène dominant pour la résistance à *Fop* a été utilisé dans le développement des cultivars commerciaux, et les programmes d'hybridation basés sur seulement quelques gènes dominants courent un risque sérieux de rupture de résistance. Cette panne de résistance autrefois efficace, oblige les scientifiques à rechercher continuellement de nouvelles sources de résistance dans la collection de germoplasme de pois, y compris les parents de pois sauvages.

Au cours des dernières années, les scientifiques ont tourné leur attention vers l'exploitation du potentiel des organismes bénéfiques pour la protection des végétaux (Choudhary et Johria, 2009). Le biocontrôle implique l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits, pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par les organismes nuisibles aux végétaux (Suty, 2010). La lutte microbienne est basée sur l'utilisation de microorganismes non pathogènes, et semble être prometteuse en raison de l'ubiquité de ces microorganismes dans les agrosystèmes, leur grande variété, la diversité dans leurs mécanismes d'action, leur grande capacité à coloniser des racines des plantes, et aussi leur capacité d'adaptation aux contraintes environnementales (Suty, 2010).

Le contrôle biologique de la fusariose vasculaire a donné des résultats encourageants. Plusieurs bactéries et champignons de caractères antagonistes isolés à partir de la rhizosphère ont montrés leur capacité à lutter contre la fusariose vasculaire, tels que les souches non pathogènes de *F. oxysporum*, *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, et beaucoup d'autres (Pal et McSpadden-Gardener, 2006). Bien que prometteur, aucun de ces organismes n'a été utilisé pour contrôler la fusariose vasculaire sur terrain jusqu'à présent.

CHAPITRE II
MATERIELS ET METHODES

1. MATÉRIELS BIOLOGIQUE

1.1. Matériels végétal

L'essai antagoniste a été mené sur cinq génotypes de pois (*Pisum sativum*) : quatre génotypes espagnoles, et un génotype d'origine italien cultivé en Algérie (Tableau 2).

Tableau 2 : Génotypes de pois utilisés.

Origine	Code
Génotypes espagnoles	Jl1412
	Polar
	P615
	P21
Génotype local	Kelvedon Wonder Peas

1.2. Isolats fongiques phytopathogènes

Dans notre travail expérimental, nous avons utilisé deux races de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* (*Fop*) : *Fop* R1 (race 1) et *Fop* R2F42 (race 2), d'origine espagnole (Institut de l'agriculture durable IAS-CSIC Cordoue, Espagne) (Figure 17).

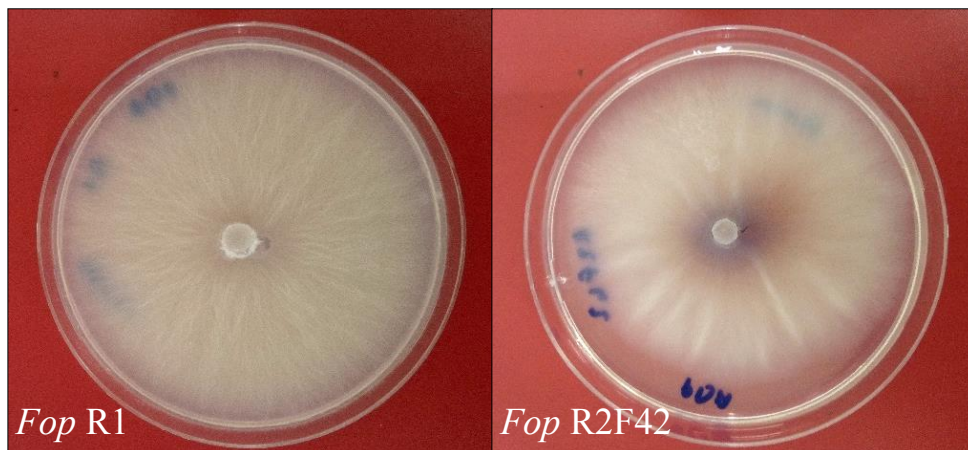


Figure 17 : Les deux races de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*.

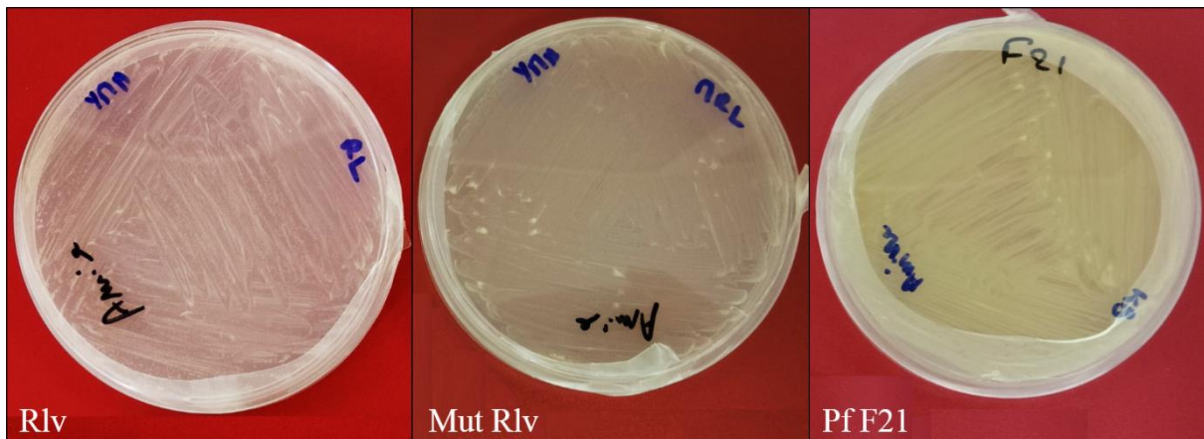
1.3. Isolats bactériens phytobénéfiques

L'objectif de cette étude est d'étudier les activités et les propriétés antagonistes de deux souches de *Rhizobium* sp. (Institut de l'agriculture durable IAS-CSIC Cordoue, Espagne) et d'une souche de *Pseudomonas fluorescens* (Laboratoire de Phytopathologie de l'université de Blida, Algérie), vis-à-vis de la fusariose vasculaire du pois (Tableau 3 et Figure 18).

Tableau 3 : Souches bactériennes utilisées.

Souches	Origine
<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	Institut de l'agriculture durable
Mutant <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	IAS-CSIC Cordoue, Espagne
<i>Pseudomonas fluorescens</i> F21	Laboratoire de Phytopathologie de l'université de Blida, Algérie

La pureté des souches a été vérifiée sur le milieu B de King (KB) (Annexe 1), en réalisant plusieurs repiquages. L'ensemencement a été réalisé selon la technique de stries. Après incubation à 25°C pendant 48^h, les cultures sont repiquées plusieurs fois jusqu'à l'obtention des aspects culturels purs et spécifique des trois souches bactériennes étudiées. Les cultures ainsi purifiées, sont stockées à 4°C.

**Figure 18** : Les trois souches bactériennes *Rlv*, mutant *Rlv* et *Pf* F21.

2. ACTIVITE ANTAGONISTE

Nos essais d'antagonisme ont été effectués in situ, avec les trois souches bactériennes (tableau 3) vis-à-vis des deux souches de *Fop* (R1 et R2F42), agent de la fusariose vasculaire du pois. Ces essais ont été réalisés en interaction avec cinq géotypes de pois (tableau 2), mise sous serre en verre.

2.1. Désinfection des semences

Les graines de pois sont désinfectées par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium (1%) pendant 30 minutes à température ambiante (Figure 19), suivi de deux rinçages à l'eau distillée stérile pendant 20 minutes chacun. Dans des conditions d'asepsie, ces graines sont placées sur du papier Whatman humide, dans des boîtes Pétri couvertes avec du papier aluminium pour les abriter de la lumière.



Figure 19 : Désinfection des semences avec l'hypochlorite de sodium (1%).

Afin de stratifier les graines et de synchroniser leur germination, les boîtes sont placées au réfrigérateur à une température de 4°C pendant deux jours, puis mises à une température de 25°C pendant 7 jours. Une fois germées, les graines sont transférées dans des pots de Perlite stérile (Figure 20). Les plantules sont arrosées avec de l'eau courante selon besoin durant 35 jours.



Figure 20 : Germination des graines dans un pot de Perlite 7 jours après le semis.

2.2. Préparation des inoculums

2.2.1. Inoculum fongique

Pour préparer les suspensions fongiques, nous avons cultivé sur milieu Potatos Dextros Agar (PDA) (Annexe 1) les deux souches de *Fop* (R1 et R2F42) pendant sept jours. A partir de cultures pures nous avons pris des disques mycéliens que nous avons homogénéisés dans des flacons de milieu de PD liquide. Les flacons sont mis sous agitation constante (170 rpm) à une température ambiante pendant 5 jours, et l'inoculum est ensuite filtré à l'aide des compresses stériles. La concentration de chaque suspension conidienne a été ajustée à 5×10^6 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez

2.2.2. Inoculum bactérienne

La préparation de la suspension bactérienne de *Pseudomonas fluorescens* F21, était réalisée à partir d'une culture bactérienne cultivée sur milieu KB et incubée à 25°C dans l'étuve pendant 5 jours.

Concernant les suspensions des deux souches de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*, l'inoculum bactérien était cultivé sur le milieu YMA (Yeast Mannitol Agar) (Annexe 1), incubé dans l'étuve à 28°C pendant 5 à 7 jours.

Les colonies bactériennes sont raclées et ensemencées dans des flacons contenant de l'eau distillée stérile. A l'aide d'un spectrophotomètre, la densité optique a été estimée pour chaque suspension à $D.O \approx 0.8$, à une longueur d'onde de 600 nm, soit l'équivalent de 10^6 CFU/ml. Les suspensions sont conservées dans le réfrigérateur à une température de 4°C.

2.3. Inoculation des plantes

Au stade de deux à trois nœuds (Figure 21), nous avons réalisé l'inoculation bactérienne sur un lit de tourbe avec chacune des trois souches bactériennes (10ml) (Figure 22), suivi 24^h après par une inoculation fongique.



Figure 21 : Stade de trois nœuds



Figure 22 : Lit de tourbe dans un pot de perlite lors de l'inoculation bactérienne.

L'inoculation fongique s'est effectuée selon la méthode « trimmed root dipping », en coupant 1/3 du système racinaire que nous mettrons dans la suspension conidienne durant 5 min (Figure 23) (Haglund, 1989).

Les témoins négatifs (T-), ont été mis uniquement dans de l'eau distillée stérile, tandis que les témoins positifs (T+) sont inoculés avec chacune des suspensions conidiennes (*Fop* R1 et *Fop* R2F42).



Figure 23 : Inoculation fongique (immersion des racines du pois dans la suspension fongique)

2.4. Dispositif expérimental

Les essais expérimentaux ont été réalisés selon un dispositif composé de deux blocs aléatoires complets. Les deux blocs contiennent 240 traitements (12 inoculations \times 5 géotypes \times 4 répétitions) : chacun des blocs renferme 120 traitements (12 inoculations \times 5 géotypes \times 2 répétitions) (Figure 24, tableau 4).



Figure 24 : Dispositif expérimental.

Tableau 4 : Les traitements étudiés

Inoculation Génotypes	EDS	<i>Fop</i> R1	<i>Fop</i> R2 F42	<i>Pf</i> F21	<i>Rlv</i>	Mut <i>Rlv</i>	<i>Fop</i> R1 x <i>Pf</i> F21	<i>Fop</i> R1 x <i>Rlv</i>	<i>Fop</i> R1 x mut <i>Rlv</i>	<i>Fop</i> R2 F42 x <i>Pf</i> F21	<i>Fop</i> R2 F42 x <i>Rlv</i>	<i>Fop</i> R2 F42 x mut <i>Rlv</i>
JI1412	T1	T6	T11	T16	T21	T26	T31	T36	T41	T46	T51	T56
Polar	T2	T7	T12	T17	T22	T27	T32	T37	T42	T47	T52	T57
P615	T3	T8	T13	T18	T23	T28	T33	T38	T43	T48	T53	T58
K.W.P	T4	T9	T14	T19	T24	T29	T34	T39	T44	T49	T54	T59
P21	T5	T10	T15	T20	T25	T30	T35	T40	T45	T50	T55	T60

EDS	Eau distillée stérile
<i>Fop</i> R1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> race 1
<i>Fop</i> R2F42	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> race 2
<i>Pf</i> F21	<i>Pseudomonas fluorescens</i> F21
<i>Rlv</i>	<i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i>
Mut <i>Rlv</i>	Mutant <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i>

2.5. Paramètres étudiés

Pour le suivi du déclenchement et de l'évolution de la fusariose vasculaire du pois, quatre principaux paramètres ont été pris en considération : le taux d'infection, la sévérité de la maladie, poids frais et poids secs de la partie aérienne et souterraine.

L'évaluation des symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire du pois commencera dès l'apparition des premiers symptômes (7 jours après l'inoculation fongique), et se fera tous les trois jours jusqu'aux 35 jours.

Pour le suivi du développement de la maladie, nous avons utilisé une échelle de cinq degrés différentiels représentant les symptômes typiques de la fusariose vasculaire (Figure 25) (Bani et al., 2012).



Figure 25 : Echelle de l'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de pois : (1) feuille verte saine ; (2) début de jaunissement de la feuille ; (3) jaunissement total de la feuille ; (4) début de flétrissement ; (5) flétrissement total et mort de la feuille (Bani et al., 2012).

a) Taux d'infection

Appelé aussi indice de la maladie, évalué au jour 35 après inoculation, en calculant le pourcentage des feuilles symptomatiques sur le nombre total des feuilles pour chaque plante :

$$\text{T.I.}\% = \frac{\text{nombre de feuilles infectées}}{\text{nombre total des feuilles}} \times 100$$

b) Sévérité de la maladie

Ce paramètre peut être calculé suivant cette formule :

$$S = \frac{(1 \times f_1) + (2 \times f_2) + (3 \times f_3) + (4 \times f_4) + (5 \times f_5)}{F}$$

Avec :

f1 : nombre de feuilles présentant le degré 1

f2 : nombre de feuilles présentant le degré 2

f3 : nombre de feuilles présentant le degré 3

f4 : nombre de feuilles présentant le degré 4

f5 : nombre de feuilles présentant le degré 5

F : nombre total des feuilles

Des coupes longitudinales au niveau du collet ont été réalisées afin de mettre en évidence le brunissement des vaisseaux conducteurs de xylème.

c) Poids frais et poids sec

A la fin de l'expérimentation, les poids frais et secs de la racine et de la partie aérienne des plantes ont été mesurés.

Les poids frais de la partie aérienne et souterraine ont été mesurés à l'aide d'une balance de précision, et pour mesurer les poids secs, le matériel végétal a été mis dans une étuve à une température de 150°C durant 48^h.

2.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats a été basée sur l'analyse de la variance (ANOVA) enregistrée dans les traitements. Dans le cas de différences significatives, et afin de déterminer l'amplitude significative des traitements, une comparaison de ces traitements est établie par le test de Newman-Keuls au seuil de risque d'erreur de 5% (Baird et *al.*, 2002). Les tests statistiques sont réalisés par Microsoft Excel 2016.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

1. TAUX D'INFECTION

D'après les résultats obtenus (Figures 26, 27, 28, 29, 30, tableaux 5, 6, 7, 8, 9 et annexe 2, 3), nous constatons que l'évolution du taux d'infection sur les cinq génotypes du pois montre un net recul de la maladie de la fusariose vasculaire du pois chez les traitements bactérisés par rapport aux témoins positifs (*Fop* R1 et *Fop* R2F2).

L'analyse de la variance ANOVA nous a permis de constater qu'il y a une différence significative entre les traitements effectués sur les cinq génotypes (Annexe 3).

Génotypes JI1412 : Nous constatons que la bactérisation avec la souche *P. fluorescens* F21 a marqué une stagnation du taux d'infection avec la souche *Fop* R1 au seuil de 41,07%, alors que l'infection a débuté avec un taux de 0,00%, pour la souche *R. leguminosarum* bv. *viceae* il a marqué une stagnation au seuil 50,46%, alors qu'il a débuté avec 15,00% et pour le mutant de *R. leguminosarum* bv. *viceae* la stagnation a été marquée au seuil de 43,92% alors qu'il a débuté avec 17,78%. L'évolution du taux d'infection chez le témoin malade (*Fop* R1) a été brusque et rapide, en commençant par un indice de 10,00% pour marquer une stagnation au seuil de 55,56% (Figure 26 et tableau 5).



Figure 26 : Exemple de l'expression symptomatologique chez le génotype JI1412.

A : *Fop* R1 ; B : *Fop* R1 × *Pf* F21.

Tableau 5 : Taux d'infection (%) chez le génotype JI1412.

	7	11	14	18	21	25	28	32	35
EDS	0,00 ± 0,00	27,78 ± 4,81	43,89 ± 21,10	46,67 ± 17,64	34,44 ± 15,03	35,56 ± 3,85	39,52 ± 10,72	29,90 ± 8,71	33,60 ± 19,93
Fop R1	10,00 ± 14,14	10,00 ± 14,14	30,00 ± 14,14	26,67 ± 9,43	36,90 ± 28,62	36,90 ± 28,62	42,06 ± 19,08	40,83 ± 1,18	55,56 ± 0,00
Fop R2F42	0,00 ± 0,00	12,50 ± 17,68	0,00 ± 0,00	22,50 ± 3,54	10,00 ± 14,14	10,00 ± 14,14	18,33 ± 2,36	25,89 ± 16,41	35,71 ± 30,30
Fop R1 x Pf F21	0,00 ± 0,00	19,44 ± 17,35	23,33 ± 2,89	6,67 ± 11,55	0,00 ± 0,00	17,78 ± 16,78	20,95 ± 21,44	28,04 ± 5,57	41,07 ± 3,09
Fop R1 x Rlv	15,00 ± 13,23	21,67 ± 20,21	26,11 ± 6,74	38,73 ± 4,89	29,29 ± 12,02	31,11 ± 10,18	36,51 ± 5,50	34,76 ± 5,77	50,46 ± 15,24
Fop R1 x mRlv	17,78 ± 16,78	35,56 ± 3,85	23,33 ± 2,89	31,11 ± 10,18	18,89 ± 20,09	35,95 ± 9,59	36,51 ± 5,50	27,86 ± 7,49	43,92 ± 11,15
Fop R2 x Pf F21	41,67 ± 52,04	11,11 ± 19,25	44,44 ± 26,79	30,56 ± 4,81	17,86 ± 15,57	27,78 ± 25,46	36,67 ± 15,28	36,63 ± 7,32	48,57 ± 9,90
Fop R2 x Rlv	0,00 ± 0,00	11,11 ± 19,25	23,33 ± 2,89	28,89 ± 7,70	20,00 ± 0,00	33,33 ± 0,00	47,62 ± 4,12	38,79 ± 2,10	55,95 ± 11,34
Fop R2 x mRlv	24,44 ± 21,43	19,44 ± 17,35	33,33 ± 28,87	27,62 ± 23,96	22,62 ± 21,53	19,17 ± 18,76	27,78 ± 25,46	33,45 ± 11,95	45,40 ± 13,51

Tableau 6: Taux d'infection (%) chez le génotype Polar

	7	11	14	18	21	25	28	32	35
Polar									
EDS	0,00 ± 0,00	5,00 ± 10,00	5,00 ± 10,00	20,83 ± 15,96	14,82 ± 10,81	20,48 ± 14,72	21,43 ± 18,44	22,50 ± 19,47	49,11 ± 25,48
Fop R1	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	11,25 ± 13,15	10,00 ± 11,55	10,00 ± 11,55	19,64 ± 5,95	14,29 ± 0,00	12,95 ± 10,25	52,78 ± 3,21
Fop R2F42	0,00 ± 0,00	10,00 ± 11,55	6,25 ± 12,50	13,33 ± 16,33	24,58 ± 6,29	27,62 ± 19,75	27,98 ± 17,21	31,34 ± 10,64	66,96 ± 5,15
Fop R1 x Pf F21	0,00 ± 0,00	9,17 ± 10,67	20,54 ± 13,79	22,62 ± 6,87	13,39 ± 10,26	15,38 ± 4,64	15,72 ± 15,76	27,48 ± 10,06	65,97 ± 15,11
Fop R1 x Rlv	12,50 ± 15,96	12,50 ± 15,96	12,14 ± 14,45	25,30 ± 8,10	16,96 ± 12,84	22,52 ± 6,07	33,39 ± 11,27	40,15 ± 9,44	59,79 ± 7,08
Fop R1 x mRlv	0,00 ± 0,00	5,00 ± 10,00	14,17 ± 9,57	12,50 ± 15,96	12,50 ± 8,33	14,88 ± 1,19	14,29 ± 11,66	26,96 ± 4,73	58,45 ± 6,90
Fop R2 x Pf F21	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	25,00 ± 10,00	9,17 ± 10,67	13,33 ± 16,33	19,05 ± 6,45	21,43 ± 8,25	21,88 ± 7,47	65,33 ± 7,54
Fop R2 x Rlv	25,00 ± 19,15	27,92 ± 6,58	31,55 ± 10,89	28,27 ± 10,93	33,33 ± 13,47	44,64 ± 3,57	51,79 ± 6,84	41,48 ± 5,72	89,29 ± 13,68
Fop R2 x mRlv	0,00 ± 0,00	5,00 ± 10,00	10,00 ± 11,55	16,67 ± 0,00	8,33 ± 9,62	22,02 ± 7,62	25,30 ± 8,10	34,24 ± 8,53	65,00 ± 3,33

Génotype Polar : La bactérisation avec la souche *P. fluorescens* F21 a marqué une stagnation du taux d'infection avec la souche (*Fop R2F42*) au seuil de 65,33%, et au seuil de 65,00% avec le mutant de la souche *R. leguminosarum* bv. *viceae*, alors que l'infection a débuté lentement avec un taux de 0,00% pour les deux traitements, tandis que le témoin positif (*Fop R2F42*) a marqué une stagnation au seuil de 66,96% (Figure 27 et tableau 6).

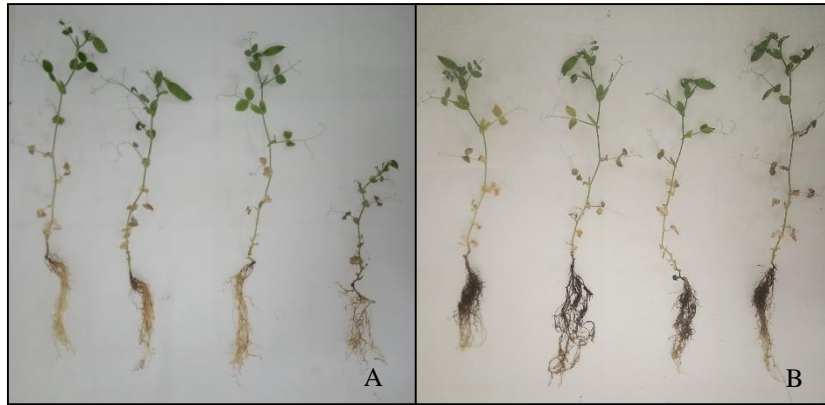


Figure 27 : Exemple de l'expression symptomatologique chez le génotype Polar.
A : *Fop* R2F42 ; B : *Fop* R2F42 × *Pf* F21.

Génotype P615 : En interaction avec la souche fongique *Fop* R2F42, le taux d'infection a marqué une stagnation aux seuils de 82,58% (*P. fluorescens* F21), 64,32% (*R. leguminosarum* bv. *viciae*) et de 81,14% (Mutant de la souche *R. leguminosarum* bv. *viciae*), alors qu'ils ont débuté respectivement avec des taux de 5,00%, 36,55% et 0,00%. Chez le témoin malade, l'évolution du taux d'infection a été brusque, en commençant par un indice de 20,83% (*Fop* R2F42) pour atteindre un maximum de 84,52% durant la dernière observation (Figure 28 et tableau 7).

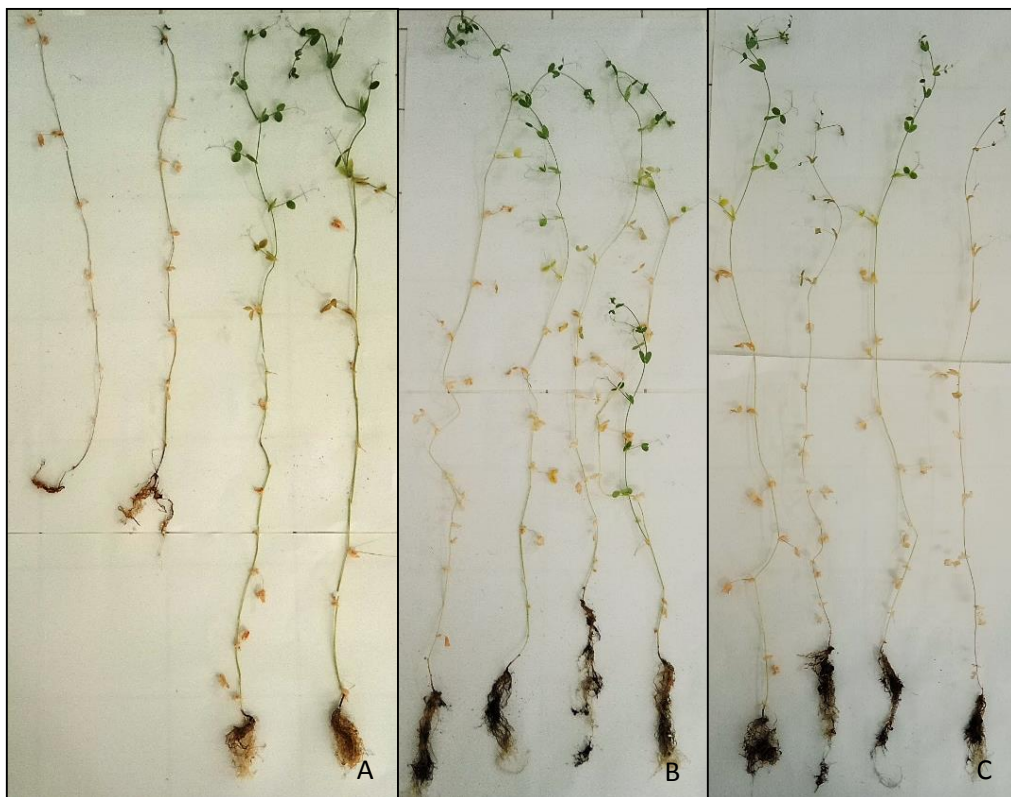


Figure 28 : Expression symptomatologique chez le génotype P615.
A : *Fop* R2F42 ; B : *Fop* R2F42 × *Rlv* ; C : *Fop* R2F42 × mut *Rlv*.

Tableau 7 : Taux d'infection (%) chez le génotype P615.

	7	11	14	18	21	25	28	32	35
P615									
EDS	24,17 ± 10,67	26,67 ± 7,70	19,88 ± 17,64	31,40 ± 11,45	28,57 ± 11,20	29,27 ± 18,10	42,99 ± 5,49	39,05 ± 4,04	60,74 ± 1,60
Fop R1	18,75 ± 14,23	22,50 ± 16,58	24,58 ± 6,29	25,83 ± 16,19	31,55 ± 24,23	29,91 ± 15,39	36,46 ± 10,42	35,76 ± 3,17	53,13 ± 7,27
Fop R2F42	20,83 ± 25,00	14,58 ± 17,18	23,96 ± 16,80	26,73 ± 5,64	22,56 ± 5,27	43,25 ± 10,13	51,79 ± 3,57	40,33 ± 1,43	84,52 ± 17,98
Fop R1 x Pf F21	5,00 ± 10,00	21,31 ± 17,10	13,99 ± 10,40	17,01 ± 14,18	14,92 ± 12,24	21,19 ± 15,85	31,27 ± 12,77	32,54 ± 7,59	60,90 ± 13,26
Fop R1 x Riv	41,67 ± 9,62	41,55 ± 6,90	39,14 ± 4,62	41,37 ± 10,70	45,12 ± 10,54	49,51 ± 11,35	51,01 ± 13,05	39,97 ± 6,87	69,76 ± 20,60
Fop R1 x mRiv	10,42 ± 12,50	11,31 ± 13,93	14,58 ± 10,49	16,67 ± 11,79	21,73 ± 9,24	28,68 ± 6,70	37,91 ± 4,70	28,73 ± 4,53	60,49 ± 10,20
Fop R2 x Pf F21	5,00 ± 10,00	16,25 ± 11,09	16,31 ± 11,97	19,88 ± 6,25	21,73 ± 6,02	34,33 ± 16,15	45,49 ± 5,93	38,93 ± 8,44	82,58 ± 20,16
Fop R2 x Riv	36,55 ± 12,97	37,95 ± 6,74	30,95 ± 2,75	34,85 ± 5,01	43,50 ± 13,01	51,14 ± 2,27	53,41 ± 6,82	40,78 ± 3,17	64,32 ± 6,92
Fop R2 x mRiv	0,00 ± 0,00	5,00 ± 10,00	30,00 ± 11,55	40,83 ± 6,87	27,38 ± 9,01	41,52 ± 2,68	47,62 ± 10,10	39,61 ± 6,93	81,14 ± 17,14

Tableau 8 : Taux d'infection (%) chez le génotype Kelvedon Wonder Peas.

	7	11	14	18	21	25	28	32	35
K.W.P.									
EDS	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	12,50 ± 17,68	10,00 ± 14,14	10,00 ± 14,14	20,00 ± 28,28
Fop R1	0,00 ± 0,00	5,00 ± 10,00	26,25 ± 18,87	26,25 ± 18,87	19,58 ± 14,17	23,33 ± 6,67	22,50 ± 7,39	20,83 ± 20,97	60,83 ± 24,09
Fop R2F42	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	16,25 ± 19,74	20,00 ± 23,09	12,50 ± 14,43	28,75 ± 21,75	28,75 ± 21,75	36,16 ± 29,25	80,00 ± 40,00
Fop R1 x Pf F21	0,00 ± 0,00	6,25 ± 12,50	6,25 ± 12,50	11,25 ± 13,15	10,00 ± 11,55	8,33 ± 9,62	8,33 ± 9,62	7,14 ± 14,29	42,50 ± 17,08
Fop R1 x Riv	34,58 ± 7,12	27,08 ± 4,17	16,25 ± 19,74	12,50 ± 14,43	12,50 ± 14,43	17,50 ± 11,90	21,25 ± 16,52	26,04 ± 17,47	57,92 ± 36,90
Fop R1 x mRiv	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	16,25 ± 19,74	11,25 ± 13,15	28,75 ± 7,50	10,00 ± 11,55	23,39 ± 16,86	6,25 ± 12,50	40,89 ± 24,17
Fop R2 x Pf F21	0,00 ± 0,00	8,33 ± 14,43	6,67 ± 11,55	6,67 ± 11,55	5,56 ± 9,62	12,22 ± 10,72	5,56 ± 9,62	16,19 ± 14,66	55,56 ± 50,92
Fop R2 x Riv	21,67 ± 2,89	15,00 ± 13,23	27,78 ± 4,81	21,67 ± 2,89	38,33 ± 31,75	46,67 ± 46,19	35,00 ± 8,66	45,83 ± 7,22	100,00 ± 0,00
Fop R2 x mRiv	0,00 ± 0,00	13,33 ± 23,09	30,00 ± 8,66	37,78 ± 3,85	27,78 ± 4,81	47,22 ± 24,06	64,44 ± 33,55	61,31 ± 10,76	100,00 ± 0,00

Génotype Kelvedon Wonder Peas:

Avec la souche *P. fluorescens* F21, le taux d'infection a marqué une stagnation aux seuils de 42,50% avec *Fop* R1, et de 55,56% avec *Fop* R2F42, alors que l'infection a débuté avec un taux de 0,00 %. Avec les deux souches *R. leguminosarum* bv. *viceae* mutant de *R. leguminosarum* bv. *viceae*, les taux d'infection ont marqué une stagnation aux seuils de 57,92% et 40,89% respectivement en interaction avec *Fop* R1, en débutant avec des taux de 34,58% (*R. leguminosarum* bv. *viceae*) et 0,00% (mutant de *R. leguminosarum* bv. *viceae*)

(Figure 31 C, D, E). Chez les témoins malades l'évolution de l'indice d'infection chez *Fop* R1 commence par 0,00% pour stagner aux seuils de 60,83%, tandis que chez *Fop* R2F42 il débute avec un taux de 0,00% et atteint à un seuil de 80,00 % (Figure 29 A et B, tableau 8).

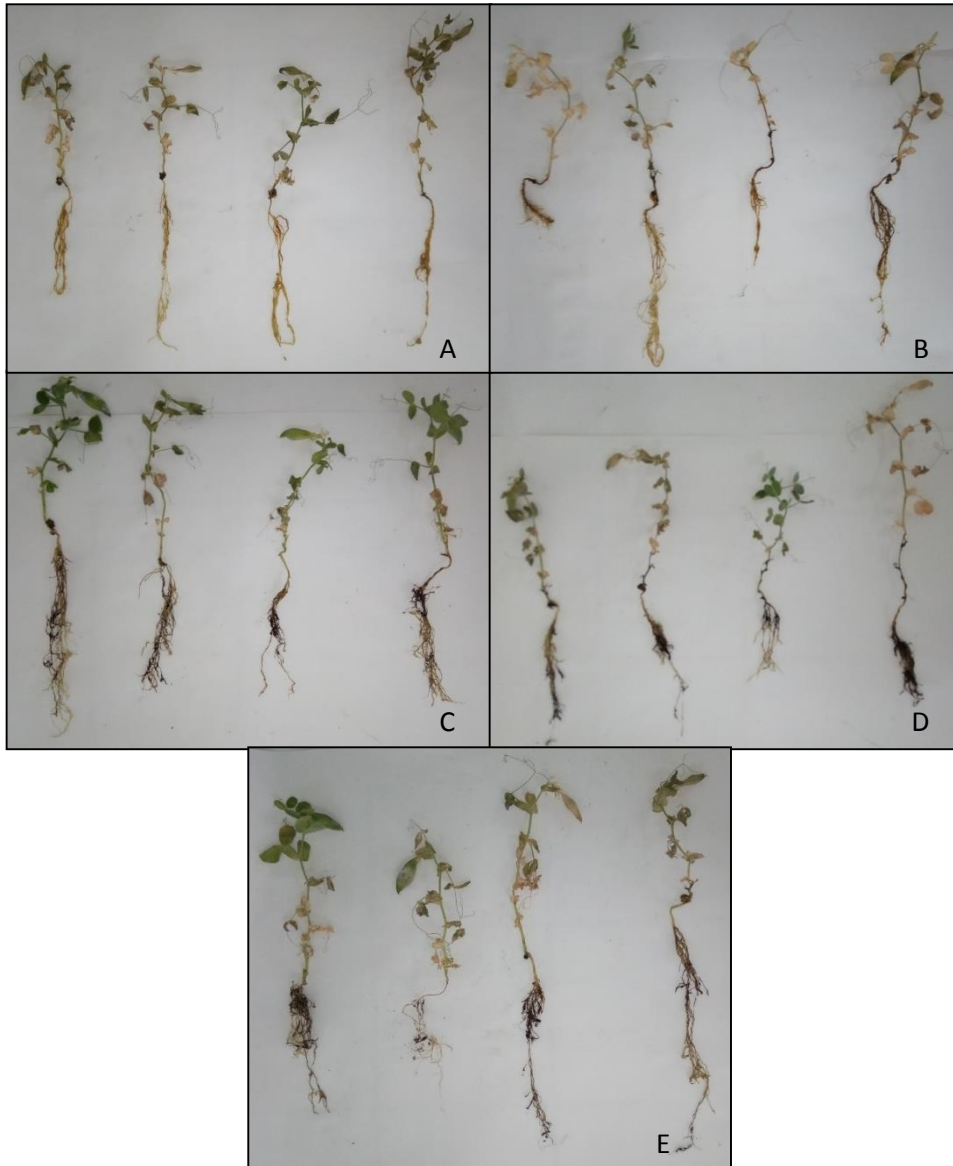


Figure 29 : Expression symptomatologique chez le génotype Kelvedon Wonder Peas.
A : *Fop* R1 ; B : *Fop* R2 ; C : *Fop* R1 × PfF21 ; D : *Fop* R1 × *Rlv* ; E : *Fop* R1 × mut *Rlv*.

Génotype P21 : Le taux d'infection a marqué une stagnation au seuil de 20,65% avec la souche de *P. fluorescens* F21, en interaction avec la souche fongique (*Fop* R1), alors qu'il a débuté avec un taux de 5,00%. Tandis que l'évolution de l'infection a été brusque avec le témoin malade (*Fop* R1) en débutant avec un taux de 16,67% afin de stagner au seuil de 33,60% dans la dernière observation (Figure 30 A et tableau 9).

La bactérisation avec la souche *R. leguminosarum* bv. *viceae* a marqué une stagnation du taux d'infection avec la souche *Fop* R2F42 au seuil de 59,38%, alors qu'il a débuté avec un taux de 15,00%. Nous constatons que la souche de *P. fluorescens* F21 en interaction avec cette même souche pathogène, a diminué la progression de la maladie jusqu'aux 21^{ème} jours, en maintenant le taux d'infection à 0,00%. L'évolution du taux d'infection chez le témoin malade (*Fop* R2F42) a été rapide, en commençant par un indice de 4,17% pour marquer une stagnation au seuil de 67,48% (Figure 30 B, tableau 9).

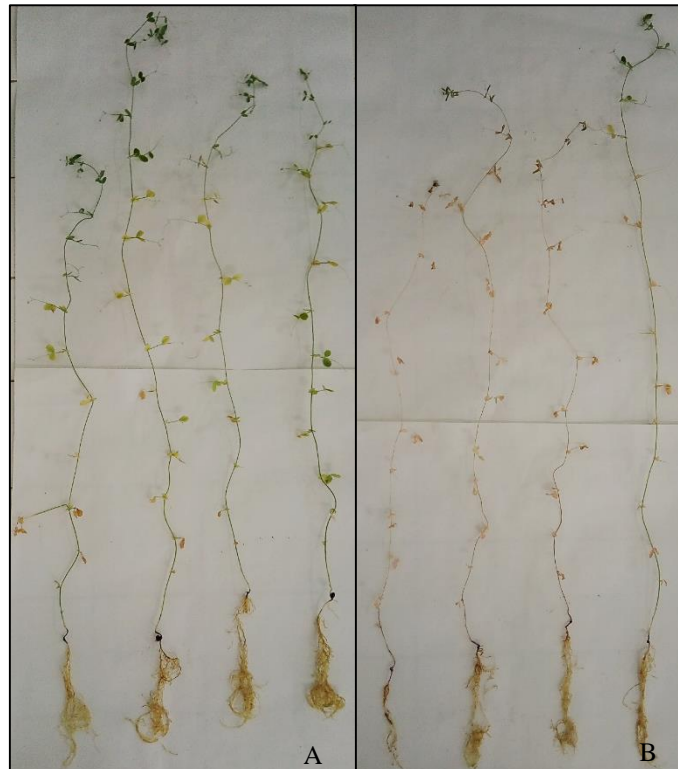


Figure 30 : Expression symptomatologique chez le génotype P21. A : *Fop* R1 ; B : *Fop* R2F42.

Tableau 9 : Taux d'infection (%) chez le génotype P21.

	7	11	14	18	21	25	28	32	35
P21									
EDS	8,33 ± 16,67	11,90 ± 8,02	22,92 ± 7,98	17,41 ± 13,86	16,53 ± 13,61	25,69 ± 5,26	32,34 ± 7,74	38,60 ± 11,62	45,00 ± 17,32
Fop R1	16,67 ± 13,61	12,50 ± 15,96	19,29 ± 13,48	14,38 ± 10,87	16,81 ± 11,39	24,82 ± 7,41	25,78 ± 9,19	26,44 ± 5,00	33,60 ± 5,68
Fop R2F42	4,17 ± 8,33	16,67 ± 13,61	22,02 ± 7,62	12,95 ± 10,25	19,44 ± 5,56	25,00 ± 17,32	41,87 ± 24,72	41,65 ± 16,49	67,48 ± 21,95
Fop R1 x Pf F21	5,00 ± 10,00	18,33 ± 16,44	15,48 ± 1,37	9,13 ± 6,27	13,96 ± 5,60	12,67 ± 5,14	18,43 ± 7,29	19,07 ± 2,08	20,65 ± 2,77
Fop R1 x Rlv	5,00 ± 10,00	5,00 ± 10,00	7,74 ± 8,99	3,13 ± 6,25	12,50 ± 10,21	28,47 ± 5,73	28,75 ± 2,50	28,37 ± 6,73	36,31 ± 6,48
Fop R1 x mRlv	9,17 ± 10,67	20,24 ± 8,80	23,36 ± 17,84	20,38 ± 4,55	19,38 ± 5,15	23,43 ± 6,80	26,25 ± 7,25	24,48 ± 4,51	39,44 ± 11,49
Fop R2 x Pf F21	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	14,77 ± 13,03	42,80 ± 29,55	49,75 ± 4,13	100,00 ± 0,00
Fop R2 x Rlv	15,00 ± 10,00	5,00 ± 10,00	20,24 ± 8,80	17,41 ± 7,49	15,38 ± 11,21	25,49 ± 13,64	29,73 ± 10,02	38,89 ± 16,20	59,38 ± 30,88
Fop R2 x mRlv	26,67 ± 18,05	25,83 ± 21,15	31,31 ± 34,51	35,27 ± 44,71	37,14 ± 43,58	62,41 ± 28,82	80,56 ± 38,89	50,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

2. SEVERITE DE LA MALADIE

D'après nos résultats (Figures 31, tableau 10, 11, 12 et annexe 4, 5), nous constatons qu'il existe une correspondance entre les résultats du taux d'infection et de la sévérité. En comparant nos traitements avec les témoins positifs (*Fop R1* et *Fop R2F42*), nous pouvons constater que la bactérisation des cinq génotypes de pois avec les trois souches bactériennes en interaction avec les deux souches fongiques de *Fop*, a permis de réduire la sévérité de la maladie.



Figure 31 : Coupes longitudinales au niveau du collet du génotype Polar.
 A : EDS ; B : *Fop* R2F42 ; C : *Fop* R2F42 × *Rlv*. La flèche indique le brunissement des vaisseaux conducteurs chez le témoin malade *Fop* R2F42.

L'analyse de la variance ANOVA, nous a permis de constater qu'il y a une différence significative entre les traitements effectués sur les cinq génotypes (Annexe 5).

Chez les témoins sains (EDS), les niveaux de sévérités lors des premières observations (7 jours) sont de l'ordre de 1, leur évolution reste lente et atteint en moyenne le niveau de 1 et 2 au 35^{ème} jour (Tableau 10).

Pour les témoins malades, les niveaux vont de 1 dès les premières observations, leur évolution est dynamique atteignant des valeurs de 2 à 3, voir même supérieurs à 3 lors des dernières observations (Tableau 10).

L'application de la bactérisation avec les trois souches rhizobactériennes, nous permet de constater qu'il y a des symptômes préliminaires allant de niveaux 1 à 2, leur évolution reste lente, et atteint par la suite des niveaux allant de 1 à 3, sauf pour quelques traitements qui atteignent le niveau maximal, due principalement aux anomalies physiologiques et à l'effet délétère des bactéries (Tableaux 11 et 12).

Tableau 10 : Sévérité de la maladie chez les génotypes non bactérisés.

Trait	Génotypes	7	11	14	18	21	25	28	32	35
EDS	J11412	1,00 ± 0,00	1,28 ± 0,05	1,43 ± 0,21	1,52 ± 0,13	1,40 ± 0,17	1,59 ± 0,08	1,52 ± 0,20	1,59 ± 0,57	1,71 ± 0,83
	Polar	1,00 ± 0,00	1,05 ± 0,10	1,05 ± 0,10	1,29 ± 0,28	1,22 ± 0,18	1,45 ± 0,37	1,21 ± 0,18	1,49 ± 0,52	2,30 ± 0,83
	P615	1,24 ± 0,10	1,44 ± 1,20	1,49 ± 0,36	1,77 ± 0,30	1,63 ± 0,39	1,55 ± 0,41	1,90 ± 0,29	1,95 ± 0,33	2,84 ± 0,15
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,13 ± 0,18	1,10 ± 0,14	1,10 ± 0,14	1,50 ± 0,71
	P21	1,08 ± 0,16	1,12 ± 0,08	1,23 ± 0,08	1,17 ± 0,14	1,20 ± 0,17	1,13 ± 0,11	1,41 ± 0,13	1,73 ± 0,35	1,79 ± 0,41
Fop R1	J11412	1,10 ± 0,14	1,10 ± 0,14	1,30 ± 1,14	1,43 ± 0,33	0,76 ± 0,92	1,67 ± 0,47	1,90 ± 0,46	2,31 ± 0,27	2,44 ± 0,31
	Polar	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,21 ± 0,28	1,10 ± 0,12	1,10 ± 0,12	1,39 ± 0,18	1,29 ± 0,16	1,29 ± 0,26	2,38 ± 0,13
	P615	1,18 ± 0,14	1,60 ± 0,62	1,63 ± 0,42	1,73 ± 0,65	1,68 ± 0,58	1,65 ± 0,50	1,75 ± 0,41	1,83 ± 0,21	2,33 ± 0,13
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,05 ± 0,10	1,36 ± 0,34	1,46 ± 0,52	1,46 ± 0,43	1,52 ± 0,21	1,43 ± 0,21	1,50 ± 0,35	2,44 ± 0,58
	P21	1,16 ± 0,13	1,13 ± 0,16	1,19 ± 0,13	1,14 ± 0,11	1,19 ± 0,13	1,27 ± 0,11	1,34 ± 0,11	1,38 ± 0,07	1,52 ± 0,13
Fop R2F42	J11412	1,00 ± 0,00	1,38 ± 0,53	1,00 ± 0,00	1,33 ± 0,11	1,10 ± 0,14	1,10 ± 0,14	1,18 ± 0,02	1,65 ± 0,72	1,86 ± 0,01
	Polar	1,00 ± 0,00	1,10 ± 0,12	1,06 ± 0,13	1,22 ± 0,31	1,35 ± 0,18	1,69 ± 0,31	1,59 ± 0,20	1,58 ± 0,27	2,80 ± 0,13
	P615	1,52 ± 0,62	1,35 ± 0,41	1,68 ± 0,65	1,42 ± 0,23	1,29 ± 0,15	1,79 ± 0,40	1,98 ± 0,22	2,51 ± 0,16	3,91 ± 0,83
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,26 ± 0,38	1,40 ± 0,46	1,25 ± 0,35	1,51 ± 0,47	1,44 ± 0,43	2,06 ± 1,10	3,51 ± 1,66
	P21	1,04 ± 0,08	1,17 ± 0,14	1,22 ± 0,08	1,13 ± 0,10	1,22 ± 0,09	1,33 ± 0,22	1,61 ± 0,41	2,25 ± 1,02	2,60 ± 1,23

Tableau 11 : Sévérité de la maladie chez les génotypes bactérisés en interaction avec *Fop R1*.

Trait	Génotypes	7	11	14	18	21	25	28	32	35
Fop R1 × Pf F21	J11412	1,00 ± 0,00	1,19 ± 0,17	1,40 ± 0,30	1,07 ± 0,12	1,00 ± 0,00	1,29 ± 0,34	1,30 ± 0,37	1,62 ± 0,27	1,90 ± 0,16
	Polar	1,00 ± 0,00	1,09 ± 0,11	1,35 ± 0,28	1,37 ± 0,23	1,20 ± 0,21	1,41 ± 0,04	1,22 ± 0,28	1,64 ± 0,37	3,00 ± 0,61
	P615	1,05 ± 0,10	1,30 ± 0,22	1,18 ± 0,14	1,25 ± 0,29	1,22 ± 0,25	1,24 ± 0,16	1,41 ± 0,19	1,74 ± 0,35	2,83 ± 0,60
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,06 ± 0,12	1,06 ± 0,13	1,11 ± 0,13	1,20 ± 0,28	1,08 ± 0,10	1,17 ± 0,24	1,07 ± 0,41	1,89 ± 0,25
	P21	1,05 ± 0,10	1,18 ± 0,16	1,15 ± 0,01	1,09 ± 0,06	1,14 ± 0,06	1,13 ± 0,05	1,18 ± 0,07	1,30 ± 0,15	1,33 ± 0,14
Fop R1 × Rlv	J11412	1,28 ± 0,30	1,35 ± 0,41	1,37 ± 0,26	1,66 ± 0,06	1,58 ± 0,40	1,67 ± 0,31	1,94 ± 0,24	2,25 ± 0,52	2,45 ± 0,25
	Polar	1,29 ± 0,34	1,29 ± 0,48	1,26 ± 0,41	1,54 ± 0,10	1,41 ± 0,28	1,59 ± 0,32	1,68 ± 0,37	2,22 ± 0,26	2,70 ± 0,17
	P615	1,83 ± 0,30	1,81 ± 0,34	1,89 ± 0,18	1,91 ± 0,22	2,04 ± 0,20	2,21 ± 0,29	2,28 ± 0,43	2,88 ± 1,06	3,13 ± 0,92
	K.W.P.	1,94 ± 0,21	1,69 ± 0,31	1,16 ± 0,20	1,25 ± 0,35	1,13 ± 0,14	1,30 ± 0,32	1,41 ± 0,54	2,14 ± 0,92	2,53 ± 1,07
	P21	1,05 ± 0,10	1,05 ± 0,10	1,08 ± 0,09	1,03 ± 0,06	1,13 ± 0,10	1,28 ± 0,06	1,31 ± 0,06	1,43 ± 0,21	1,53 ± 0,27
Fop R1 × mut Rlv	J11412	1,18 ± 0,17	1,58 ± 0,37	1,23 ± 0,03	1,61 ± 0,36	1,38 ± 0,40	1,45 ± 0,24	1,74 ± 0,09	1,89 ± 0,21	2,01 ± 0,28
	Polar	1,00 ± 0,00	1,05 ± 0,10	1,22 ± 0,21	1,21 ± 0,32	1,13 ± 0,08	1,45 ± 0,04	1,36 ± 0,25	1,65 ± 0,17	2,63 ± 0,20
	P615	1,10 ± 0,13	1,19 ± 0,23	1,29 ± 0,25	1,29 ± 0,25	1,34 ± 0,22	1,45 ± 0,12	1,64 ± 0,14	1,84 ± 0,17	2,87 ± 0,33
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,16 ± 0,20	1,21 ± 0,28	1,29 ± 0,08	1,10 ± 0,12	1,41 ± 0,35	1,06 ± 0,13	1,83 ± 0,66
	P21	1,09 ± 0,11	1,20 ± 0,09	1,23 ± 0,18	1,20 ± 0,05	1,24 ± 0,12	1,33 ± 0,14	1,48 ± 0,10	1,41 ± 0,24	1,59 ± 0,33

Tableau 12 : Sévérité de la maladie chez les génotypes bactérisés en interaction avec la souche *Fop* R2F42.

Trait.	Génotypes	7	11	14	18	21	25	28	32	35
<i>Fop</i> R2F42 × <i>Pf</i> F21	Jl1412	2,14 ± 1,38	1,11 ± 0,19	1,89 ± 0,77	1,64 ± 0,38	1,57 ± 0,52	1,71 ± 0,62	1,75 ± 0,53	2,02 ± 0,47	2,27 ± 0,46
	Polar	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,25 ± 0,10	1,09 ± 0,11	1,22 ± 0,31	1,43 ± 0,19	1,46 ± 0,24	1,69 ± 0,22	2,92 ± 0,31
	P615	1,10 ± 0,00	1,16 ± 0,11	1,38 ± 0,43	1,46 ± 0,29	1,53 ± 0,29	1,54 ± 0,40	1,75 ± 0,30	2,17 ± 0,52	3,71 ± 0,92
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,08 ± 0,14	1,20 ± 0,35	1,20 ± 0,35	1,17 ± 0,29	1,23 ± 0,25	1,17 ± 0,29	1,29 ± 0,34	2,56 ± 1,36
	P21	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,17 ± 0,17	1,68 ± 0,59	3,52 ± 0,71	4,24 ± 0,12
<i>Fop</i> R2F42 × <i>Rlv</i>	Jl1412	1,00 ± 0,00	1,11 ± 0,19	1,32 ± 0,16	1,57 ± 0,33	1,33 ± 0,12	1,61 ± 0,10	1,95 ± 0,08	2,27 ± 0,14	2,45 ± 0,52
	Polar	1,55 ± 0,38	1,63 ± 0,31	1,86 ± 0,35	1,76 ± 0,43	1,81 ± 0,36	2,03 ± 0,22	2,45 ± 0,24	3,02 ± 0,27	3,61 ± 0,21
	P615	1,78 ± 0,45	1,75 ± 0,36	1,74 ± 0,18	1,77 ± 0,21	1,82 ± 0,37	2,07 ± 0,31	2,41 ± 0,30	2,91 ± 0,31	2,92 ± 0,33
	K.W.P.	1,65 ± 0,09	1,45 ± 0,40	1,67 ± 0,38	1,48 ± 0,20	1,88 ± 0,33	2,13 ± 0,76	1,62 ± 0,32	3,98 ± 0,89	4,28 ± 0,63
	P21	1,15 ± 0,10	1,05 ± 0,10	1,20 ± 0,89	1,17 ± 0,07	1,19 ± 0,16	1,34 ± 0,23	1,47 ± 0,30	1,84 ± 0,80	2,38 ± 1,38
<i>Fop</i> R2F42 × mut <i>Rlv</i>	Jl1412	1,24 ± 0,21	1,25 ± 0,25	1,47 ± 0,41	1,49 ± 0,44	1,51 ± 0,68	1,48 ± 0,67	1,63 ± 0,70	1,93 ± 0,70	2,27 ± 0,68
	Polar	1,00 ± 0,00	1,05 ± 0,10	1,20 ± 0,28	1,33 ± 0,19	1,25 ± 0,29	1,59 ± 0,19	1,57 ± 0,10	1,97 ± 0,28	3,09 ± 0,23
	P615	1,00 ± 0,00	1,05 ± 0,10	1,35 ± 0,10	1,53 ± 0,15	1,35 ± 0,18	1,72 ± 0,02	1,95 ± 0,23	2,39 ± 0,41	3,34 ± 0,53
	K.W.P.	1,00 ± 0,00	1,27 ± 0,46	1,30 ± 0,90	1,51 ± 0,25	1,39 ± 0,24	1,83 ± 0,60	2,09 ± 0,79	3,33 ± 0,61	5,00 ± 0,00
	P21	1,37 ± 0,33	1,51 ± 0,68	1,51 ± 0,73	1,99 ± 0,62	2,01 ± 1,60	2,52 ± 1,15	3,23 ± 1,54	4,37 ± 0,38	4,67 ± 0,36

3. POIDS FRAIS ET POIDS SEC

D'après les résultats obtenus (Tableau 13 et 14, annexe 6), nous constatons que la bactérisation des génotypes de pois avec les trois souches bactériennes a augmenté considérablement les biomasses fraîches et sèches des parties aériennes et souterraines chez certains traitements.

Nous remarquons généralement un effet de phytostimulation des bactéries des parties aériennes et souterraines comparés aux témoins sains (EDS), à titre d'exemple chez le génotype **Polar** qui a enregistré des poids frais de 1,189 (EDS), 2,279 (*Pf* F21), 1,907 (*Rlv*), 2,029 (mut *Rlv*) (partie aérienne), et de 0,275 (EDS), 0,710 (*Pf* F21), 0,715 (*Rlv*), 0,890 (mut *Rlv*) (partie souterraine), ainsi que chez le génotype **Kelvedon Wonder Peas**, qui a enregistré des poids frais de 0,571 (EDS), 1,372 (*Pf* F21), 1,307 (*Rlv*), 0,976 (mut *Rlv*) (partie aérienne). Nous avons enregistré aussi chez le génotype **Jl1412** des poids secs de 0,134 (EDS), 0,267 (*Pf* F21), 0,161 (*Rlv*), 0,553 (mut *Rlv*) (partie aérienne), et chez le génotype **P615** des poids secs de 0,138 (EDS), 0,218 (*Pf* F21), 0,169 (*Rlv*), 0,225 (mut *Rlv*) (partie souterraine) (Tableau 13).

En comparant l'effet de la phytostimulation des bactéries sur les cinq génotypes étudiés, nous constatons qu'il y a plus d'action sur les biomasses fraîche et sèche aériennes que souterraines, à titre d'exemple chez le génotype **Jl1412** (Tableau 13).

Nous remarquons aussi certains effets de bioprotection des trois bactéries, comme chez le génotype **Polar** qui a enregistré des poids frais de 1,263 (*Fop* R1),

2,048 (*Fop R1*×*Pf F21*) (partie aérienne), chez le génotype **P615** qui a enregistré des poids secs de 0,175 (*Fop R2F42*), 0,305 (*Fop R2F42*×*Rlv*) (partie aérienne), et de 0,147 (*Fop R1*), 0,247 (*Fop R1*×*Pf F21*) (partie souterraine). Et aussi chez le génotype **J11412**, qui a enregistré des poids frais de 0,346 (*Fop R2F42*), 0,780 (*Fop R2F42*×*mut Rlv*) (partie souterraine) (Tableau 14 et annexe 7).

Tableau 13 : Poids frais et poids secs (g) des parties aériennes et souterraines des témoins saints et bactérisés pour les génotypes J11412, Polar, P615 et Kelvedon Wonder Peas.

Traitement		J11412	Polar	P615	K.W.P.
		Poids sec	Poids frais	Poids sec	Poids frais
EDS	Partie aérienne	0,134 ± 0,053	1,189 ± 0,502	0,282 ± 0,010	0,571 ± 0,249
	Partie sous-terrine	0,096 ± 0,029	0,275 ± 0,106	0,138 ± 0,011	0,291 ± 0,227
Pf F21	Partie aérienne	0,267 ± 0,081	2,279 ± 0,236	0,361 ± 0,029	1,372 ± 0,412
	Partie sous-terrine	0,102 ± 0,065	0,710 ± 0,244	0,218 ± 0,063	0,428 ± 0,141
Rlv	Partie aérienne	0,161 ± 0,086	1,907 ± 0,146	0,285 ± 0,048	1,307 ± 0,260
	Partie sous-terrine	0,073 ± 0,032	0,715 ± 0,117	0,169 ± 0,050	0,584 ± 0,313
mut Rlv	Partie aérienne	0,553 ± 0,536	2,029 ± 0,165	0,372 ± 0,081	0,976 ± 0,415
	Partie sous-terrine	0,128 ± 0,036	0,890 ± 0,248	0,225 ± 0,083	0,596 ± 0,115

Tableau 14 : Poids frais et poids secs (g) des parties aériennes et souterraines des témoins malades et traités pour les génotype J11412, Polar et P615.

Traitement		J11412	Polar	P615	K.W.P.
		Poids frais	Poids frais	Poids sec	Poids sec
Fop R1	Partie aérienne	1,152 ± 0,074	1,263 ± 0,184	0,234 ± 0,042	0,228 ± 0,024
	Partie sous-terrine	0,909 ± 0,019	0,543 ± 0,121	0,147 ± 0,003	0,067 ± 0,017
Fop R2F42	Partie aérienne	0,690 ± 0,039	1,199 ± 0,593	0,175 ± 0,062	0,131 ± 0,040
	Partie sous-terrine	0,346 ± 0,247	0,349 ± 0,099	0,084 ± 0,039	0,070 ± 0,032
Fop R1 * PfF21	Partie aérienne	1,452 ± 0,077	2,048 ± 0,282	0,323 ± 0,060	0,271 ± 0,010
	Partie sous-terrine	0,596 ± 0,157	0,585 ± 0,083	0,247 ± 0,032	0,066 ± 0,023
Fop R2F42* Rlv	Partie aérienne	1,066 ± 0,047	0,931 ± 0,312	0,305 ± 0,065	0,179 ± 0,046
	Partie sous-terrine	0,483 ± 0,222	0,375 ± 0,135	0,163 ± 0,036	0,046 ± 0,004
Fop R2F42* mutRlv	Partie aérienne	1,052 ± 0,447	1,240 ± 0,591	0,242 ± 0,060	0,113 ± 0,036
	Partie sous-terrine	0,780 ± 0,582	0,525 ± 0,244	0,155 ± 0,039	0,019 ± 0,002

4. DISCUSSION

Les résultats obtenus dans le test de biocontrôle, concordent avec ceux déjà obtenus dans plusieurs recherches sur des essais réalisés sous serre ou en plein champ (Benchabane, 2005 ; Toua et *al.*, 2013 ; Ouserir, 2009 ; Yala, 2016). Ces essais montrent l'effet bénéfique des rhizobactéries en tant qu'agent de biocontrôle contre les agents pathogènes telluriques (Lemanceau, 1992).

Ces essais montrent que l'utilisation des trois souches bactériennes a permis de réduire l'infection de la maladie ainsi que sa sévérité tout en stimulant la croissance de la plante. Selon les résultats obtenus, nous constatons que la bactérie

la plus performante est la souche de *P. fluorescens* F21, suivi par la souche mutante de *R. leguminosarum* bv. *viceae*.

La bactérisation a augmenté considérablement la biomasse chez les génotypes sensibles et partiellement résistants, et cela peut s'expliquer par le fait que l'action phytostimulatrice des bactéries s'exprime surtout en conditions défavorables (génotypes sensibles et partiellement résistants) par le renforcement de la structure morphologique de la plante.

La réduction de la sévérité de la maladie causée par *Fop* au cours de notre essai sous serre, peut être expliquée par plusieurs mécanismes. Il paraît clairement que ces mécanismes responsables sur les effets de certaines rhizobactéries reposent sur leur activité antagoniste, par la production des métabolites secondaires qui ont un effet suppressif sur l'action de l'agent phytopathogène (Paul et Nair, 2008). L'augmentation de la sévérité de la maladie chez certaines interactions (rhizobactérie × pathogène), peut être expliquée par l'effet délétère des bactéries. Cette effet dépend largement des conditions de l'environnement défavorable (Bakker et al., 1986). Il est probable aussi qu'il existe dans la rhizosphère une compétition entre la plante et les microorganismes envers certains éléments minéraux. Ainsi, en condition expérimentale, la pseudobactine extraite par *Pseudomonas* fluorescents séquestre le fer et empêche son assimilation par de jeunes plantes de pois et de maïs, provoquant une chlorose généralisée (Becker et al., 1985)

Les maladies engendrées par le champignon tellurique phytopathogène *F. oxysporum* f.sp. *pisi* ; agent de la fusariose vasculaire du pois, causent des pertes économiques considérables.

La lutte biologique est une approche importante pour la gestion des maladies des plantes. Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés (Thakore, 2006).

Parmi les agents exploités en lutte biologique vis-à-vis de la fusariose vasculaire, les rhizobactéries ou les PGPR, ont été reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle (Bloemberg et Lugtenberg, 2001). Les effets des rhizobactéries peuvent permettre non seulement de stimuler la croissance des plantes mais aussi de s'opposer aux agents pathogènes (Weller ; 1988).

Plusieurs mécanismes peuvent être impliqués pour donner l'effet de bioprotection des rhizobactéries. Ces mécanismes reposent sur la production de différents métabolites bactériens : la production des sidérophores, d'antibiotiques, des substances de croissance, de lipopolysaccharides, et la solubilisation des minéraux (Gupta et al., 2000). Les rhizobactéries ont été étudiés comme agents potentiels de lutte contre la fusariose vasculaire du pois. Ces bactéries doivent avant tout coloniser la rhizosphère concernée, et cela implique un chimiotactisme

envers les exsudats racinaires, une adsorption des microorganismes sur les racines, et enfin une compétition pour les substrats nutritifs présents, afin d'occuper ce site privilégié et d'empêcher la croissance d'autres microorganismes, dont le pathogène responsable de la fusariose vasculaire du pois (Jacques et *al.*, 1993 ; Kanchana et *al.*, 2013).

Les *Pseudomonas* fluorescents, et notamment *P. fluorescens* F21 assurent de multiples actions phytobénéfiques, tel que la phytostimulation de la croissance des plantes, la bioprotection contre plusieurs agents phytopathogènes (Leong et *al.*, 1986), l'induction de la résistance systémique chez les plantes (Bakker et *al.*, 2007) et la stimulation des interactions entre la microflore symbiotique et la plante hôte (Howell et *al.*, 1987).

Plusieurs études ont récemment montré qu'en plus de la stimulation de la nodulation et la fixation d'azote, l'inoculation des *Rhizobium* avec d'autres souches PGPR, augmenterait la croissance et le rendement des légumineuses (Ott et *al.*, 2005).

Le problème le plus important qui rend le succès de l'utilisation des PGPR incertain en agriculture, provient de leur inconstance à promouvoir la croissance des plantes, et selon les conditions d'expérimentation, les souches rhizobactériennes peuvent se révéler efficaces lors d'un essai et inefficaces lors du suivant. Cette variabilité peut s'expliquer par les facteurs biotiques et abiotiques affectant la survie et les effets des PGPR dans la rhizosphère. Il est donc important de comprendre les premières étapes de l'établissement de l'association PGPR-plante afin d'optimiser les succès de la colonisation racinaire.

CONCLUSION

La quête d'alternatives pouvant remplacer la lutte chimique pour contrôler les maladies phytopathogène est devenue une obligation à l'heure actuelle. Les travaux de la recherche ont permis l'identification des microorganismes antagonistes et la mise au point de préparations microbiennes permettant de lutter contre les champignons responsables des maladies racinaires des plantes (Pandey et *al.*, 1982). Ces microorganismes bénéfiques qui cohabitent la rhizosphère sont appelés des rhizobactéries.

Les rhizobactéries, et plus particulièrement *Pseudomonas* spp. fluorescent et *Rhizobium* spp., sont bien connues pour leur capacité de stimuler la croissance des plantes et de réduire l'effets des agents phytopathogène en raison de la diversité des métabolites antimicrobiens qu'ils produisent (Nutman, 1976 ; Dias et *al.*, 2014).

D'après notre expérimentation, l'application des trois souches rhizobactériennes, en tant qu'agents de lutte contre la fusariose vasculaire de pois, nous a permis de mettre en évidence des potentialités de biocontrôle chez ces souches étudiées.

Le teste d'inhibition *in situ*, montre que les trois souches antagonistes ont permis de réduire considérablement l'infection de la maladie causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* et sa sévérité, ayant un effet direct sur l'augmentation de la biomasse chez les parties aériennes et souterraines

Pour des études plus précises, il faudrait considérer une échelle plus détaillée pour la sévérité de la maladie, prenant en compte les composantes principales de la résistance telle que les périodes d'incubation et de latence.

Plus les mécanismes mis en œuvre seront variés, plus l'efficacité de l'inoculation microbienne sera assurée. Pour atteindre cet objectif, deux stratégies peuvent être poursuivies : l'une consiste à utiliser une souche microbienne apte à synthétiser différents métabolites intéressants, l'autre consiste à la co-inoculation de microorganismes différents permettant de diversifier les mécanismes responsables d'effets bénéfiques (Lemenceau, 1992).

Nous souhaitons continuer les recherches sur les effets antagonistes des rhizobactéries, surtout dans des conditions contrôlées, afin de mieux comprendre certains mécanismes d'action qui peuvent être spécifiques selon les souches.

Pour la poursuite de ce travail, il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations par d'autres souches qui ont démontrées leur efficacité antagoniste, et surtout de travailler sur des génotypes locaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afzal A., Bano A., 2008. *Rhizobium* and phosphate solubilizing bacteria improve the yield and phosphorus uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int J Agric Biol*, 10 : 85-88.
- Agrios, G.N., 2005. *Plant Pathology*. 5th ed, Elsevier Academic Press, California 92101, 524-539.
- Alabouvette C., 1983. La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse doctorat sciences naturelles, univ Nancy, 158p.
- Ali S.K.Z., Sandhya M., Grover N., Kishore L.V., Rao B. et Venkateswarlu B., 2009. *Pseudomonas* sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biol. Fert. Soils.*, 46 : 45-55.
- Alten H. (von), Lindermann A., Schon B. F., 1991. Increasing VA-mycorrhization with application of rhizosphere bacteria. In : Kleister D.L., Cregan P.B. *The rhizosphere and plant growth*. Kluwer Acad Publ, 381p.
- Amini J., Sidovich D.F., 2010. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* associated with *Fusarium* wilt of tomato. *Journal of plant protection research*, 50, 2 : 172-173.
- Anderson A.J., Guerra D., 1985. Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in hydroponic system. *Phytopathology*, 75 : 992-995.
- Antoun H., Bordeleaul L. M., Gagnon C. et Lachance R. A., 1978. Effet du dextrose et de l'extrait de levure sur l'interaction entre deux espèces de *Rhizobium* et quelques champignons. *Phytoprotection* 5, 9 : 558-562.
- Arib H., 1998. Isolement et caractérisation des *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* de la Région de Beni Abbes. Mémoire pour l'obtention du D.I.E, Institut d'Agronomie, Centre Universitaire de Mascara : 07-08.
- Arkhipova T.N., Veselov S.U., Melantiev A.I., Marty N.E.V., Kudoyerova G.R., 2005. Ability of bacterium *Bacillus* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. *Plant and Soil*, 272 : 201-209.
- Arora N.K., Kang S.C., Maheshwari D.K., 2001. Isolation of siderophore producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Curr Sci* 81 : 673-677.
- Aslantas R., Cakmakci R., Sahin F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apples trees growth and fruit yield under orchard conditions. *Sci Hort*, 111, 4 : 371-377.
- Assigbetse K. B., 1993. Pouvoir Pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (Atk) SN. Et H. : Agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de Doctorat. Université de Montpellier II, Paris : 23-28.
- Baird D.B., Harding S.A., Lane P.W., Murray D.A., Payne R.W., Soutar D.M., 2002. *Genstat for Windows. Introduction*, 6th ed. Oxford, UK : VSN International.

- Bais H.P., Weir.T.L., Perry L.G., Gilroy S. et Vivanco J.M. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plnt Biol*,57: 233-266.
- Bakker P.A.H.M., Lammers J.G., Bakker A.W., Marugg J.D., Weisbeek P.J., Schippers B., 1986. The role of siderophores in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in short rotation of potato. *Neth J Plant Pathol*, 92 : 249-256.
- Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., et Van Loon L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 97 2 : 239-243.
- Banasco P., Gaultieri G., Noya F., Arias A., 1998. Fluorescent *Pseudomonas* sp. as biocontrol agents against forage legume root pathogenic fungi. *Soil Biol. Biochem.* 10 : 1317-1323.
- Bani M., Rubiales D. et Rispaïl N., 2012. A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection. *Plant Pathology*. 61 : 532-542.
- Bano A. et Fatima M., 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biol. Fert. Soils*, 45 : 405-413.
- Barriuso J., Solano B.R., Lucas J.A., Lobo A.P., Villaraco A.G., Manero F.J.G., 2008. *Ecology, genetic diversity and screening strategies of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 1-17.
- Becker J. O., Hedges R. W. et Messens E., 1985. Inhibitory effects of Pseudobactine on the up take of iron by higher plants. *App. Environ. Mbobwl*, 49 : 1090-1093.
- Beckman C.H. et Roberts E.M., 1995. On the nature and genetic basis for resistance and tolerance of fungal wilt diseases. *Advances in Botanical Research*, 21: 35-77.
- Beckman C.H., 1987. *The nature of wilt diseases of plants*. American Phytopathological Society, St Paul. MN., USA. 175p.
- Beckman C.H., Mace M.E., Halmos S. et McGahan M.W., 1961. Physical barriers associated with resistance in *Fusarium* wilt of bananas. *Phytopathology*, 51 : 507-515.
- Benchabane M., 2005. Caractérisation des effets d'antagonisme microbien et de promotion de la croissance végétale de souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents . Thèse de doctorat. FSB-UTHB, Alger, 235p.
- Benhamou N. et Garand C., 2001. Cytological Analysis of Defense-Related Mechanisms Induced in Pea Root Tissues in Response to Colonization by Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. *Phytopathology*., 91, 8 :730-40.
- Biddle J.A. et Cattlin N.D., 2007. *Pests and diseases of peas and beans : a colour handbook*. Manson Publishing, 128p.

- Bishop C.D. et Cooper R.M., 1983a. An ultrastructural study of root invasion of three vascular wilt diseases. *Physiological Molecular Plant Pathology*, 22 : 15-27.
- Bishop C.D. et Cooper R.M., 1983b. An ultrastructural study of root invasion in three vascular wilt diseases 1. Colonization of susceptible cultivars. *Physiological Plant Pathology*, 23 : 323-343.
- Bitter W., Marugg J.D., de Weger L.A., Tommassen J., Weibeek P.J., 1991. The ferric-pseudobactin receptor PupA of *Pseudomonas putida* WCS358: homology to TonB-dependent Escherichia coli receptors and specificity of the protein. *Mol Microbiol*, 5 : 647-655.
- Bloemberg G.V. et Lugtenberg B.J., 2001. Molecular basis of Plant Growth Promoting and Biocontrol by Rhizobacteria. *Current Opinions in Plant Biology*, 4: 343-350.
- Bohloul B.B., Ladha J.K., Garrity D.P. et George T., 1992. Biological nitrogen fixation for sustainable agriculture. A perspective. *Plant Soil*, 141: 1-11.
- Boiero L., Perrig D., Masciarelli O., Penna C., Cassan F., Luna V., 2007. Phytohormone production by three strains of Bradyrhizobium japonicum and possible physiological and technological implications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 74 : 874-880.
- Bordeleau L. M., 1989. Potentiel du *Rhizobium* comme agent de lutte biologique. *Phymprotecron*. 70 : 31-41.
- Bouhot D., 1981. Some aspects of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on Cucurbitaceae. In : Nelson P.E., Toussoun T.A. et Cook R.J. *Fusarium. Diseases, biology, and taxonomy*. The Pennsylvania State University Press : 318-326.
- Bouizgarne B., El-Maarouf-Bouteau H., Frankart C., Rebutier D., Madiona K., Pennarun A.M., Monestiez M., Trouverie J., Amiar Z., Briand J., Brault M., Rona J.P., Ouhdouch Y., El Hadrami I., Bouteau F., 2006. Early physiological responses of Arabidopsis thaliana cells to fusaric acid: toxic and signalling effects. *New Phytol.*, 169, 1 :209-18.
- Bounaga N., 1975. Germination de microconidies et macroconidies de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*. 66 : 39-44.
- Burgess L. W. et Liddell C. M., 1983. *Laboratory manual for Fusarium research*. University of Sydney, 162p.
- Choudhary D.K. et Johri B.N., 2009. Interactions of Bacillus spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164, 5 : 493-513.
- Cook R.J., Sitton J.W., Haglund W.A., 1987. Increased growth and yield responses of wheat to reductions in the Pythium population by soil treatments. *Phytopathology*, 77 : 1192-1198.

- Cornelis P., 2008. The 'core' and 'accessory' regulons of *Pseudomonas*-specific extracytoplasmic sigma factors. *Molecular Microbiology*, 68, 4 : 810-812.
- Correll J. C., Puhalla J.E. et Schneider R.W., 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. *Phytopathol.*, 76 : 396-400.
- Cousin R., 1997. Peas, *Pisum sativum* L. *Field Crops Research*, 53 : 111-130.
- Coyne C.J., Inglis D.A., Whitehead S.J., Muehlbauer F.J., 2000. Chromosomal location of Fwf in pea. *Pisum Genetics*, 32 : 20-22.
- Cullimore J.V., Ranjeva R. et Bono J.J., 2001. Perception of lipochitooligosaccharidic Nod factors in legumes. *Trends Plant Sci*, 6 : 24-30.
- Czymmek K.J., Fogg M., Powell D.H., Sweigard J., Park S.Y., Kang S., 2007. *In vivo* time-lapse documentation using confocal and multi-photon microscopy reveals the mechanisms of invasion into the *Arabidopsis* root vascular system by *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genet. Biol.*, 44 : 1011-1023.
- Daniel J.T., Templeton G.E., Smith R.J. Jr., et Fox W.T., 1973. Biological control of northern jointvetch in rice with an endemic fungal disease. *Weed Sci*, 21 : 303-307.
- Defago G., Haas D., Berling C.H., Burger U., Keel C., Voisard C., Wirthner P., Wuthrich B., 1990. Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In: Hornby D., *Biological control of soil-borne plant pathogens*, CAB Int, 93-108.
- Défago G., Kern H., Sedlar L., 1983. Genetic analysis of tomatine insensitivity, sterol content and pathogenicity for green tomato fruits in mutants of *Fusarium solani*. *Physiology Molecular Plant Pathology*, 22 : 39-43.
- Denarie J., Debelle F., et Rosenberg C., 1992. Signaling and host range variation in nodulation. *Annu Rev Microbiol*, 46 : 497-531.
- Dey R., Pal K.K., Bhatt D.M. et Chauhan S.M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbio.Res.*, 159 : 371-394.
- Di Pietro A., Madrid M.P., Caracuel Z., Delgado-Jarana J., Roncero M.I.G., 2003. *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Molecular Plant Pathology*, 4 : 315-325.
- Dias A., pacheco R.S., santos S.G.D., xavier G.R., rumjanek N.G., ribeiro R.D.L.D., 2014. Screening of fluorescent rhizobacteria for the biocontrol of soilborne plant pathogenic fungi. *Revista Caatinga*, 27, 2 : 1-9.
- Digat B., Gaudillat M., Labadie J.M., 1990. Susceptibility of various tomato and lettuce genotypes to plantgrowth- promoting *Pseudomonas*. *Symbiosis*, 9 : 295-303.
- Djibaoui R. et Bensoltane A., 2005. Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Biotechnology*, 4 : 697-702.

- Dobbelaere S., Vanderleyden J., Okon Y., 2003. Plant growth promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Plant Sci.*, 22 : 107-149.
- Downie J.A., 2005. Legumehaemoglobins : symbiotic nitrogen fixation needs bloody nodules. *Current Biology.*, 15 : 6.
- Duniway J.M., 2002. Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. *Phytopathology*, 92, 12 / 1337-1343.
- Elad Y., Baker R., 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamyospore germination of *Fusarium* spp by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 75 : 1053-1059.
- Elad Y., Chet I., Baker R., 1987. Increased growth response of plants induced by rhizobacteria antagonistic to soilborne fungi. *Plant Soil*, 98 : 325-330.
- Enoch D. A., Simpson A. J. et Kibbler C. C., 2004. Predictive value of isolating *Pseudomonas aeruginosa* from aerobic and anaerobic blood culture bottles. *Journal of Medical Microbiology*, 53, 11 : 1151-1154.
- Fallahzadeh-Mamaghani V., Ahmadzadeh M. et Sharifi R., 2009. Screening systemic resistance inducing fluorescent pseudomonads for control of bacterial blight of cotton Caused By *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *Journal of plant pathology*, 91, 3 : 663-670.
- Fernando W.G., Dilantha N.S. et Zhang Y., 2005. Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases. In Siddiqui Z.A., *PGPR: Biocontrol and biofertilization*. Springer, Netherlands, 313 p.
- Fischer S. E., Jofre E. C., Cordero P. V., GutierrezManero F. J., Mori G. B., 2009. Survival of native *Pseudomonas* in soil and wheat rhizosphere and antagonist activity against plant pathogenic fungi. Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo CEU, Boadilladel Monte, Madrid, Espana
- Gage D.J., 2004. Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobium during nodulation of temperate legumes. *Microbiol Mol Biol Rev.* 68 : 280-300.
- Gams W. et Nirenberg H.I., 1989. A contribution to the genetic definition *Fusarium*. *Mycotaxon*, 35 : 407-416.
- Gill P.R., Warren G.J., 1988. An iron-antagonized fungistatic agent that is not required for iron assimilation from a fluorescent rhizosphere pseudomonad. *J Bacteriol*, 170 : 163-170.
- Glick B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.*, 41 : 109-117.
- Glick B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, Article ID 963401. doi:<http://dx.doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Glick B.R., Penrose D. et Li J., 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of Theoretical Biology*, 190 : 63-68.
- Goth R.W., Webb R.E., 1981. Sources and genetics of host resistance in vegetable crops. In: Mace M.E., Bell A.A., Beckman C.H., *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press, New York, USA. 377-411.

- Gray E.J. et Smith D.L., 2005. Intracellular and extracellular PGPR : commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biol Biochem*, 37 : 395-412.
- Grimes H.D. et Mount M.S., 1987. Influence of *Pseudomona sputida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biol Biochem*, 6 : 27-30.
- Guanpeng G., Danhan Y., Shengju C., Fei X., Jie Y., Qing L. et Wei W., 2012. Effete of biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2P24 on soil fungal community in cucumber rhizosphere using T-RFLP and DGGE, 10 : 16 p.
- Guezlane A., 1976. Essais de caractérisation enzymatique des *Fusarium* par électrophorèse. Catabolisme auxinique et virulence chez deux isolats de *Fusarium oxysporum* f.sp. dianthi (Prill. et Del). Thèse de Doctorat. Faculté des sciences de l'Université d'Aix Marseille II.
- Gupta A., Gopal M., et. Tilak K.V., 2000. Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. *Indian J Exp Biol*, 38 : 856-862.
- Haas D., et Defago G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.*, 3, 4 : 307-319.
- Hagedorn D.J., 1984. Compendium of pea diseases. American Phytopathological Society, Saint-Paul, Minnesota, USA, 57p.
- Haglund W.A. et Kraft J.M., 1970. *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* race 5. *Phytopathology*, 60 : 1861-1862.
- Haglund W.A. et Kraft J.M., 1979. *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, race 6: Occurrence and distribution. *Phytopathology*, 69 : 818-820.
- Haglund W.A., 1989. A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. *Plant Disease* : 73.
- Halder A.K., Chakrabarty P.K., 1993. Solubilization of inorganic phosphate by *Rhizobium*. *Folia Microbiol*, 38 : 325-330.
- Hamdan H., Thomashow L.D., Weller D.M., 1988. Relative importance of fluorescent siderophore and phenazine antibiotic by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 in suppression of take-all. *Phytopathology*, 78 : 1522.
- Henni J.E, 1998. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. 171p.
- Henni J.E., Boisson C., Geiger J.P., 1994. Variabilité de la morphologie chez *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Thèse de Doctorat en science de la nature (Phytopathologie), *Phytopath medit.* 51-58.
- Henni J.E., Fortas Z. et Geiger J.P., 1998. Vegetative compatibility between *Fusarium oxysporum* isolates from the western region of Algeria. *Phytopathol. Medit.* 37 :69-74.

- Herman M.A.B., Nault B.A., Smart C.D., 2008. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop. Protect.*, 27 : 996-1002.
- Hirsch A.M., Lum M.R., Downie J.A., 2001. What Makes the Rhizobia-Legume Symbiosis So Special? *Plant Physiology*, 127 : 1484-1492.
- Höfte M., Boelens J., Vestraete W., 1991. Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK2 and ANP15. *Soil Biol Biochem*, 23 : 407-410.
- Howard J.B. et Rees D.C., 2000. Structure of the nitrogenase protein components. In : Triplett E.W., *Prokaryotic nitrogen fixation : a model system for the analysis of a biological process*. Horizon Scientific Press, Wymondham, UK.
- Howell C.R. et Stipanovic R.D., 1980. Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopathology*, 70 : 712-715.
- Howell C.R., Okon Y., 1987. Recent results of greenhouse and field trials on bacterial-induced plant growth promotion with no obvious symptoms of plant disease. In: *Proc Int Workshop PGPR*. Ontario, Canada : 29-33.
- Huebeling N., 1974. Testing for resistance to wilt and near wilt of peas caused by race 1 and race 2 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *psii*. *Genetics*, 29 : 991-1000.
- IMI, 1994. *Distribution Maps of Plant Diseases No. 240*, 3rd ed. CAB International, Wallingford, Royaume-Uni.
- Irzykowska L., Bocianowski J., Waskiewicz A., Weber Z., Karolewski Z., Golinski P., Kostecki M., Irzykowski W., 2012. Genetic variation of *Fusarium oxysporum* isolates forming fumonisin B-1 and moniliformin. *Journal of Applied Genetics*, 53 : 237-247.
- Jacques P., Delfosse P., Ongena M., Lepoivre P., Cornélis P., Koedam N., Neirinckx L., Thonart P., 1993. Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas fluorescens* dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. *Cahier Agricultures*, 2 : 301-307.
- Johnston W. H., 1967. Potential of the *Rhizobium-Fusarium* interactions on the incidence of alfalfa root rot. Thèse de doctorat. University of Rhode Island.
- Jones J.D.G., Grady K.L., Suslow T.V. et Bedbrook J.R., 1986. Isolation and characterization of gene encoding two chitinase enzymes from *Serratia marcescens*. *EMBO. J.*, 5 : 467-473.
- Kanchana D., Jayanthi M., Usharani G., Saranraj P., Sujitha D., 2013. Prevalence of *Azotobacter* sp. in Chilli (*Capsicum annum* L.) rhizosphere soil of *Cuddalur district*, Tamil Nadu, India. *Int. J. Microbiol.*, 4, 3 : 296-299.
- Karadeniz A., Topcuoglu S.F., Inan S., 2006. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World. J. Microbiol. Biotech.*, 22, 10 : 1061-1064.

- Kavanagh K., 2005. *Fungi : Biology and applications*. John Wiley and Sons, England, 267p.
- Kayser F. H., Bienz K. A., Eckert J., et Zingernagel R. M., 2001. *Medical Microbiology*, 10th ed. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, Germany.
- Keiko Y. et Nagisa M., 2005. Control of fusarium wilt of pea and occurrence conditions. *Research Bulletin of the Aichi-ken Agricultural Research Center*, 37 : 105-110.
- Khakipour N., Khavazi K., Mojallali H., Pazira E. et Asadirahmani H., 2008. Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 4, 6 : 687-692.
- Khan M.S. et Zaidi A., 2005. Interactive Effect of Rhizospheric Microorganisms On Growth, Yield and Nutrient Uptake of Wheat. *J Plant Nutrition*, 28 : 2079-2092.
- Kloepper J.W. et Schroth M.N., 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *Proc Int Conf Plant Pathol Bact Angers*, : 379-382.
- Kloepper J.W. et Schroth M.N., 1981a. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and displacement of root microflora. *Phytopathology*, 71 : 1020-1023.
- Kloepper J.W., 1993. Plant-growth-promoting rhizobacteria as biological control agents, In: Metting F.B. Jr., *Soil Microbial Ecology*. Marcel Dekker, N.Y. : 255-273.
- Kloepper J.W., Scher F.M., Laliberte M., Tipping B., 1986. Emergence-promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. In: Swinburne T.R., *Iron, siderophores and plant diseases*. NATO ASI Series A, Life Sci, Plenum Press, New York, 351 : 155-164.
- Komi A., 1993. Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (ATK) SN. et H : Agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier II. Sciences et Techniques du Languedoc.
- Kondorosi A. et Kondorosi E., 2000. *Control of root nodule organogenesis. In Prokaryotic nitrogen fixation : a model system for the analysis of a biological process*. Horizon Scientific Press, Wyomondham, UK.
- Kraft J.M. et Haglund W.A., 1978. A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*. *Phytopathology*, 68 : 273-275.
- Kraft J.M., 1994. *Fusarium* wilt of peas (a review). *Agronomie* 14 : 561-567.
- Kraft J.M., Larsen R.C., Inglis D.A., 1998. Diseases of pea. In: Allen, D.J., Lenné, J.M., *The pathology of food and pasture legumes*. CAB International, Wallingford, UK. : 325-370.
- Kraft J.M., Muehlbauer F.J., Cook R.J., Entemann F.M., 1974. The reappearance of common wilt of peas in eastern Washington. *Plant Disease Report*, 58 : 62-64.

- Kraft J.M., Pflieger F.L., 2001. *Compendium of pea diseases*, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 67p.
- Kroes J.G., van Dam J.C., Huygen J. et Vervoort R.W., 1998. *User's Guide of SWAP version 2.0. Simulation of water flow, solute transport and plant growth in the Soil-Water-Atmosphere-Plant environment*. Agricultural University, Wageningen. PUDOC, Wageningen, Simulation Monographs. 189p.
- Kwak Y.S., Han S., Thomashow L.S., Rice J.T., Paulitz T.C., Kim D., Weller D.M., 2011. *Saccharomyces cerevisiae* Genome-Wide Mutant Screen for Sensitivity to 2,4-diacetylphloroglucinol, an Antibiotic Produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Applied and environmental microbiology*, 77, 5 : 1770-1776.
- Latour X. et Lemanceau P., 1997. Métabolisme carboné et énergétique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes à oxydase positive. *Agronomie*, 17 : 427-423.
- Lecoeur J., 2005. Développement de la plante. In : Munier-Jolain N. *Agrophysiologie du pois protéagineux. Mieux comprendre*. Sciences de la vie, Editions Quae. 281p.
- Leeman M., Scheffer R.J., Schippers B., 1991. Control of fusarium wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens* WCS374, in greenhouse trials. In: Keel C., Koller B., Defago G., Plant growth-promoting rhizobacteria-progress and prospects *IOBC/WPRS*, 14, 8 : 34-38.
- Lemanceau P., 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie*, 12 : 413-437.
- Lemanceau P., Alabouvette C., Meyer J.M., 1986. Production of fusarinine and iron assimilation by pathogenic and non-pathogenic *Fusarium*. In: Swinburne T.R., *Iron siderophores and plant diseases*. Plenum press, New York, 251-253.
- Lemanceau P. et Alabouvette C., 1991. Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protec*, 10 : 279-286.
- Lepoivre, P., 2003. *Phytopathologie : bases moléculaires de biologiques des pathosystemes et fondement des strategies de lutte*. De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux, Brussels, Belgium, 432p.
- Leslie J.F. et Summerell B.A., 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Wiley-Blackwell. 388p.
- Levesque D., 1994. Source Plein Soleil, diététiste en collaboration avec Lysanne Trodeau diététiste à la fondation des maladies du coeur du Québec. Révisé en Décembre 2006, Elyse Dion diététiste nutritionniste.
- Linderman R.G. et Paulitz T.C., 1990. Mycorrhizal rhizobacterial interactions. In: Hornby D., *Biological control of soil-borne plant pathogens*. CAB : 261-283.
- Lindsay W.L. et Schwab B., 1981. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J Plant Nutr*, 5 : 821-840.

- Lindstrom K., Lipsanen P., Kaijalainen S., 1990. Stability of markers used for identification of two *Rhizobium galegae* inoculant strains after five years in the field. *Appl Environ Microbiol*, 56 : 444-450.
- Linford M.B., 1928. A fusarium wilt of peas in Wisconsin. *Wisconsin Agricultural Experiment Station Research Bulletin*, WI, USA 85, 43.
- Long S.R., 2001. Genes and Signals in the *Rhizobium*-Legume Symbiosis. *Plant Physiology*, 125 : 69-72.
- Loper J.E. et Buyer J.S., 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol Plant-Microbe Interac*, 4 : 5-13.
- Loper J.E., 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathology*, 78 : 166-172.
- Loper J.E., Hassan K.A. , Mavrodi D.V. et Davis E.W., 2012. Comparative Genomics of Plant-Associated *Pseudomonas* spp.: Insights into Diversity and Inheritance of Traits Involved in Multitrophic Interactions », *PLoS Genet.*, 8.
- Louvet J., 1977. *Observations sur la localisation des chlamydospores de Fusarium oxysporum dans les tissus des plantes parasitées*. INRA, Paris, 193-197.
- Lucas J.A., 1998. *Plant Pathology and Plant Pathogens* 3rd ed. Blackwell Science. 274p.
- Lugtenberg B.J. et Kamilova F., 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 63:541-556.
- Lugtenberg B.J.J., Dekkers L., Bloemberg G.V., 2001. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 39 : 461-490.
- M'lakhal A., 2011. Effet de certains inducteurs de gène nod (composés phénoliques) sur la croissance de *Rhizobium* en symbiose avec *Vicia faba*. Caractérisation et lutte biologique. Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen. Algérie.
- Mac Hardy W.E. et Beckman C.H., 1981. Vascular wilt Fusaria: Infections and Pathogenesis. In Nelson P.E., Toussoun T.A., et Cook R.J., *Fusarium : Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. : 365-390.
- Madrid M.P., Di Pietro A., Roncero M.I.G., 2003. Class V chitin synthase determines pathogenesis in the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* and mediates resistance to plant defense compounds. *Molecular Microbiology*, 47 : 257-266.
- Malençon G., 1947. Mission d'étude dans les oasis du territoire d'Ain-Safra et de l'annexe du Tidikelt concernant une maladie du palmier dattier, *Ann. Agr. Alg.*, 2 : 139-158.

- Mamoun M., Olivier J.M., 1992. Effect of soil pseudomonads on colonisation of hazel roots by ectomycorrhizal species *Tuber melanosporum* and its competitors. *Plant Soil*, 139 : 265-273.
- Martín-Urdíroz M., Roncero M.I., González-Reyes J.A., Ruiz-Roldán C., 2008. ChsVb, a class VII chitin synthase involved in septation, is critical for pathogenicity in *Fusarium oxysporum*. *Eukaryot Cell*, 7 : 112-121.
- Masclef A., 1891. *Atlas des Plantes de France utiles, nuisibles et ornementales*. Paul Klincksieck, Paris.
- Masson-Boivin C., Giraud E., Perett X., Batut J., 2009. Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legums : How many *Rhizobium* recipes ? *Trends Microbiol.*, 17 : 458-46.
- Mateos P.F., Baker D.L., Petersen M., Velázquez E., Jiménez-Zurdo J.I., Martínez-Molina E., Squartini A., Orgambide G., Hubbell D.H. et Dazzo F.B., 2001. Erosion of root epidermal cell walls by *Rhizobium* polysaccharide-degrading enzymes as related to primary host infection in the *Rhizobium*-legumesymbiosis. *Can J Microbiol.*, 47 : 475-487.
- Maurhofer M., Keel C., Schnider U., Haas D., Defago G., 1991. Does enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO improve its disease suppressive capacity? In : Keel C., Koller B., Defago G., Plant growth promoting rhizobacteria-progress and prospects. *IOBC/WPRS*, 14, 8: 201-202.
- Mazarei M., Kerr A., 1991. Plasmids in *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* carry genes for pathogenicity. *Plant Pathology*, 40 : 408-414.
- Mendgen K., Hahn M. et Deising H., 1996. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 34 : 367- 386.
- Messaoudi H. et Messaoudi L., 1989 : Etude phytopathologique, morphologique et physiologique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Mémoire pour l'obtention du D.E.S.
- Messiaen C.M. et Cassini R., 1968. Recherches sur les Fusarioses. IV-La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiph.*, 19 : 387-454.
- Messiaen C.M. et Cassini R., 1981. Taxonomy of *Fusarium*. In : Nelson P.E., Tousson T.A. et Koo K.R.J., *Fusarium Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, 37 : 427-445.
- Mew T.W. et Howard F.L., 1969. Root rot of soybean (*Glycine max*) in relation to antagonism of *Rhizobium japonicum* and *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 59 : 101.
- Meyer J.M., Halle F., Hohnadel D., Lemanceau P., Ratefiarivelo H., 1987. Siderophores of *Pseudomonas*: biological properties. In: Van der Helm D., Neilands J., Winkelmann G., *Iron transport in microbes, plants and animals*. VCH, Weinheim, : 189-205.

- Miche L., Moulin L., Chaintreuil C., Contreras-Jimenez J.L., Munive-Hernandez J.A., Del Carmen Villegas-Hernandez M., Crozier F., Bena G., 2010. Diversity analyses of *Aeschynomene* symbionts in Tropical Africa and Central America reveal that nod-independent stem nodulation is not restricted to photosynthetic bradyrhizobia. *Environmental Microbiology*, 12 : 2152-2164.
- Michelle I., 2006. *Diversity of root nodule bacteria associated with Phaseolus coccineus and Phaseolu vulgaris species in south Africa*. University of Protoria.
- Minorsky P.V., 2008. On the inside. *Plant. Physiol.*, 146 : 323-324.
- Mirocha C.J., Abbas H.K., Kommedahl T., Jarvis B.B., 1989. Mycotoxin production by *Fusarium oxysporum* and *Fusarium sporotrichioides* isolated from *Baccharis* spp. from Brazil. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 : 254-255.
- Misko A.L. et Germida-James J., 2002. Taxonomic and functional diversity of pseudomonads isolated from the roots of field-grown canola. *FEMS Microbiology Ecology*, 42 : 399-407.
- Moore L.W., 1988. Use of a *Agrobacterium radiobacter* in agriculture ecosystems. *Microbiol. Sci.*, 5 : 92-95.
- Moretti A., Belisario A., Tafuri A., Ritieni A., Corazza L., Logrieco A., 2002. Production of beauvericin by different races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*, the fusarium wilt agent of muskmelon. *European Journal of Plant Pathology*, 108 : 661-666.
- Morgan J.A.W., Bending G. D. et White P. J., 2005. Biological costs and benefits to plant microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56 : 1729-1739.
- Moulin L., Munive A., Dreyfus B. et Boivin-Masson C., 2001. Nodulation of legumes by members of the beta subclass of Proteobacteria. *Nature.*, 411: 948-950.
- Mulder L., Hogg B., Bersoult A., Cullimore J.V., 2005. Integration of signaling pathways in the establishment of the legume-rhizobia symbiosis. *Physiol. Plant.*, 123 : 207-218.
- Neilands J.B. et Leong S.A., 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. *Annu Rev Plant Physiol*, 37 : 187-208.
- Nelson P.E., 1981. Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum* . In : Mace M.E, Bell A.A, et Beckman C.H., *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press. New York. 3 : 51-80.
- Nutman P.S., 1976. Field experiments on nitrogen fixation by nodulated legumes. In : Nutman P.S., *Symbiotic nitrogen fixation in plants*. No. 7, ChaP. 19, Cambridge University Press, London.
- Okon Y., 1985. Azospirillum as a potential inoculant for agriculture. *Trends Biotechnol*, 3 : 223-228

- Oldroyd G.E., Murray J.D., Poole P.S., Downie J.A., 2011. The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annual Review of Genetics*, 45 : 119-144.
- Olivain C. et Alabouvette C., 1999. Process of tomato root colonization by a pathogenic strain of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in comparison with a non-pathogenic strain. *New Phytol.*, 141 : 497-510.
- Olivain C., Humbert C., Nahalkova J., Fatehi J., L'Haridon F., Alabouvette C., 2006. Colonization of tomato roots by pathogenic and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* together and separately in the soil. *Applied and Environmental Microbiology.*, 72 : 1523-1531.
- Oliveira E., Sieverding E., Toros E., 1987. Interaction between three species of VAM fungi and an isolate of *Pseudomonas putida* on cassava. In: Sylvia D.M., Hung L.L., Graham J.H., *Proc 7th North Am Conf Mycorrhizae*. Univ Florida, Gainesville, FL 216p.
- Ongena M., Jacques P., Delfosse P. et Thonart P., 2002. Unusual traits of the pyoverdinin mediated iron acquisition system in *Pseudomonas putida* strain BTP1. *Biometals.*, 15, 1 : 1-13.
- Ott T., van Dongen J.Y., Gunther C., Krusell L., Desbrosses G., Vigeolas H., Bock V., Czechowski T., Geigenberger P. et Udvardi M.K., 2005. Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Curr Biol*, 15 : 531-535.
- Ouellet H., Ouellet Y., Richard C., Labarre M., Wittenberg B., Wittenberg J., Guertin M., 2002. Truncated hemoglobin HbN protects *Mycobacterium bovis* from nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 30, 9 : 5902-7.
- Ouserir S., 2009. Symbiotique legemoblobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development. *Curr Biol*, 15 : 531-535.
- Pal K.K. et McSpadden Gardener B., 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The plant Health Instructor.*, : 25
- Palumbo S.A., 1972. Role of iron and sulfur in pigment and slime formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 111, 2 : 430-436.
- Pandey D.K., Tripathi N.N., Tripathi R.D., Dixit S.N., 1982. Fungi toxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Caesulia axillaris* Roxb. *Angerwandte Botanik*, 56 : 256-257.
- Pareja-Jaime Y., Martín-Urdíroz M., Roncero M.I., González-Reyes J.A., Ruiz-Roldán M.C., 2010. Chitin synthase-deficient mutant of *Fusarium oxysporum* elicits tomato plant defence response and protects against wild-type infection. *Molecular Plant Pathology*, 11 : 479-93.
- Park K.H., Lee C.Y., Son H.J., 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant growth-promoting activities. *Lett Appl Microbiol*, 49 2 : 222-228.

- Parmar N. et Dadarwal K.R., 1999. Stimulation of nitrogen fixation and induction of flavonoid like compounds by rhizobacteria. *J. Appl. Microbiol.*, 86 : 36-44.
- Patriarca E.J., Tatè R., Ferraioli S. et Iaccarino M., 2004. Organogenesis of legumeroot nodules. *Int Rev Cytol.*, 234: 201-262.
- Paul D. et Nair S., 2008. Stress adaptations in a plant growth promoting rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *J. Basic Microbiol.* 48: 378-384.
- Perret X., Staehelin C. et Broughton W.J., 2000. Molecular basis of symbiotic promiscuity. *Microbiol Mol Biol Rev.*? 64: 180-201.
- Persello-Cartieaux F., Nussaume L. et Robaglia C., 2003. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ.*, 26 : 189-199.
- Polonenko D.R., Scher F.M., Kloepper J.W., Singleton C.A., Laliberté E.M., Zaleska I., 1987. Effects of root colonizing bacteria on nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*. *Can J Microbiol*, 33 : 498-503.
- Raj J., Bagyaraj D.J., Manjunath A., 1981. Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and P³² uptake. *Soil Biol Biochem*, 13 : 105-108.
- Ramos-Solano B., Barriuso-Maicas J., Gutierrez-Mañero J., 2009. Biotechnology of the Rhizosphere. In: Kirakosyan A. et Kaufman P.B., *Recent Advances in Plant Biotechnology*. Springer Science & Business Media. 137-162.
- Ravel J. Cornelis P., 2003. Genomics of pyoverdine mediated iron uptake in pseudomonads. *Trends Microbiol*, 11 : 195-200.
- Recorbet G. et Alabouvette C., 1997. Adhesion of *Fusarium oxysporum* conidia to tomato roots. *Letters in Applied Microbiology*, 25 : 375-379.
- Redden B., Leonforte T., Ford R., Croser J.S., 2005. Pea (*Pisum sativum* L.). In: Singh, R.J, Jauhar, P.P. *Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement "Grain Legumes"*. CRC Press, Boca Raton. 58-98.
- Rispail N. et Di Pietro A., 2010. The homeodomain transcription factor Ste12. *Commun Integr Biol.*, 3, 4 : 327-332.
- Rodriguez-Navarro D.N., Dardanelli M.S. et Ruiz-Sainz J.E., 2007. Attachment of bacteria to the roots of higher plants. *FEMS Microbiol Lett.* 272 : 127-136.
- Ronald M.A., 2010. *Handbook of Microbiological Media*. 4th ed. ASM Press, Washington, D.C., 2036p.
- Rosas S.B., Andrés J.A., Rovera M., Correa N.S., 2006. Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia-legume symbiosis. *Soil Biology and Biochemistry* , 38, 12 : 3502-3505.
- Rubiales D., Ambrose M.J., Domoney C., Burstin J., 2012. Pea (*Pisum sativum* L.). In: Perez de la Vega, M., Cubero, J.I., Torres, A.M., *Genetics, genomics and breeding of cool season grain legumes*. CRC Press, Boca Raton, Science Publishers, Enfiled. 1-49.
- Rubiales D., Fernández-Aparicio M., Moral A., Barilli E., Sillero J.F, Fondevilla S., 2009. Disease resistance in pea (*Pisum sativum* L.) types for autumn

- sowings in mediterranean environments. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 45 : 135-142.
- Rubio L.M. et Ludden P.W., 2005. Maturation of nitrogenase : abiochemical puzzle. *J Bacteriol.* 187 : 405-414.
- Ryder M.H., Brisbane P.G., Rovira A.D., 1990. Mechanisms in the biological control of take-all of wheat by rhizosphere bacteria. *Biological control of soil-borne plant pathogens.*, 22 : 123-130.
- Salama M. et Mishriky A. G., 1987. A study of the toxic activity of *Fusarium moniliforme* shield. *J. Bot.*, 30 : 31-46.
- Salt G.A., 1979. The increasing interest in minor pathogens. In: Schippers B. et Gams W., *Soil borne plant pathogens*. Acad Press, Londres, 289-312.
- Savka M.A., Dessaux Y., Oger P. et Rossbach S., 2002. Engineering bacterial competitiveness and persistence in the phytosphere. *Mol Plant Microbe Interact.*, 15 : 866-874.
- Sawada H., Kuykendall L.D., et Young, J.M., 2003. Changing concepts in the systematics of bacterial nitrogen-fixing legume symbionts. *J Gen Appl Microbiol*, 49 : 155-179.
- Saxena N.P., 1993. Selection for drought and salinity tolerance in cool season food legumes. In: Singh, K.B., Saxena, M.C., *Breeding for stress tolerance in cool season food legumes*. ICARDA/John Wiley and Sons, Chichester, UK. 245-270.
- Schippers B. et van Eck W.H., 1981. Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*. In : Nelson P.E., Toussoun T.A., Cook R.J., *Fusarium : Diseases, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park and London. 250-260
- Senthilkumar M., Madhaiyan M., Sundaram S.P., Kannaiyan S., 2009. Intercellular colonization and growth promoting effects of *Methylobacterium* sp. with plant-growth regulators on rice (*Oryza sativa* L. CvCO-43). *Microbiol Res*, 164 : 92-104.
- Sivasakthi S., Kanchana D., Usharani G., Saranraj P., 2013. Production of plant growth promoting substance by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* isolated from paddy rhizosphere soil of *Cuddalore district*, Tamil Nadu, India. *Int. J. Microbiol.*, 4 3 :227- 233.
- Smith M.J., Shoolery J. N., Schwyn B., Holden I. et J. B. Neilands., 1985. Rhizobactin, a structurally novel siderophore from *Rhizobium meliloti*. *J. Am.Chem. Soc.*, 107 : 1739-1743.
- Smykal P., Aubert G., Burstin J., Coyne C.J., Ellis N.T.H., Flavell A.J., Ford R.R., Hýbl M., Macas J., Neumann P., McPhee K.E., Redden R.J., Rubiales D., Weller J.L., Warkentin T.D., 2012. Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. *Agronomy*, 2 : 74-115.
- Somasegaran P. et Hoben H.J., 1994. Handbook for Rhizobia ; Methods in legume *Rhizobium* technology. Section III : Evaluating Symbiotic Potential of Rhizobia. 165-166.

- Son S.W., Kim H.Y., Choi G.J., Lim H.K., Jang K.S., Lee S.O., Lee S., Sung N.D., Kim J.C., 2008. Bikaverin and fusaric acid from *Fusarium oxysporum* show antioomycete activity against *Phytophthora infestans*. *Journal of Applied Microbiology*, 104 : 692-698.
- Stacey G., Libault M., Brechenmacher L., Wan J. et May G.D., 2006. Genetics and functional genomics of legume nodulation. *Curr Opin Plant Biol.*, 9 : 110-121.
- Stougaard J., 2000. Regulators and Regulation of Legume Root Nodule Development. *Plant Physiology*, 124 : 531-540.
- Stover R.H., 1962. *Fusarial wilt (Panama disease) of bananas and other Musa species*. Commonwealth Mycological Institute. Surrey, UK, 177 pp.
- Sturz A.V. et Christie B.R., 2003. Beneficial microbial allelopathies in the root zone : the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil & Tillage Research*, 72 : 107-123.
- Suty L., 2010. *La lutte biologique: Vers de nouveaux équilibres écologiques Sciences en partage*. Editions Quae, Paris, 328p.
- Snyder WC. et Hansen HN., 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany*, 27 : 64-67.
- Snyder WC. Hansen HN., 1945. The species concept in *Fusarium* with reference to discolor and other section. *Am. J. Bot.*, 27 : 738-742.
- Thakore Y., 2006. The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*. 2, 3 : 294-298.
- Thomashow L.S., Weller D.M., 1990. Application of fluorescent pseudomonads to control root diseases of wheat and some mechanisms of disease suppression. In : Hornby D., Biological control of soil-borne plant pathogens. *CAB Int.*, : 109-122.
- Toua D., Benchabane M., Bensaid F. et Bakour R., 2013. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and fax. *African Journal Microbiology Research*, 7, 48.
- Tousson T.A. et Nelson P.E., 1968. *A pectorial guide to the identification of Fusarium species*. The pennsylvania state University Parck and London. 51 p.
- Vacheron J., Dubost A., Chapulliot D., Prigent-Combaret C., Muller D., 2017. Draft Genome Sequence of *Chryseobacterium* sp. JV274 isolated from Maize Rhizosphere. *Genome Announcements*. 5 : e00122-17. doi: 10.1128/genomeA.00122-17.
- Van der Hofstad G.A.J.M., Marugg J.D., Verjans G.M.G.M., Weisbeek P.J., 1986. Characterization and structural analysis of the siderophore produced by the PGPR *Pseudomonas putida* strain WCS358. In: Swinburne T.R., *Iron, siderophores and plant diseases*. Plenum Press, New York. 71-75.

- Van Peer R., Niemann C.J., Schippers B., 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp strain WCS417r. *Phytopathology*, 81 : 728-734.
- Van Wees S.C.M., Pieterse C.M.J., Trijssenaar A., Van't Westend Y.A.M., Hartog F., Van Loon L.C., 1997. Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *Mol Plant Microbe Interact.*, 10 : 716-724.
- Vessey K.J., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*, 255 : 571-586.
- Vidhyasekaran P., 1997. *Fungal pathogenesis in plants and crops. Molecular biology and host defense mechanisms*. Marcel Dekker Inc. New York. 553p.
- Voisard C., Keel C., Haas D., Defago G., 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO J.*, 8 : 351-358.
- Wais R.J., Keating D.H., Long S.R., 2002. Structure-function analysis of nodfactor induced root hair calcium spiking in *Rhizobium*-legume symbiosis. *Plant Physiology*, 129 : 211-224.
- Wang D., Yang S., Tang F., Zhu H., 2012. Symbiosis specificity in the legume : rhizobial mutualism. *Cellular Microbiology*, 14 : 334-342.
- Weger L.A. (de), Van Boxtel R., Van der Burg B., Bruters R.A., Geels F.P., Schippers B, Lugtenberg B., 1986. Siderophores and outer membrane proteins of antagonistic, plant growth stimulating, root colonizing *Pseudomonas* spp. *J Bacteriol*, 165 : 585-594.
- Weller D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu Rev Phytopathol*, 26 : 379-407.
- Weller D.M., 2007. The Nature and Application of Biocontrol Microbes III: *Pseudomonas* spp., *Pseudomonas* Biocontrol Agents of Soilborne Pathogens: Looking Back Over 30 Years. *Phytopathology*, 97, (2), pp, 250-256.
- Weller D.M., Howie W.J., Cook R.J., 1988. Relationships between *in vitro* inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and suppression of take all wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, 78 : 1094-1100.
- Whipps J.M., 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52 : 487-511.
- Willcox M.D., 2007. *Pseudomonas aeruginosa* infection and inflammation during contact lens wear: a review. *Optometry and Vision Science: Official Publication of the American Academy of Optometry*, 84, 4 : 273-278.
- Windels C.E, 1992. *Fusarium*. In : Singleton L.L, J.D.M. et Rush C.M., *Methods for Research on Soil borne Phytopathogenic Fungi*. American Phytopathological Society Press, St. Paul. 115-128
- Yala A., 2016. Essai de biocontrol de la fusariose vasculaire du petit pois. Mémoire magister. U. Blida 1, 122p.

- Yamamoto H., Nomata J., Fuita Y., 2008. Functional expression of nitrogenase-like protochlorophyllide reductase from *Rhodobacter capsulatus* in *Escherichia coli*. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 7 : 1238-1242.
- Zahir Z.A., Arshad M. et Frankenberger W.T. Jr., 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: perspectives and application in agriculture. *Advances in Agronomy*, 81 : 96-168.
- Zvirin T., Herman R., Brotman Y., Denisov Y., Belausov E., Freeman S., 2010. Differential colonization and defence responses of resistant and susceptible melon lines infected by *Fusarium oxysporum* race 1.2. *Plant Pathol.*, 59 : 576-585.

webographie

- <http://cmr.asm.org/content/27/4/927/F7.large.jpg>
- <http://wiki.eanswers.com/en/Pyoverdine>
- <http://www.wikiwand.com/en/2,4-Diacetylphloroglucinol>
- <https://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/zoo/zdrr0101.jpg>
- <https://fineartamerica.com/featured/Rhizobium-leguminosarum-root-nodules-drjeremy-burgess.html>

ANNEXES

Annexes 1

Les milieux de culture

Milieu B de King (KB)

Agar	15 g
Peptone	20 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
MgSO ₄	1,5 g
Glycérol	15 ml
pH 7,2 ± 0,2 à 25°C	

Utilisation : pour l'isolement non sélective, la cultivation et la mise en évidence de la pigmentation des espèces de *Pseudomonas*.

Potatos Dextros Agar (PDA)

Agar	20 g
Galactose	20 g
Pomme de terre	200 g
pH 5.6 ± 0.2 à 25°C	

Utilisation : pour la cultivation des levures et les champignons filamenteux

Yeast Mannitol Ager (YMA) : modifié.

Agar	20 g
Mannitol	10 g
Na-glutamate	0,5
K ₂ HPO ₄	0,5
Extrait de levure	1 g
MgSO ₄	0,2 g
NaCl	0,1 g
FeCl ₃	4 mg
pH 6.8 ± 0.2 à 25°C	

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

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

Annexe 2

Tableau des taux d'infection (%) chez les génotypes étudiés bactérisés avec les trois souches rhizobactériennes

Génotypes	Traitements	7	11	14	18	21	25	28	32	35
J11412	Pf F21	0,00 ± 0,00	16,25 ± 19,74	5,00 ± 10,00	13,33 ± 9,03	10,42 ± 12,50	12,14 ± 8,53	29,46 ± 22,28	37,59 ± 5,51	44,05 ± 9,11
	R/v	0,00 ± 0,00	25,00 ± 35,36	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	10,00 ± 14,14	8,33 ± 11,79	16,67 ± 23,57
	mut R/v	0,00 ± 0,00	17,78 ± 16,78	0,00 ± 0,00	21,67 ± 2,89	26,11 ± 6,74	30,56 ± 4,81	32,06 ± 11,48	31,65 ± 4,15	48,61 ± 14,63
Polar	Pf F21	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	8,33 ± 11,79	8,33 ± 11,79	0,00 ± 0,00	12,50 ± 17,68	6,25 ± 8,84	11,11 ± 15,71	61,11 ± 7,86
	R/v	12,50 ± 8,33	8,33 ± 9,62	11,31 ± 7,62	19,20 ± 6,74	26,34 ± 9,60	36,46 ± 2,08	44,44 ± 12,88	40,34 ± 7,30	71,18 ± 13,48
	mut R/v	0,00 ± 0,00	4,17 ± 8,33	17,50 ± 1,67	22,02 ± 7,62	14,88 ± 11,72	21,88 ± 6,25	23,96 ± 8,59	29,04 ± 5,37	71,53 ± 10,73
P615	Pf F21	3,57 ± 7,14	12,50 ± 15,96	13,39 ± 10,26	12,95 ± 10,25	8,33 ± 10,64	16,25 ± 4,33	38,54 ± 4,79	34,59 ± 7,30	63,23 ± 4,41
	R/v	19,88 ± 17,64	25,99 ± 21,51	24,40 ± 17,10	31,90 ± 9,19	37,26 ± 6,90	44,44 ± 7,86	42,36 ± 6,94	40,59 ± 1,99	59,07 ± 9,52
	mut R/v	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,14 ± 8,25	19,79 ± 15,73	25,20 ± 7,28	32,07 ± 8,20	37,08 ± 10,57	35,38 ± 8,24	56,30 ± 7,88
Kelvedon Wonder Peas	Pf F21	0,00 ± 0,00	10,00 ± 20,00	14,17 ± 18,93	10,00 ± 11,55	5,00 ± 10,00	15,48 ± 17,98	7,74 ± 8,99	6,25 ± 12,50	38,81 ± 20,30
	R/v	0,00 ± 0,00	6,67 ± 11,55	5,56 ± 9,62	18,89 ± 20,09	6,67 ± 11,55	11,11 ± 19,25	11,11 ± 19,25	24,44 ± 13,47	39,44 ± 18,28
	mut R/v	0,00 ± 0,00	6,67 ± 11,55	11,11 ± 19,25	11,11 ± 19,25	5,56 ± 9,62	9,52 ± 16,50	9,52 ± 16,50	8,33 ± 14,43	47,46 ± 35,12
P21	Pf F21	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,57 ± 7,14	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,27 ± 4,55	19,13 ± 3,98	17,11 ± 2,71	21,07 ± 5,88
	R/v	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	7,74 ± 8,99	3,57 ± 7,14	8,68 ± 5,82	16,11 ± 10,79	30,56 ± 13,65	22,56 ± 17,24	33,33 ± 11,79
	mut R/v	5,00 ± 10,00	4,17 ± 8,33	7,14 ± 8,25	3,13 ± 6,25	8,68 ± 5,82	23,61 ± 12,35	27,37 ± 8,95	20,42 ± 3,44	31,51 ± 11,84

Annexe 3

Analyse de variance des taux d'infection chez les cinq géotypes de pois

J11412

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Lignes	7142,044671	11	649,2767883	8,297967	8,32176E-10	1,899171018
Colonnes	9089,103416	8	1136,137927	14,5202096	2,60406E-13	2,045414315
Erreur	6885,585034	88	78,24528447			
Total	23116,73312	107				

Polar

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Lignes	5981,502682	11	543,772971	18,9838277	7,81824E-19	1,899171018
Colonnes	30329,2168	8	3791,1521	132,354093	1,11568E-45	2,045414315
Erreur	2520,672969	88	28,64401101			
Total	38831,39245	107				

P615

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Lignes	5905,013759	11	536,8194327	10,7572507	2,86597E-12	1,899171018
Colonnes	23059,4695	8	2882,433687	57,7606917	9,26031E-32	2,045414315
Erreur	4391,466881	88	49,90303273			
Total	33355,95014	107				

Kelvedon Wonder Peas

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Lignes	12963,11419	11	1178,464926	12,7766934	4,30986E-14	1,899171018
Colonnes	21887,92465	8	2735,990582	29,6630914	6,70197E-22	2,045414315
Erreur	8116,725536	88	92,23551745			
Total	42967,76437	107				

P21

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Lignes	11310,62673	11	1028,238794	10,5098926	4,92283E-12	1,899171018
Colonnes	18264,3739	8	2283,046738	23,3356067	9,31026E-19	2,045414315
Erreur	8609,508873	88	97,83532811			
Total	38184,50951	107				

Annexe 4

Tableau de sévérité de la maladie chez les génotypes étudiés bactérisés avec les trois souches rhizobactériennes

Génotypes	Traitements	7	11	14	18	21	25	28	32	35
J11412	Pf F21	1,00 ± 0,00	1,16 ± 0,20	1,05 ± 0,10	1,18 ± 0,14	1,10 ± 0,13	1,19 ± 0,18	1,51 ± 0,37	1,76 ± 0,25	2,08 ± 0,33
	R/iv	1,00 ± 0,00	1,25 ± 0,35	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,10 ± 0,14	1,08 ± 0,12	1,33 ± 0,47
	mut R/iv	1,00 ± 0,00	1,18 ± 0,17	1,00 ± 0,00	1,22 ± 0,33	1,40 ± 0,17	1,53 ± 0,29	1,57 ± 0,34	1,96 ± 0,41	2,14 ± 0,41
Polar	Pf F21	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,08 ± 0,12	1,08 ± 0,12	1,00 ± 0,00	1,25 ± 0,35	1,06 ± 0,09	1,25 ± 0,35	2,72 ± 0,39
	R/iv	1,12 ± 0,08	1,17 ± 0,24	1,11 ± 0,08	1,38 ± 0,17	1,42 ± 0,24	1,78 ± 0,19	2,11 ± 0,37	2,73 ± 0,11	3,16 ± 0,33
	mut R/iv	1,00 ± 0,00	1,04 ± 0,08	1,26 ± 0,16	1,36 ± 0,24	1,22 ± 0,25	1,50 ± 0,27	1,60 ± 0,36	1,66 ± 0,16	3,00 ± 0,30
P615	Pf F21	1,35 ± 0,07	1,12 ± 0,16	1,13 ± 0,10	1,16 ± 0,16	1,08 ± 0,11	1,24 ± 0,14	1,53 ± 0,15	1,76 ± 0,26	2,95 ± 0,18
	R/iv	1,35 ± 0,32	1,37 ± 0,39	1,37 ± 0,42	1,46 ± 0,36	1,68 ± 0,41	1,99 ± 0,30	2,02 ± 0,31	2,63 ± 0,37	2,76 ± 0,41
	mut R/iv	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,07 ± 0,08	1,20 ± 0,16	1,25 ± 0,07	1,38 ± 0,09	1,55 ± 0,27	1,75 ± 0,15	2,57 ± 0,19
Kelvedon Wonder Peas	Pf F21	1,00 ± 0,00	1,10 ± 0,20	1,14 ± 0,19	1,10 ± 0,12	1,05 ± 0,10	1,24 ± 0,32	1,08 ± 0,09	1,14 ± 0,29	1,81 ± 0,62
	R/iv	1,00 ± 0,00	1,07 ± 0,12	1,06 ± 0,10	1,19 ± 0,20	1,20 ± 0,35	1,33 ± 0,58	1,33 ± 0,58	1,53 ± 0,12	2,11 ± 0,33
	mut R/iv	1,00 ± 0,00	1,07 ± 0,12	1,22 ± 0,38	1,22 ± 0,38	1,06 ± 0,10	1,10 ± 0,16	1,19 ± 0,33	1,19 ± 0,33	2,20 ± 0,96
P21	Pf F21	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,04 ± 0,07	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,02 ± 0,05	1,19 ± 0,04	1,27 ± 0,17	1,47 ± 0,12
	R/iv	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,08 ± 0,09	1,04 ± 0,07	1,09 ± 0,06	1,19 ± 0,14	1,33 ± 0,18	1,31 ± 0,24	1,46 ± 0,31
	mut R/iv	1,05 ± 0,10	1,04 ± 0,08	1,07 ± 0,08	1,03 ± 0,06	1,09 ± 0,06	1,26 ± 0,17	1,30 ± 0,14	1,33 ± 0,11	1,47 ± 0,60

Annexe 5

Analyse de variance de la sévérité de la maladie chez les cinq génotypes de pois

J11412

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Lignes	4,020647222	11	0,365513384	8,95439389	1,71424E-10	1,899171018
Colonnes	9,152533333	8	1,144066667	28,0274923	3,89884E-21	2,045414315
Erreur	3,592111111	88	0,040819444			
Total	16,76529167	107				

Polar

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Lignes	6,246285185	11	0,567844108	18,1030002	3,16378E-18	1,899171018
Colonnes	29,18055741	8	3,647569676	116,285357	2,02267E-43	2,045414315
Erreur	2,760331481	88	0,031367403			
Total	38,18717407	107				

P615

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Lignes	6,401262963	11	0,581932997	12,3666917	9,80539E-14	1,899171018
Colonnes	29,03731852	8	3,629664815	77,1342162	1,88485E-36	2,045414315
Erreur	4,14097037	88	0,047056481			
Total	39,57955185	107				

Kelvedon Wonder Peas

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Lignes	13,14507778	11	1,195007071	7,21476302	1,26495E-08	1,899171018
Colonnes	22,19406667	8	2,774258333	16,7493707	7,75229E-15	2,045414315
Erreur	14,57575556	88	0,165633586			
Total	49,9149	107				

P21

<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Lignes	16,317625	11	1,483420455	8,11352887	1,30921E-09	1,899171018
Colonnes	14,63216667	8	1,829020833	10,003781	8,23907E-10	2,045414315
Erreur	16,0893	88	0,182832955			
Total	47,03909167	107				

Annexe 6

Poids frais et poids secs (g) des parties aériennes et souterraines des témoins saints et bactérisés pour les génotypes JI1412 Polar, P615, Kelvedon Wonder Peas et P21.

Traitement		JI1412		Polar	
		Poids frais	Poids sec	Poids frais	Poids sec
EDS	Partie aérienne	0,820 ± 0,260	0,134 ± 0,053	1,189 ± 0,502	0,212 ± 0,095
	Partie sous-terrine	0,495 ± 0,131	0,096 ± 0,029	0,275 ± 0,106	0,098 ± 0,040
Pff21	Partie aérienne	1,412 ± 0,371	0,267 ± 0,081	2,279 ± 0,236	0,397 ± 0,053
	Partie sous-terrine	0,325 ± 0,170	0,102 ± 0,065	0,710 ± 0,244	0,196 ± 0,020
Rlv	Partie aérienne	1,117 ± 0,484	0,161 ± 0,086	1,907 ± 0,146	0,346 ± 0,020
	Partie sous-terrine	0,445 ± 0,087	0,073 ± 0,032	0,715 ± 0,117	0,182 ± 0,021
mut Rlv	Partie aérienne	1,295 ± 0,101	0,553 ± 0,536	2,029 ± 0,165	0,359 ± 0,028
	Partie sous-terrine	0,810 ± 0,234	0,128 ± 0,036	0,890 ± 0,248	0,183 ± 0,017

Traitement		P615		Kelvedon Wonder Peas	
		Poids frais	Poids sec	Poids frais	Poids sec
EDS	Partie aérienne	1,469 ± 0,139	0,282 ± 0,010	0,571 ± 0,249	0,119 ± 0,100
	Partie sous-terrine	0,578 ± 0,203	0,138 ± 0,011	0,291 ± 0,227	0,040 ± 0,023
Pff21	Partie aérienne	2,008 ± 0,169	0,361 ± 0,029	1,372 ± 0,412	0,297 ± 0,018
	Partie sous-terrine	0,537 ± 0,091	0,218 ± 0,063	0,428 ± 0,141	0,116 ± 0,057
Rlv	Partie aérienne	1,685 ± 0,151	0,285 ± 0,048	1,307 ± 0,260	0,259 ± 0,024
	Partie sous-terrine	0,628 ± 0,132	0,169 ± 0,050	0,584 ± 0,313	0,074 ± 0,039
mutRlv	Partie aérienne	2,079 ± 0,425	0,372 ± 0,081	0,976 ± 0,415	0,214 ± 0,105
	Partie sous-terrine	0,653 ± 0,132	0,225 ± 0,083	0,596 ± 0,115	0,075 ± 0,017

Traitement		P21	
		Poids frais	Poids sec
EDS	Partie aérienne	1,108 ± 0,297	0,175 ± 0,048
	Partie sous-terrine	0,788 ± 0,206	0,118 ± 0,011
Pff21	Partie aérienne	1,987 ± 0,080	0,290 ± 0,010
	Partie sous-terrine	0,456 ± 0,210	0,108 ± 0,010
Rlv	Partie aérienne	1,092 ± 0,148	0,165 ± 0,015
	Partie sous-terrine	0,868 ± 0,158	0,110 ± 0,021
mut Rlv	Partie aérienne	1,222 ± 0,364	0,182 ± 0,054
	Partie sous-terrine	1,000 ± 0,185	0,143 ± 0,015

Annexe 7

Poids frais et poids secs (g) des parties aériennes et souterraines des témoins malades et traités pour les géotypes JI1412 Polar, P615, Kelvedon Wonder Peas et P21.

Traitement		JI1412		Polar	
		Poids frais	Poids sec	Poids frais	Poids sec
Fop R1	Partie aérienne	1,152 ± 0,074	0,194 ± 0,010	1,263 ± 0,184	0,218 ± 0,039
	Partie sous-terrine	0,909 ± 0,019	0,158 ± 0,006	0,543 ± 0,121	0,110 ± 0,007
Fop R2F42	Partie aérienne	0,690 ± 0,039	0,121 ± 0,002	1,199 ± 0,593	0,202 ± 0,097
	Partie sous-terrine	0,346 ± 0,247	0,073 ± 0,031	0,349 ± 0,099	0,079 ± 0,024
Fop R1 * Pff21	Partie aérienne	1,452 ± 0,077	0,249 ± 0,004	2,048 ± 0,282	0,371 ± 0,048
	Partie sous-terrine	0,596 ± 0,157	0,103 ± 0,035	0,585 ± 0,083	0,163 ± 0,007
Fop R1 * Rlv	Partie aérienne	1,101 ± 0,021	0,212 ± 0,050	1,853 ± 0,192	0,324 ± 0,037
	Partie sous-terrine	0,295 ± 0,033	0,093 ± 0,040	0,727 ± 0,109	0,140 ± 0,026
Fop R1 * mutRlv	Partie aérienne	1,299 ± 0,248	0,236 ± 0,058	1,668 ± 0,184	0,290 ± 0,036
	Partie sous-terrine	0,854 ± 0,163	0,133 ± 0,032	0,894 ± 0,279	0,139 ± 0,057
Fop R2F42* Pff21	Partie aérienne	1,270 ± 0,184	0,222 ± 0,047	1,514 ± 0,162	0,269 ± 0,039
	Partie sous-terrine	0,596 ± 0,270	0,109 ± 0,022	0,462 ± 0,280	0,126 ± 0,029
Fop R2F42* Rlv	Partie aérienne	1,066 ± 0,047	0,185 ± 0,008	0,931 ± 0,312	0,262 ± 0,018
	Partie sous-terrine	0,483 ± 0,222	0,079 ± 0,012	0,375 ± 0,135	0,137 ± 0,105
Fop R2F42* mutRlv	Partie aérienne	1,052 ± 0,447	0,185 ± 0,088	1,240 ± 0,591	0,244 ± 0,033
	Partie sous-terrine	0,780 ± 0,582	0,073 ± 0,041	0,525 ± 0,244	0,096 ± 0,033

Traitement		P615		Kelvedon Wonder Peas	
		Poids frais	Poids sec	Poids frais	Poids sec
Fop R1	Partie aérienne	1,395 ± 0,273	0,234 ± 0,042	0,458 ± 0,135	0,228 ± 0,024
	Partie sous-terrine	0,882 ± 0,087	0,147 ± 0,003	0,352 ± 0,171	0,067 ± 0,017
Fop R2F42	Partie aérienne	0,814 ± 0,540	0,175 ± 0,062	0,296 ± 0,199	0,131 ± 0,040
	Partie sous-terrine	0,374 ± 0,145	0,084 ± 0,039	0,300 ± 0,146	0,070 ± 0,032
Fop R1 * Pff21	Partie aérienne	1,967 ± 0,205	0,323 ± 0,060	1,475 ± 0,455	0,271 ± 0,010
	Partie sous-terrine	0,955 ± 0,188	0,247 ± 0,032	0,359 ± 0,228	0,066 ± 0,023
Fop R1 * Rlv	Partie aérienne	1,320 ± 0,757	0,257 ± 0,073	0,595 ± 0,171	0,234 ± 0,098
	Partie sous-terrine	0,521 ± 0,242	0,123 ± 0,058	0,444 ± 0,173	0,057 ± 0,025
Fop R1 * mutRlv	Partie aérienne	1,795 ± 0,333	0,345 ± 0,057	0,772 ± 0,295	0,220 ± 0,041
	Partie sous-terrine	0,535 ± 0,101	0,207 ± 0,070	0,156 ± 0,092	0,033 ± 0,019
Fop R2F42* Pff21	Partie aérienne	0,958 ± 0,739	0,244 ± 0,044	0,215 ± 0,137	0,144 ± 0,108
	Partie sous-terrine	0,508 ± 0,110	0,121 ± 0,042	0,114 ± 0,010	0,057 ± 0,029
Fop R2F42* Rlv	Partie aérienne	1,650 ± 0,292	0,305 ± 0,065	0,241 ± 0,052	0,179 ± 0,046
	Partie sous-terrine	0,684 ± 0,145	0,163 ± 0,036	0,131 ± 0,052	0,046 ± 0,004
Fop R2F42* mutRlv	Partie aérienne	0,961 ± 0,811	0,242 ± 0,060	0,143 ± 0,047	0,113 ± 0,036
	Partie sous-terrine	0,740 ± 0,221	0,155 ± 0,039	0,031 ± 0,009	0,019 ± 0,002

Traitement		P21	
		Poids frais	Poids sec
Fop R1	Partie aérienne	0,965 ± 0,175	0,159 ± 0,024
	Partie sous-terrain	0,642 ± 0,239	0,121 ± 0,040
Fop R2F42	Partie aérienne	0,363 ± 0,341	0,133 ± 0,019
	Partie sous-terrain	0,630 ± 0,329	0,077 ± 0,034
FopR1*Pff21	Partie aérienne	1,459 ± 0,119	0,222 ± 0,018
	Partie sous-terrain	0,551 ± 0,236	0,100 ± 0,020
Fop R1* Rlv	Partie aérienne	0,781 ± 0,112	0,154 ± 0,030
	Partie sous-terrain	0,373 ± 0,134	0,092 ± 0,021
Fop R1* mutRlv	Partie aérienne	0,756 ± 0,181	0,153 ± 0,057
	Partie sous-terrain	0,426 ± 0,332	0,097 ± 0,046
Fop R2F42*Pff21	Partie aérienne	0,186 ± 0,017	0,141 ± 0,013
	Partie sous-terrain	0,057 ± 0,023	0,030 ± 0,007
Fop R2F42* Rlv	Partie aérienne	0,126 ± 0,042	0,093 ± 0,028
	Partie sous-terrain	0,557 ± 0,282	0,099 ± 0,048
Fop R2F42* mutRlv	Partie aérienne	0,090 ± 0,045	0,071 ± 0,039
	Partie sous-terrain	0,089 ± 0,080	0,026 ± 0,022