

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
Laboratoire de Protection et Valorisation des Ressources Agro-Biologique



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 : Biotechnologie microbienne

**Etude de l'effet de d'antagonisme des souches
Pseudomonas fluorescents sur la fusariose
vasculaire du pois**

Présenté par :

BERSALI Salma & BOUFELLAH Fella

Soutenu devant le jury :

| | | | |
|------------------------------|------------|--------|--------------------|
| M ^{me} AMMAD F. | M.C.A | USDB 1 | Présidente de jury |
| M ^{me} AIT SAADI N. | M.A.A | USDB 1 | Examinatrice |
| M ^{lle} YALA A. | Doctorante | USDB 1 | Promotrice |

2017/2018

*“Cela semble toujours impossible,
jusqu’à ce qu’on le fasse ”*

Nelson Mandela

Remerciements

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

Nous tenons tout particulièrement à remercier notre promotrice **M^{me} YALA A.**, qui a toujours honoré ses engagements, par sa disponibilité, son savoir et son sérieux, elle a su nous communiquer une méthodologie et une rigueur de travail.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements au **Pr. Benchabane M.**, directeur du laboratoire de Phytomycologie, d'avoir accepté la direction de ce travail. Ses qualités scientifiques et ses compétences ont largement contribué à notre formation.

Nous remercions très sincèrement nos enseignantes **M^{me} Ammad F.** et **M^{me} Ait Saadi N.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Notre gratitude ira également à **M^{me} Foudil D.**, ingénieure de laboratoire de Phytomycologie. Nous la remercions pour sa disponibilité, ses encouragements et ses conseils tout au long de ce travail.

Nous n'oublions pas de citer ceux qui nous ont aidés à la réalisation de notre partie expérimentale, **Mr Bouarar W.** ingénieur de laboratoire de Phytovirologie, l'ingénieure de laboratoire de Phytopharmacie et l'ingénieur du laboratoire de cultures maraichères. Nous remercions chacun d'eux pour leur aide et leur disponibilité.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants du département de Biotechnologie qui ont contribué à notre formation, et plus particulièrement **Pr. Belkahla H.**, **Pr. Krimi Z.**, **Mme Benchabane**, **Mme Bouchnak**, **Mme Ammad F.** et bien sûr notre Professeur **Benchabane M.**

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous ceux qui nous ont supporté, encouragé ou ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie cette thèse

A ma très chère Mère

Affable, honorable, aimable

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance.

A mon cher Père

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour moi.

A mes chers frères et sœurs

Khaled, Ayoub, Khadidja, Soumia et Sarah

A mon oncle Hamid

A mes beaux parents

A tous les membres de ma famille, petits et grands

A ma chère copine et binôme, la personne avec qui j'ai eu l'honneur de partager tout le parcours de la réalisation de ce travail, Fella

A toute ma promotion de Biotechnologie microbienne (2017/2018).

A tous ceux qui j'aime.

SALMA

Dédicaces

A mon cher Papa

Autant de phrases et d'expressions ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance, tu as su graver en moi le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en moi

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain

A ma chère Mère

Honorable et aimable tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de la tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'accompagner

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour

A mes chères sœurs

Hassina, Karima ET Souad

Merci pour votre soutien chaleureux que vous m'avez apporté tout au long de ma vie

A mon cher frère Amine

A ma nièce adorée Manel et son frère Walid

A mes beaux parents

A mes meilleures amies

Amira, Rahima, Houda ET Zineb

A la personne avec qui j'ai eu l'honneur de partager la réalisation

de ce travail, ma chère copine et mon binôme SELMA

A toute ma promotion de Biotechnologie microbienne sans exception.

FELLA

Résumé

Etude de l'effet antagoniste des souches de *Pseudomonas* fluorescents sur la fusariose vasculaire du pois

La fusariose vasculaire du pois causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* est l'une des maladies des plantes d'origine tellurique la plus répandue, et dont les incidences sur la culture sont les plus graves. 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 et phytostimulantes de cinq souches rhizobactériennes, quatre appartenants à *Pseudomonas* fluorescents (F21, BB10, C7R12 et PP) et une appartenant à *Rhizobium* sp. (*Rhizobium legumiinosarum* bv. *viceae*), vis-à-vis d'un isolat fongique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (R2F42) en interaction avec deux génotypes de pois (P21 et Polar). Notre expérimentation a été réalisée sous serre en verre en condition semi-contrôlée.

Les résultats ont mis en évidence que les cinq souches bactériennes ont montré une activité antagoniste et phytostimulante vis-à-vis de la souche de Fop R2F42 chez le génotype Polar. Ces résultats sont détectables durant les 26 jours de suivi du développement de la maladie, par le calcul de son taux d'infection, sa sévérité, l'AUDPC (Area Under the disease progress curve), les paramètres de croissance ainsi que la teneur en chlorophylle. Toutefois chez le génotype P21, seule la stimulation de la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine a pu être observée.

En comparant les résultats de l'effet antagoniste obtenu, nous constatons qu'il existe une grande correspondance entre les résultats du taux d'infection, la sévérité de la maladie et l'AUDPC, où la souche la plus performante est la souche C7R12 suivi par la souche F21.

Mots clés : antagonisme, phytostimulation, PGPR, *Pseudomonas fluorescens*, *Pisum sativum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, *Rhizobium legumiinosarum* bv. *viceae*

Absract

Study of the antagonistic effect of fluorescent *Pseudomonas* strains on vascular fusarium of pea

Fusarium vascular wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* is one of the most common plant diseases of land-based origin, with the most severe impact on culture. Rhizobacteria have been shown to be effective in stimulating plant growth and reducing the adverse effects of phytopathogenic agents.

Our work aims is to demonstate *in situ* the antagonistic and phytostimulation potentialities of five rhizobacterial strains, four belonging to fluorescent *Pseudomonas* (F21, BB10, C7R12 and PP) and one belonging to *Rhizobium* sp. (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*), against a fungal isolate of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (R2F42) interacting with two pea genotypes (P21 and Polar). Our experiment was carried out under a glass greenhouse under semi-controlled conditions.

The results showed that the five bacterial strains represent antagonist and phytostimulation activities against the Fop R2F42 strain in the Polar genotype. These results are detectable during the 26 days following the development of the disease, by the calculation of its infection rate, its severity, AUDPC (Area Under the disease progress curve), the growth settings as well as the content of chlorophylls. However, in the P21 genotype, only the stimulation of the fresh and dry biomass of the aerial and underground part could be observed.

By comparing the results of the antagonistic effect obtained, we find that there is a great correspondence between the results of the infection rate, the severity of the disease and the AUDPC, where the best-performing strain is the C7R12 strain followed by F21 strain.

Key words: antagonism, phytostimulation, PGPR, *Pseudomonas fluorescens*, *Pisum sativum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi.*, *Rhizobium legumiinosarum* bv.*viceae*

ملخص

دراسة التأثير العدائي لبكتيريا *Pseudomonas fluorescent* ضد مرض *fusariose vasculaire* للباذلاء

إن المرض *fusariose vasculaire* للباذلاء المتسبب من طرف *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* هو من أحد الأمراض النباتية التي تنتقل عن طريق التربة و الأكثر شيوعاً ، والذي له تأثير سلبي على المحاصيل الزراعية، وقد أثبتت البكتيريا الجذرية فعاليتها في تحفيز نمو النباتات والحد من الآثار الضارة للأمراض النباتية.

يهدف عملنا إلى إبراز القدرات الدفاعية و تحفيز نمو النباتات لخمس سلالات بكتيرية نافعة، أربعة منها تنتمي

إلى *Pseudomonas fluorescent* و واحدة تنتمي إلى *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* ، ضد سلالة *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* ، بالتفاعل مع نمطين وراثيين للباذلاء Polar و P21 ، بداخل بيت بلاستيكي تحت ظروف شبه مراقبة.

برهنت النتائج أن السلالات البكتيرية الخمسة قد أبدت نشاط عدائي و القدرة على تحفيز نمو النباتات ضد السلالة المرضية للباذلاء. هذه النتائج تم اكتشافها بعد 26 يوم من التجربة، عن طريق حساب نسبة الإصابة، حدة المرض، تطور المرض (AUDPC)، مقاييس النمو، و معدل اليخضور، لكن مع السلالة P21 تمت فقط ملاحظة تحفيز الكتلة الحيوية الطازجة والجافة للجزء الجوي والسفلي للنباتة.

وبمقارنة النتائج التي تم الحصول عليها من النشاط العدائي ، نجد أن هناك تطابقا كبيرا بين نتائج نسبة الإصابة، حدة المرض و تطور المرض (AUDPC)، مع العلم أن السلالة البكتيرية التي أعطت أفضل النتائج هي C7R12 ثم تليها السلالة F21

كلمات مفتاحية: النشاط العدائي، تحفيز نمو النباتات، PGPR ، *Pseudomonas fluorescens* ، *Pisum sativum* ، *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*، *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*

Liste des abréviations

| | |
|------------------------|--|
| Fop | <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i> |
| Rlv | Rhizobium leguminosarum bv. Viceae |
| PP | <i>Pseudomonas putida</i> |
| Pf | <i>Pseudomonas fluorescent</i> |
| bv | biovare |
| f.sp | forme special |
| Spp | especies |
| Sp | espèce |
| DRB | Deleterious Rhizobacteria |
| EPR | Emergence promoting rhizobacteria |
| PGPR | Plant growth promoting rhizobacteria |
| NPR | Nodulating promoting rhizobacteria |
| LPS | Lipopolysaccharides |
| DAPG | 2-4 diacétylphoroglucinol |
| ISR | Induced systemic resistance |
| ABA | acide abscissique |
| AIA | Acide Indole 3-Acétique |
| HCN | acide cyanhydrique |
| EDS | eau distillée stérile |
| Fe | fer |
| FN | facteur Nod |
| Ph | potentiel hydrogène |
| et al | et autre |
| PDA | potatos dextros agar |
| YMA | yeast mannitol agar |
| KB | King B |
| °C | celsius |
| % | pourcent |
| nm | nanomètre |
| µm | micromètre |
| mm | millimètre |
| cm | centimètre |
| mg | milligramme |
| g | grame |
| ml | millilitre |
| min | minute |
| h | heure |
| rpm | tour par minute |
| F | feuille |
| CFU | colonies forming unities |
| DO | densité optique |
| S | sévérité de la maladie |
| T.I.% | taux d'infection |
| AUDPC | Area Under the disease progress curve |
| ANOVA | analyse de la variance |
| Chl_a | Chlorophylle a |
| Chl_b | Chlorophylle b |
| Chl_T | Chlorophylle total |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Les mécanismes des PGPR sur la plante..... | 6 |
| Figure 2 : Photo microscopique de <i>P.fluorescens</i> | 7 |
| Figure 3 : Représentation de l'interaction plantes-microorganismes dans la rhizosphère..... | 8 |
| Figure 4: Nodules..... | 21 |
| Figure 5: Feuilles et fleurs de pois..... | 24 |
| Figure 6: structure d'une plante <i>Pisum sativum</i> | 26 |
| Figure 7: Aspect microscopique du <i>Fusarium oxysporum</i> | 32 |
| Figure 8: Symptômes de la fusariose vasculaire chez le pois..... | 35 |
| Figure 9: Cycle infectieux du <i>Fusarium oxysporum</i> | 36 |
| Figure 10: la race de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>pisi</i> | 40 |
| Figure 11: Les souches bactériennes utilisées..... | 41 |
| Figure 12: Germination des graines dans des pots de Perlite 7 jours après le semi..... | 42 |
| Figure 13: Préparation de l'inoculum fongique..... | 43 |
| Figure 14: Inoculation des plantes..... | 44 |
| Figure 15: Dispositif expérimental..... | 45 |
| Figure 16 : Echelle de l'évaluation des symptômes typiques de la fusariose vasculaire de pois..... | 46 |
| Figure 17 : Dosage de chlorophylle..... | 48 |
| Figure 18 : Expression symptomatologique chez le génotype Polar..... | 53 |
| Figure 19 : Coupe longitudinales au niveau du collet du génotype Polar..... | 55 |
| Figure 20 : AUDPC sur le génotype Polar..... | 57 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Termes adoptés pour classer les mécanismes par lesquels les PGPR stimulent la croissance des plantes..... | 5 |
| Tableau 2 : Protection des plantes contre différentes maladies d'origine tellurique, assurée par des souches de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents..... | 10 |
| Tableau 3 : Exemples d'associations entre rhizobia et légumineuses. | 21 |
| Tableau 4 : les principales maladies virales de la culture du pois..... | 28 |
| Tableau 5 : Génotypes de pois utilisés. | 40 |
| Tableau 6 : Souches bactériennes utilisées. | 41 |
| Tableau 7 : Traitements étudiés. | 45 |
| Tableau 8 : Analyse de variance de taux d'infection chez le génotype Polar. | 52 |
| Tableau 9 : Taux d'infection pour le génotype Polar. | 52 |
| Tableau 10 : Analyse de variance de la sévérité de la maladie chez le génotype Pol..... | 54 |
| Tableau 11 : Sévérité de la maladie chez le génotype Polar..... | 55 |
| Tableau 12 : Analyse de variance de l'AUDPC chez le génotype Polar. | 56 |
| Tableau 13 : Analyse de variance de poids frais et poids sec chez le génotype P21..... | 58 |
| Tableau 14 : Poids frais et poids sec des parties aériennes et souterraines des traitements bactérisés chez le génotype P21. | 58 |
| Tableau 15 : Analyse de variance de poids frais et poids sec chez le génotype Polar..... | 59 |
| Tableau 16 : Poids frais et poids sec des parties aériennes et souterraines chez le génotype Polar..... | 59 |
| Tableau 17 : Analyse de variance de la longueur de la tige chez le génotype Polar..... | 60 |
| Tableau 18 : Longueur de la tige pour le génotype Polar..... | 60 |
| Tableau 19 : Analyse de variance de la teneur en chlorophylle de génotype Polar..... | 61 |
| Tableau 20 : Teneur en chlorophylle de génotype Polar..... | 61 |

Table des matières

| | |
|--|----------|
| Remerciements | 4 |
| Dédicace | 5 |
| Résumé | 7 |
| Abstract..... | 8 |
| ملخص..... | 9 |
| Liste des abréviations | 10 |
| Liste des Figures | 11 |
| Liste des tableaux | 12 |
| Table des matières..... | 13 |
| INTRODUCTION..... | 1 |
| CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE..... | 3 |
| 1. RHIZOBACTERIES | 4 |
| 1.1. Rhizobacteries non symbiotiques : <i>Pseudomonas fluorescents</i> | 6 |
| 1.1.1. Effets de <i>Pseudomonas fluorescents</i> | 9 |
| 1.1.1.1. Stimulation de la croissance des plantes..... | 9 |
| 1.1.1.2. Protection des plantes contre les maladies d'origine tellurique..... | 10 |
| 1.1.1.3. Stimulation de la germination | 11 |
| 1.1.1.4. Stimulation des interactions entre la microflore symbiotique et la plante hôte..... | 11 |
| 1.1.2. Mécanismes responsables des effets bénéfiques..... | 12 |
| 1.1.2.1. Modification des équilibres microbiens..... | 12 |
| 1.1.2.2. Modification du métabolisme et de la physiologie de la plante..... | 17 |
| 1.2. Rhizobactéries symbiotiques : <i>Rhizobium sp</i> | 20 |
| 1.2.1. Caractérisation morphologique: | 20 |
| 1.2.2. Symbiose légumineuse-Rhizobium..... | 20 |
| 1.2.3. Rhizobium et lutte biologique..... | 22 |
| 2. Le pois | 23 |
| 2.1. Classification..... | 24 |
| 2.2. Taxonomie | 25 |
| 2.3. Ecologie et croissance..... | 26 |
| 2.4 Importance du pois..... | 27 |
| 2.4.1. Production dans le monde..... | 27 |
| 2.4.2. Production en Algérie..... | 27 |
| 2.5. Facteurs limitant la production du pois..... | 27 |
| 2.5.1. Les contraintes abiotiques..... | 27 |
| 2.5.2. Les contraintes biotiques..... | 27 |
| 3. La fusariose vasculaire..... | 29 |
| 3.1. Agent causal..... | 29 |

| | | |
|--------|---|----|
| 4. | <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>pisi</i> | 30 |
| 4.1. | Taxonomie..... | 30 |
| 4.2. | Caractères de l'agent pathogène..... | 31 |
| 4.2.1. | Caractères macroscopiques..... | 31 |
| 4.2.2. | Caractères microscopique..... | 31 |
| 4.3. | Ecologie..... | 32 |
| 4.4. | Races..... | 33 |
| 4.5. | Symptômes de la maladie..... | 34 |
| 4.6. | Cycle..... | 35 |
| 4.7. | Lutte..... | 37 |
| 4.7.1. | Les pratiques culturales..... | 37 |
| 4.7.2. | Méthodes chimiques..... | 37 |
| 4.7.3. | La lutte génétique..... | 37 |
| 4.7.4. | Méthodes biologiques..... | 38 |
| | CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES | 39 |
| 1. | Matériels Biologique | 40 |
| 1.1. | Matériels végétal | 40 |
| 1.2. | Isolats fongiques phytopathogènes | 40 |
| 1.3. | Isolats bactériens phytobénéfiques..... | 40 |
| 2. | Activité antagoniste | 42 |
| 2.1. | Désinfection des semences..... | 42 |
| 2.2. | Préparation des inoculums | 43 |
| 2.2.1. | Inoculum fongique | 43 |
| 2.2.2. | Inoculum bactérienne | 43 |
| 2.3. | Inoculation des plantes | 44 |
| 2.4. | Dispositif expérimental | 44 |
| 2.5. | Paramètres étudiés..... | 46 |
| 2.5.1. | Taux d'infection..... | 46 |
| 2.5.2. | Sévérité de la maladie..... | 47 |
| 2.5.3. | AUDPC..... | 47 |
| 2.5.4. | Paramètres de croissance..... | 48 |
| 2.5.5. | Dosage de la chlorophylle..... | 48 |
| 2.6. | Analyse statistique | 49 |
| | CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION | 50 |
| 1. | Taux d'infection | 51 |
| 2. | Sévérité de la maladie..... | 53 |
| 3. | AUDPC..... | 56 |
| 4. | Paramètres de croissance..... | 57 |

| | |
|--|----|
| 4.1. Poids frais et poids sec..... | 57 |
| 4.2. La longueur de la tige..... | 60 |
| 5. Teneur en chlorophylle | 61 |
| 6. Discussion | 62 |
| CONCLUSION | 65 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 67 |
| ANNEXES | 92 |

INTRODUCTION

La production agricole mondiale a connu une augmentation importante sur les plans quantitatifs, qualitatifs et diversification des produits, afin de subvenir aux besoins alimentaires d'une population humaine sans cesse croissante (FAO, 2010).

L'intensification des systèmes de production par la mécanisation, l'utilisation des intrants chimiques sous forme de fertilisants, pesticides et l'utilisation des génotypes exigeants davantage d'intrants, sont à la base de l'amélioration des rendements des cultures. Néanmoins, les effets négatifs des produits chimiques de synthèse sur l'environnement (Elmholt, 1991), sur la biodiversité (Giller et al., 1997), sur la santé humaine (Huang et al., 2005) et sur le développement des résistances chez les agents pathogènes (Ishii, 2006), ont motivé la communauté scientifique à chercher d'autres alternatives aux intrants chimiques afin d'assurer la durabilité de l'agriculture, en augmentant sa rentabilité et en sauvegardant les ressources naturelles aux générations futures.

La lutte biologique au moyen d'organismes antagonistes suscite un intérêt grandissant, même si les exemples de commercialisation sont encore loin par rapport à la lutte chimique classique (Benhamou et Picard, 1999). Parmi les agents exploités en lutte biologique, les rhizobactéries PGPR (Plant growth promoting rhizobacteria), ont été reconnues comme des agents potentiels de biocontrôle (Bloemberg et Lugtenberg, 2001). L'effet bénéfique des PGPR est assuré principalement soit par des mécanismes directs à travers la stimulation de la germination des graines, la stimulation de la croissance végétale et l'induction de la résistance systémique «ISR», ou par des mécanismes indirects via leur pouvoir compétitif à l'égard des autres communautés microbiennes, par l'antibiose, la production des sidérophores, le cyanure d'hydrogène (HCN) et les composés volatils. De ce fait les rhizobactéries sont très intéressantes pour l'application en agriculture comme biofertilisants, biopesticides et en phytoremédiation (Berg, 2009).

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

Cette maladie d'origine tellurique était la plus redoutée par les agriculteurs car de nombreuses formes spéciales attaquent spécifiquement plusieurs cultures vivrières (Palmier Dattier, tomate, melon, concombre, pois), les symptômes sont généralement nombreux et apparaissent sous formes différentes avec une intensité plus ou moins variable (Roger, 1953).

L'objectif de notre travail consiste à mettre en évidence les potentialités antagonistes et phytostimulantes de cinq souches rhizbactériennes (quatre de *Pseudomonas* fluorescents : F21, BB10, C7R12 et PP, et une souche de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*), vis-à-vis d'un isolat fongique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (R2F42), en interaction avec deux génotypes de pois (P21 et Polar).

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les Rhizobactéries

La rhizosphère représente la partie du sol qui entoure les racines et dans laquelle la microfaune est influencée par ces dernières (Raaijmakers, 2009). Elle est considérée comme étant le siège des interactions mutuelles entre le sol, ses microorganismes et la plante.

Les rhizobactéries sont des bactéries qui présentent l'aptitude à coloniser cette zone de façon intense (Schroth et Hancock, 1981, 1982). Ces bactéries peuvent présenter des effets bénéfiques sur les plantes grâce à leur position stratégique à l'interface sol-racine. Elles sont connues sous le nom de PGPR pour Plant Growth Promoting Rhizobacteria, la plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées (polysaccharides, acides organiques et protéines) , qui favorisent le développement de la microflore (Mench, 1985). Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter (Schroth et Hildenbrand, 1964), et de même, la densité des bactéries augmente considérablement dans la rhizosphère que dans le sol distant des racines : il s'agit de «l'effet rhizosphère» (Foster et Rovira, 1978). La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes (Loper et Schroth, 1986a), qui résultent de la synthèse de métabolites tels que les sidérophores, antibiotiques, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (Brown, 1974; Neilands et Leong, 1986; Fravel, 1988; Voisard et *al.*, 1989; Van Peer et *al.*, 1991). Si la plante libère des composés organiques, à l'inverse elle prélève de l'eau et des éléments minéraux indispensables à son métabolisme. Ce prélèvement est d'ailleurs associé à l'extrusion de protons qui contribue à abaisser la valeur du pH de la rhizosphère (Bienfait, 1986).

Les échanges entre la plante et le sol sont influencés par les rhizobactéries et ce d'autant plus que leur densité et leur activité sont élevées. Cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante et de la fréquence des infections fongiques de la racine. Selon les rhizobactéries présentes, ces modifications peuvent être positives ou négatives pour la plante. Leur étude a donc suscité l'intérêt de nombreux chercheurs.

Les PGPR offrent des applications intéressantes en agriculture comme la biofertilisation, la lutte biologique par les biopesticides (Tableau 1) et d'autres applications environnementales telles que l'amélioration du reboisement des sols stériles ou chimiquement

pollués (Bashan et Holguin, 2002 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Weyens et *al.*, 2009). Les PGPR sont classées selon leurs activités en :

- Biofertilisants (améliorent la disponibilité des nutriments aux plantes)
- Phytostimulateurs (promotion de la croissance par la production des phytohormones),
- Biopesticides (biocontrôle des agents phytopathogènes). (Somers et *al.* , 2004) (Tableau 1, Figure 1)

Tableau 1 : Termes adoptés pour classer les mécanismes par lesquels les PGPR stimulent la croissance des plantes (Martinez-Viveros et *al.*, 2010)

| Termes | Définitions | Mécanismes | Références |
|------------------|---|---|---|
| Biofertilisant | Une substance contenant des microorganismes, quand elle est appliquée à la semence, la surface de la plante ou au sol, elle colonise la rhizosphère, et stimule la croissance végétale par l'amélioration de la nutrition ou la disponibilité des nutriments essentiels à la plante | -Fixation biologique de l'azote. -Solubilisation du phosphore insoluble. | Vessey(2003);Somers <i>et al.</i> (2004);Fuentes-Ramirez et Caballero-Mellado(2006) |
| Phytostimulateur | Microorganisme ayant la faculté de produire ou changer la concentration des régulateurs de croissance tels que l'acide indole acétique AIA, l'acide gibbérellique, les cytokinines, et l'éthylène | -Production des phytohormones (auxines, cytokinines et gibbérellines) -Réduction de la concentration d'éthylène (à l'intérieur de la plante) | Lugtenberg <i>et al.</i> (2002); Somers <i>et al.</i> (2004) |
| Biopesticide | Microorganisme améliorant la croissance des plantes par le contrôle des agents phytopathogènes principalement par la production des antibiotiques et des métabolites antifongiques | -Production des antibiotiques (sidérophores, HCN, métabolites antifongiques) -Production des enzymes qui dégradent les parois cellulaires des champignons Compétitivité à l'encontre des agents phytopathogènes, principalement par la production des antibiotiques et des métabolites antifongiques -Résistance systémique acquise et induite | Vessey(2003); Somers <i>et al.</i> (2004); Chandler <i>et al.</i> (2008) |

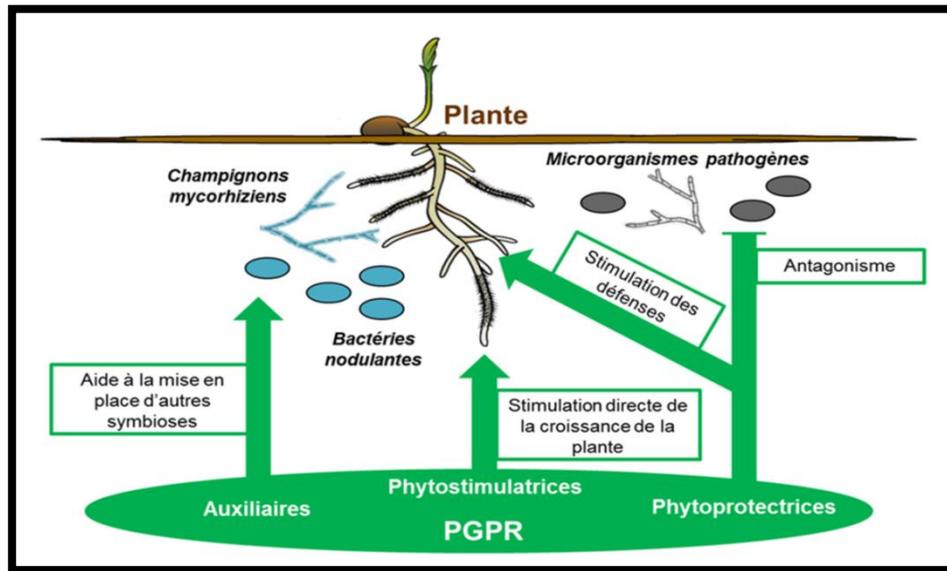


Figure1 : Les mécanismes des PGPR sur la plante (Droge et *al.* , 2013)

1.1. Rhizobacteries non symbiotique : *Pseudomonas fluorescents*

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important, qui appartient à la sous-classe γ des protéobactéries et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Bossis et *al.*, 2000 ; Palleroni et Moore, 2004). Leurs caractères principaux sont :

- Bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires (Figure2), aérobies à métabolisme strictement respiratoire (Palleroni, 2008).
- La plupart sont saprophytes (Bossis et *al.*, 2000).
- Quelques espèces comme *P. syringea*, sont phytopathogènes (Stanier et *al.*, 1966), et certaines peuvent causer des infections chez l'homme, particulièrement *P. aeruginosa*, reconnue comme pathogène opportuniste et causant des infections pulmonaires mortelles chez les patients atteints de fibrose kystique (Mavrodi et *al.*, 2001).
- les températures optimales à leur croissance varient entre 4 °C à 42°C (Palleroni, 2008).
- Toutes les espèces de ce genre ne peuvent pas croître à un pH inférieur à 4.5 (Palleroni, 1984).
- Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes, tel que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon et la cellulose (Palleroni, 1984)
- Certaines populations de *Pseudomonas* spp. fluorescents ont la possibilité de dissimiler l'azote (Clays-Josserand et *al.*, 1995). Cette dissimilation est plus ou moins complète selon le groupe taxonomique considéré (Matsubara et Zumft, 1982).

- Ces bactéries contribuent significativement à la réduction des nitrates et des nitrites qui constituent des polluants des nappes phréatiques (Latour et Lemanceau, 1997).
- Elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques (Euzéby, 2008) (Visca *et al.*, 2007).

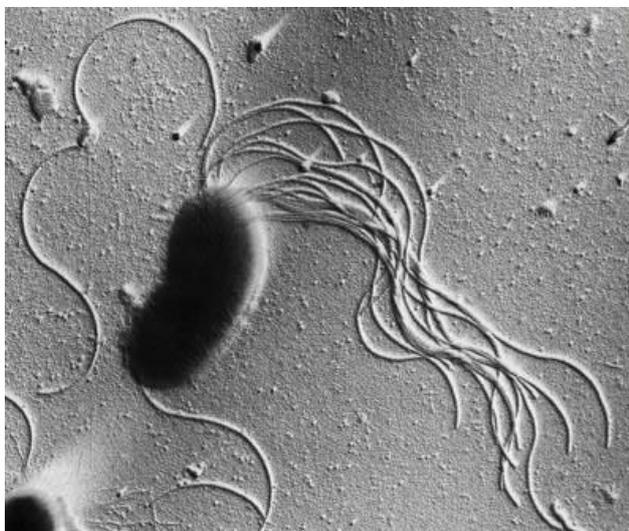


Figure 2: Photo microscopique de *P.fluorescens* (Hseuh *et al.* 1998)

Les *Pseudomonas spp.* fluorescents saprophytes sont les habitants type des sols agricoles et des rhizoplans, elles sont impliquées dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth *et al.*, 1992). Ces bactéries sont considérées comme des composés biologiques du sol agricole, et sont responsables de la suppression de certaines maladies fongiques dans les cultures.

Ces *Pseudomonas* diminuent la sévérité de la maladie et stimulent la croissance des plantes comme le riz (Sakthivel *et* Gnanamanickam, 1987), le blé (Weller *et* Cook, 1983), la pomme de terre (Kloepper *et al.*, 1980b), la canne à sucre (Suslow *et* Schroth, 1982), le radis (Kloepper *et* Schroth, 1978), le coton (Howell *et* Stipanovic, 1980), le pois, le lin, et la tomate. Différentes espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescents ont été rapportées à la fois comme stimulatrices de la croissance des plantes (PGPR), mais aussi comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (Salmone *et al.*, 2001) (Figure 3). Ces capacités sont dues à des mécanismes directs et indirects.

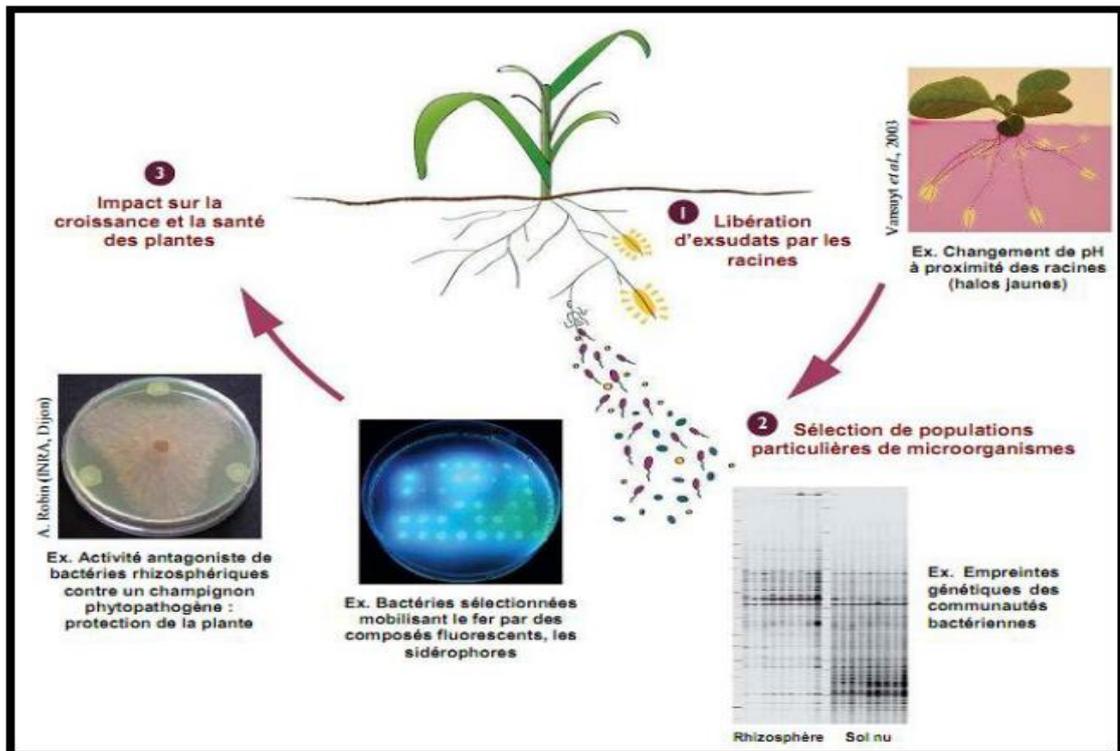


Figure 3 : Représentation schématique de l'interactions plantes-microorganismes dans la rhizosphère (Lamanceau et *al.*, 2006)

Les mécanismes indirects utilisés par ces *Pseudomonas spp.* fluorescents, comprennent la production d'antibiotiques contre des agents pathogènes (Thomashow et *al.*, 1990), la réduction de fer disponible pour les phytopathogènes présents dans la rhizosphère (Scher et Baker, 1982), la synthèse d'enzymes dégradant les paroi cellulaires fongiques et la compétition avec les microorganismes délétères pour les niches sur la plante.

Les mécanismes directs concernent, la séquestration du fer pour les plantes par les sidrophores, la production de phytohormones ou encore par solubilisation de formes de phosphore insolubles, rendant ainsi le phosphore biodisponible (Salisbury, 1994), et la diminution des taux d'éthylène produits par la plante (Glick, 1995; Glick et *al.*, 1999).

1.1.1. Effets de *Pseudomonas fluorescents*

1.1.1.1. Stimulation de la croissance des plantes

La synthèse de substances stimulant la croissance de la plante a souvent été démontrée *in vitro* avec des cultures pures de nombreuses bactéries PGPR, mais également lors de l'association avec la plante.

➤ Solubilisation du phosphate

La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilitent la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (Kim et *al.*, 1998; Richardson, 2001).

Exemple des espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescents solubilisant le phosphate : *P. chlororaphis*, *P. putida* et *P. aeruginosa* (Cattelan et *al.*, 1999; Bano et Musarat, 2003).

➤ Synthèse de phytohormones

Ces substances correspondent principalement à des phytohormones (auxines, cytokinines, gibbérellines). L'ABA (l'acide abscissique) est notamment connu pour induire la fermeture des stomates et pour être transporté dans toute la plante, sa production par les bactéries rhizosphériques pourrait être extrêmement importante pour la croissance des plantes dans des milieux arides ou semi-arides.

➤ Dénitrification

La dénitrification est un processus microbien dans lequel les oxydes d'azote sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons, pour la production d'énergie en absence d'oxygène. Les *Pseudomonas spp.* fluorescents sont les dénitrifiant les plus communs des sols des régions tempérées (Gamble et *al.*, 1977).

➤ Les médiateurs de l'absorption de fer

La majorité des espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescents produisent des sidérophores. Ainsi un nombre important d'espèces de plantes peuvent assimiler les complexes Fe^{3+} /sidérophore bactériens (Becker et Cook, 1988; Loper, 1988; Bitter et *al.*, 1991). Les espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescents produisent aussi la pseudomonine (un alcaloïde provenant de cultures de *Pseudomonas fluorescens*) comme

P. fluorescens, *P. stutzeri* et *P. putida* (Lewis et al., 2000; Mossialos et al., 2000; Mercado-Blanco et al., 2001).

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

L'utilisation des bactéries pour lutter contre les maladies d'origine tellurique a fait l'objet de nombreuses synthèses bibliographiques (Schroth et Hancock, 1982; Leong, 1986; Neilands et Leong, 1986; Fravel, 1988).

Les modèles biologiques utilisés mettent en jeu différentes souches de *Pseudomonas* et différentes maladies (Tableau 2). Les problèmes pathologiques les plus étudiés sont : les fontes de semis, les fusarioses, le piétin échaudage 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 (Kloepper et al., 1980c; Suslow et Schroth, 1982b; Saktivel et Gnanamamickam, 1987; Weller et Cook, 1986; Xu et Gross, 1986b; 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.

Tableau 2: Protection des plantes contre différentes maladies d'origine tellurique, assurée par des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents

| Maladies | Microorganismes pathogènes | Références |
|---|--|--|
| Chancre bactérien | <i>Xanthomonas citri</i> | Unnamalai et Gnanamanickam (1984) |
| Fonte de semis | <i>Pythium</i> spp <i>Rhizoctonia solani</i> | Elad et Chet (1987) Howell et Stipanovic (1980) Loper (1988) Walther et Gindrat (1988) Weller et Cook (1986) Howell et Stipanovic (1979) |
| Fusarioses * de pourriture * vasculaires | <i>Fusarium oxysporum</i> f sp <i>radicis lycopersici</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Fusarium oxysporum</i> f spp | Lemanceau et Alabouvette (1991) Anderson et Guerra (1985) Duijff et al (1991) Kloepper et al (1980b) Leeman et al (1991) Lemanceau (1988) Park et al (1988) Scher et Baker (1982) Van Peer et al (1990b) |
| Jambe noire de la pomme de terre | <i>Erwinia carotovora</i> | Rhodes et Logan (1986) Xu et Gross (1986ab) |
| Pertes et pourritures racinaires pourriture du collet | <i>Pythium</i> spp <i>Sarocladium oryzae</i> <i>Sclerotium rolfsii</i> <i>Rhizoctonia solani</i> <i>Thielaviopsis basicola</i> | Becker et Cook (1988) Suty et al (1992) Weller et Cook (1986) Saktivel et Gnanamanickam (1987) Ganesan et Gnanamanickam (1987) Mew et Rosales (1986) Stuz et al (1986) |
| Piétin échaudage du blé | <i>Gaeumannomyces graminis</i> var <i>tritici</i> | Brisbane et Rovira (1988) Keel et al (1989) Kloepper et al (1980b) Weller et Cook (1983) Wong et Baker (1984) |
| Tache bactérienne du champignon | <i>Pseudomonas tolaasi</i> | Olivier et Guillaumès (1981) |
| Verticilliose | <i>Verticillium dahliae</i> | Leben et al (1987) |

1.1.1.3. 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 germinative 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. Hôte et *al.* (1991) ont enregistré une augmentation significative du taux de germination des 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.

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

Certaines souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents stimulent la nodulation des légumineuses. Ces souches sont appelées Nodulating Promoting Rhizobacteria (NPR). Elles stimulent la croissance racinaire, produisent de l'acide indole acétique et sont pectinolytiques.

Il a été rapporté que les *Pseudomonas* fluorescents provoquent une augmentation de la masse de nodosités plutôt que de leur nombre (Zablutowicz, in Howell et Okon, 1987), et influencent aussi positivement la colonisation racinaire de la plante hôte par des endomycorhizes (von Alten et *al.*, 1991) ou par des ectomycorhizes (Garbaye et Bowen, 1987). 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 (Meyer et Linderman, 1986; Oliveira et al., 1987).

1.1.2. Mécanismes responsables des effets bénéfiques

Il apparaît clairement que l'un des problèmes majeurs liés à l'utilisation des *Pseudomonas spp.* fluorescents est le manque de reproductibilité dans le temps et dans l'espace des effets bénéfiques enregistrés (Weller, 1988). 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.

1.1.2.1. Modification des équilibres microbiens

Kloepper et Schroth (1981 b) ont été les premiers à mettre en évidence l'effet bénéfique indirect d'une souche de *Pseudomonas* fluorescent sur la croissance des plantes. À la suite de ses 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 (Kloepper et al., 1980c; Suslow et Schroth, 1982b; Gardner et al., 1984; Bakker et al., 1986; Sakthivel et al., 1986; Cook et al., 1987; Elad et al., 1987). La protection contre les agents 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 il apparaît que la réduction de la gravité de la maladie s'accompagne d'une augmentation de rendement de la culture bactérisée (Weller et Cook, 1986; Lemanceau et Alabouvette, 1991).

La croissance des plantes peut également être réduite par l'activité néfaste de microorganismes pathogènes qualifiés de délétères ou «Deleterious Rhizo-Microorganisms» (DRMO) par Suslow et Schroth (1982a) et Schippers et al. (1987). Ainsi des *Pseudomonas spp.* délétères qui naturellement présents dans les cultures répétées de pomme de terre (Bakker et al., 1986a; Bakker et Schippers, 1987) ou artificiellement introduits lors de culture de blé (Elliott

et Lynch, 1984) ou de betterave (Suslow et Schroth, 1982b), provoquent des réductions significatives de la croissance des plantes. La réduction de la densité de ces *Pseudomonas* délétères, soit par des techniques culturales appropriées - brûlage des pailles (Elliott et Lynch, 1984), rotation longue de pomme de terre (Bakker et al., 1987) – soit par l'utilisation de *Pseudomonas* fluorescents antagonistes (Suslow et Schroth, 1982b; Geels et Schippers, 1983; Schippers et al., 1985; Geels et al., 1986).

A. Compétition

Les interactions microbiennes sont conditionnées par la nature et l'intensité de la compétition entre microorganismes (Lockwood, 1981; Alabou-vette, 1983). Cette compétition peut s'instaurer pour l'espace et pour les nutriments. Les *Pseudomonas* fluorescents antagonistes participent à ces deux types de compétition. Ainsi Suslow (1982) suggère que les PGPR seraient capables d'exclure les DRB (Deleterious Rhizobacteria) de certaines niches écologiques, où la production d'exsudats racinaires est importante.

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 (Heming, 1986; Leong, 1986; Neilands et Leong, 1986; Loper et Buyer, 1991). Pour acquérir cet élément, les microorganismes ont développé une stratégie d'acquisition du fer qui repose sur la synthèse de sidérophores et de protéines membranaires réceptrices (Neilands, 1973; Leong, 1986). Cette synthèse n'a lieu qu'en situation de carence en fer (de Weger et al., 1986). Tous les sidérophores ne présentent pas en effet la même affinité pour le fer (Fe^{+3}). Ainsi les *Pseudomonas* fluorescents produisent des sidérophores appelés pyoverdine (Meyer et Abdallah, 1978) ou pseudobactine (Teintze et al., 1981) qui forment avec le fer (Fe^{+3}) un complexe (ferripyoverdine ou ferripseudobactine) (Meyer et Abdallah, 1978). Le fer chélaté par les pyoverdines ne peut pas être utilisé par certains champignons. Les sidérophores fongiques forment en effet avec le fer (Fe^{+3}) un chélate dont la constante de stabilité est inférieure à celle des complexes ferripyoverdines. 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.

D'une façon générale, l'apport de fer disponible pour les champignons pathogènes (*Fusarium oxysporum* f.spp., *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*) réduit l'intensité de la compétition pour cet élément et aggrave les maladies (Kloepper et al., 1980b; Scher et Baker, 1982; Wong et Baker, 1984; Lemanceau et al., 1988a).

B. Antibiose

L'antibiose exercée par certaines *Pseudomonas* spp fluorescents a d'abord été mise en évidence *in vitro*. Ainsi 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. Howell et Stipanovic (1979, 1980) ont caractérisé deux antibiotiques : la pyolutéorine et la pyrrolnitrine synthétisés par la souche Pf5 de *Pseudomonas fluorescens*. Ces antibiotiques ont respectivement inhibés la croissance, *in vitro*, de *Pythium ultimum* et de *Rhizoctonia solani*. Ces auteurs ont ensuite montré que la souche bactérienne protège les plantes de coton contre ces pathogènes de manière analogue à celle des antibiotiques purifiés. Ils en concluent que la protection des plantes assurée par cette souche de *Pseudomonas* est liée à la synthèse de ces antibiotiques.

Keel et al. (1990, 1991) ont démontré que le 2-4 diacétyl-phloroglucinol synthétisé par la souche de *Pseudomonas* CHAO est en partie responsable de la protection du blé contre *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* et du tabac contre *Thielaviopsis basicola*. Ce composé est extrêmement efficace *in vitro* contre *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* (Keel et al., 1991). Selon ces auteurs, elle pourrait cependant être responsable d'une réduction de l'activité du champignon dans la rhizosphère. Les exsudats racinaires contiennent en effet de la glycine (Rovira et Darvey, 1971) connue pour être un précurseur de la synthèse bactérienne d'acide cyanhydrique (Voisard et al., 1989). La démonstration du rôle de ces trois composés a été confortée par l'utilisation de mutants pour lesquels la synthèse de ces produits a été rétablie grâce à leur complémentation avec le cosmide correspondant. Cette complémentation s'est en effet accompagnée de la restauration de l'efficacité de la souche bactérienne à protéger les plantes (Thomashow et Weller, 1988; Voisard et al., 1989; Keel et al., 1990, 1991).

La stimulation de la production d'acide cyanhydrique et de phénazine a amélioré l'efficacité des bactéries à réduire la gravité de la maladie (Voisard et al., 1989; Thomashow,

1991). L'efficacité des souches bactériennes étudiées a pu être directement corrélée à la présence des antibiotiques dans les extraits de racines, la rhizosphère et le sol.

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

Au cours des années 1960 et 1970, les chercheurs se sont surtout intéressés aux effets directs des rhizobactéries sur la croissance des plantes. Puis, pendant les années 1980, leur attention a surtout été retenue par l'étude de l'activité antagoniste des *Pseudomonas* spp. fluorescents à l'encontre des microorganismes pathogènes. Mais des publications récentes, 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 (Gerretsen, 1948). 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 (Krasilnikov, 1961). Ce mode d'action a fait l'objet de nombreuses controverses. Ainsi Mishutin et Naumova (1962) ne calculèrent que la quantité de phosphates solubilisés sous l'action des bactéries est négligeable par rapport à l'augmentation de rendement observée au champ.

Rovira (1972) suggère, pour sa part, que l'amélioration de l'absorption de phosphates par la plante, grâce à l'activité de certains microorganismes, serait lié à la modification de la croissance et de la longévité du système racinaire.

Enfin, les sidérophores microbiens et en particulier ceux des *Pseudomonas* fluorescents peuvent influencer directement l'alimentation de la plante en fer (Crowley et al., 1987). Ainsi le fer chélaté par les sidérophores peut être utilisé par les graminées. Powell et al. (1982) ont par exemple mis en évidence, grâce à l'utilisation de ^{55}Fe , que l'avoine peut assimiler le fer lié aux sidérophores. De même, Duss et al. (1986) ont observé que la tomate n'absorbe le fer de façon efficace que si elle est cultivée en présence de bactéries. Cependant tous les sidérophores n'améliorent pas l'alimentation en fer des plantes. Ainsi l'assimilation du fer par

le maïs et le pois a été réduite en présence d'une pseudobactine. Cette réduction s'est accompagnée d'une diminution de la concentration en fer de la chlorophylle (Becker et *al.*, 1985).

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* (Brown, 1974; Lynch, 1976). Ces substances peuvent être absorbées par les racines. Ainsi Libbert et *al.* (1969) ont montré que des auxines produites par des microorganismes telluriques pouvaient être assimilées par différentes plantes (maïs, pois, concombre). Différents auteurs ont mis en relation l'aptitude de souches microbiennes à produire des substances de croissance *in vitro* et leur aptitude à modifier, *in vivo*, la morphologie des plantes de manière analogue aux substances de croissance concernées. Ils en concluent que la stimulation de croissance des plantes bactérisées est due à la synthèse microbienne de substances de croissance (Brown, 1974). De plus, Rivière (1966) puis Strzelczyk et *al.* (1973) signalent que les bactéries capables de dégrader l'acide indole acétique (AIA) sont au moins aussi fréquentes que celles capables de synthétiser cet acide. L'importance relative de ces deux types de bactéries semble dépendre du stade de développement de la plante qui influence la composition des exsudats racinaires (Rivière, 1966; Rovira, 1972).

Enfin les différences enregistrées entre plantes traitées avec bactéries ou substances de croissance et plantes témoin, ne sont significatives que sur jeunes plantes; elles disparaissent en cours de culture (Jackson et *al.*, 1964; Ecklund, 1970; Brown, 1974). Plus récemment, Loper et Schroth (1986 b) ont même montré que l'effet délétère de certains *Pseudomonas* fluorescents pourrait être associé à l'intensité de la synthèse de AIA *in vitro*. Ainsi, ces auteurs ont établi une corrélation entre la concentration d'AIA produite *in vitro* et la réduction de l'élongation racinaire après bactérisation. Cette corrélation a été confirmée en comparant l'effet biologique de l'inoculation d'une souche de *Pseudomonas syringae* pv. *savastanoi* productrice d'AIA et de son mutant non producteur d'AIA. La souche sauvage provoque une réduction de la croissance racinaire alors que le mutant demeure sans effet.

C. Induction de résistance de la plante

Des travaux récents 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) grâce aux techniques de génie génétique suivantes :

- Obtention d'un mutant non producteur de HCN issu de la souche CHAO,
- Complémentation de ce mutant avec les gènes responsables de la synthèse de HCN,
- Introduction de ces gènes dans une souche initialement non productrice de 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 de haricot au *Fusarium solani* grâce à l'inoculation d'une souche de *Pseudomonas putida* 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). En effet, le rôle de l'antagonisme direct, entre la souche de *Pseudomonas* et celle de *Fusarium* pathogène, dans la protection biologique a pu être exclue grâce à des inoculations séparées dans l'espace.

1.2. Rhizobactéries symbiotique : *Rhizobium* spp.

1.2.1. Caractérisation morphologique

Parmi les caractéristiques morphologiques et culturelles utilisées pour la caractérisation et l'identification des *Rhizobiums*, une des plus remarquables est leur croissance sur milieu YMA (Vincent, 1970). Les colonies présentent un aspect lisse, circulaire à punctiforme, de taille variable de 1 à 2mm de diamètre, à contour régulier, de couleur beige, jaune ou blanche. Elles sont bombées, muqueuses, opaques et rarement translucides (Tableau 3). L'ensemble de ces caractéristiques morphologiques rapproche ces isolats au genre *Rhizobium* (Jordan, 1982). Une variation dans la production et la densité des exopolysaccharides a été observée avec la plupart des isolats. Toutefois, la souche Ps3 se caractérise par une production plus importante.

1.2.2. Symbiose légumineuse- rhizobium

La symbiose légumineuse-*Rhizobium* est un processus indispensable à la plante pour acquérir l'azote sous forme réduite, mais aussi aux *Rhizobiums* pour obtenir les nutriments nécessaires à leur développement. Le végétal fournit des matières nutritives à la bactérie,

celle-ci capte l'azote atmosphérique qui sera assimilé par la plante hôte (Raven *et al.*, 2000). Grâce à cette symbiose une importante économie d'engrais azotés peut être réalisée. L'établissement de la symbiose entre le *Rhizobium* et la plante légumineuse est un phénomène complexe. L'interaction symbiotique entre les bactéries *Rhizobium* et les plantes de la famille des légumineuses se traduit par la formation d'organes spécifiques, appelés nodules ou nodosités, où les bactéries sous leur forme différenciées, fixent et réduisent l'azote moléculaire en ammoniac (Perry *et al.*, 2004). (Figure 4)

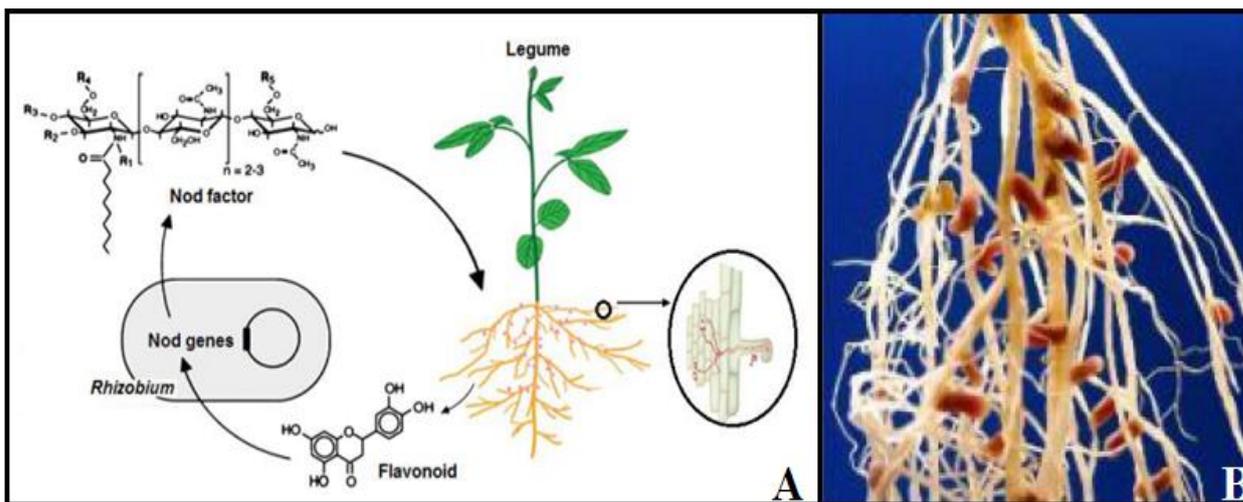


Figure 4 : Nodules ; **A** : Echanges de signaux lors de la mise en place de la symbiose *Rhizobium*/légumineuse Nod-dépendant (Lindstrom *et al.*, 2010). ; **B**: Partie d'une racinaire d'une légumineuse avec nodosité.

Tableau 3 : 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 tropici</i> | Haricot (<i>Phaseolus</i>), Faux Mimosa (<i>Leucaena</i>) |
| <i>Bradirhizobium japonicum</i> | Soja (<i>Glycine</i>) |
| <i>Azorhizobium caulinodans</i> | Sesbania |

La nodulation est considérée comme la première caractéristique de l'association symbiotique qui est strictement contrôlée par des mécanismes d'autorégulation interne de la plante hôte (Figueiredo et al., 2008; Lohar et al., 2009). En présence des *Rhizobiums*, la plante émet des signaux par la production de flavonoïdes qui stimulent la sécrétion des facteurs Nod par les bactéries (D'Haeze et Holsters, 2002). Chez les légumineuses deux types de nodules peuvent être distingués suivant la persistance ou non du méristème, « les nodules à croissance indéterminée » qui ont généralement un mode de croissance continue, les étapes de développement du nodule sont séparées dans l'espace et non dans le temps (Nap et Bisseling, 1990), ils sont caractéristiques des espèces des climats tempérés tels que *Medicago*, *Pisum*, *Vicia* et *Trifolium*. Par contre, « les nodules à croissance déterminée » sont observés chez les espèces tropicales (*Lotus*, *Glycine*, *Vigna* et *Phaseolus*), et sont originaires d'un méristème qui détermine sa croissance durant une période de temps limitée, donc les étapes de développement nodulaire sont séparées dans le temps (Nap et Bisseling, 1990).

1.2.3. *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. En effet les légumineuses obtiennent un bénéfice nutritif, et deviennent aussi plus résistantes à certaines infections. Selon Bordeleau (1989), les *Rhizobium meliloti* et le *Bradyrhizobium japonicum* protègent, respectivement, la luzerne, et le soja du *Fusarium oxysporum*. 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 au 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 biovarviciae* et *R. leguminosarium biovartrifolii* 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 *Rhizobiums* (Becker et al., 1985).

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

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 *Fusarium 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*, 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'anthralinate, alors que *B. japonicum* est capable d'utiliser l'acide citrique comme sidérophores.

d. 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 qu'Arabidopsis/*F.oxysporum*; haricot/*B. cinerea*; tabac/*Phytophthora nicotianae* et pomme de terre/cyst nématode (VanWees et al., 1997).

2. Le pois

Le pois (*Pisum sativum L.*), (figure 5) originaire d'Asie du Sud-ouest, était parmi les premières cultures cultivées par l'homme. On trouve encore des pois sauvages en Afghanistan, en Iran et en Ethiopie. Cette culture a longtemps été cultivée aux États-Unis et, historiquement, le pois de la campagne était l'une des meilleures cultures commerciales du Wisconsin.

En 1909, 78000 acres ont été plantées et une partie de l'est et du nord-est du Wisconsin a conduit le pays à la production de pois sur le terrain. La culture du pois a conduit à une séparation progressive des types: ceux cultivés pour l'utilisation des légumes, ceux cultivés pour la semence et le fourrage, et les types de plateaux comestibles qui ont évolué plus récemment (Oelke et *al.*, 1991).



Figure 5 : Feuilles et fleurs de pois (Jacobson et Michel, 2001)

1.3. Classification

L'espèce *Pisum sativum L.* appartient au genre *Pisum*, classé dans la tribu des *Fabeae* (*Viciae*), cette dernière regroupe diverses espèces de plantes herbacées annuelles, réparties en cinq genres : *Lathyrus L.* (gesse/pois doux, environ 160 espèces), *Lens* (lentilles, 4 espèces), *Pisum L.* (pois, 3 espèces), et *Vicia L.* (vesces, environ 140 espèces) et le genre monotypique *Vavilovia* (Smýkal et *al.*, 2011). La classification la plus récente du genre *Pisum*, après avoir compté plusieurs espèces, ne regroupe plus que trois espèces:

-*P. sativum* L.

•Sub sp. *sativum*(comprend var. *sativum* et var. *arvense*)

•Sub sp.*elatius*

- *P. fulvum*

- *P. abyssinicum* (Cieslarová et al., 2011)

2.2. Taxonomie

La taxonomie du *Pisum sativum* L est la suivante :

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Viridiaeplantae*

Infra-règne : *Streptophytae*

Division : *Tracheophytae*

Sous-division : *Spermatophytina*

Infra-division : *Angiospermae*

Classe : *Mongoliopsidae*

Super –ordre : *Rosanae*

Ordre : *Fabales*

Famille : *Fabaceae*

Genre : *Pisum*

Espèce : *Pisum sativum* L (Benantar et Ayouni, 2015).

2.3. Ecologie et croissance

La culture du pois a besoin d'un climat relativement frais ; les températures moyennes doivent être comprises entre 7 à 24°C. *Pisum sativum* est cultivé juste dans les régions où les précipitations ne dépassent pas 400 mm par an, mais la pluviométrie idéale se situe entre 800 et 1000 mm par an. Le pois est légèrement sensible à la photopériode, les jours longs favorisant la floraison. Il pousse sur des sols de toutes natures, dotés de niveaux de fertilité modérés, bien drainés et à pH de 5,5 à 7 (Brink et Belay, 2006).

Le cycle végétatif du pois est d'environ 240 jours pour les variétés d'hiver, 140 jours pour les variétés de printemps et pouvant descendre à 90 jours pour les variétés ultra-précoces. Le grain du pois protéagineux a un gros calibre et une haute teneur en protéines. Toutes les variétés du pois fourrager sont à fleur anthocyanée (Benoît et *al.*, 2006 ; Cieslarová et *al.*, 2011).

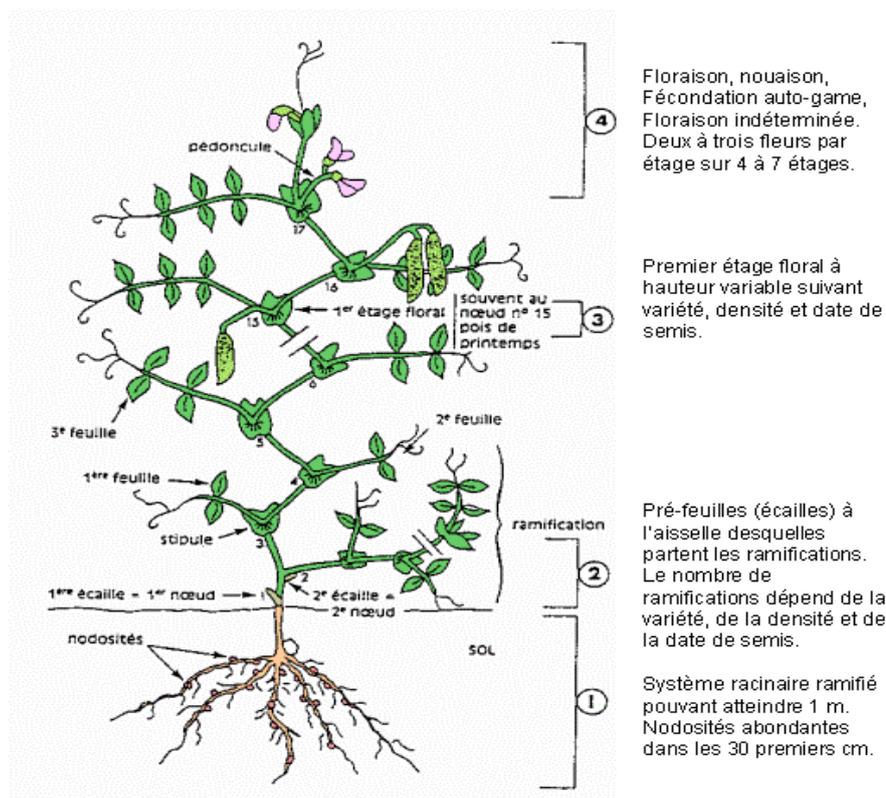


Figure 6 : structure d'une plante *Pisum sativum* (Boyeldieu, 1991)

2.4 Importance du pois

2.4.1. Production dans le monde

Pour la production du pois frais en 2007 dans le monde, la chine occupe le premier rang (2508,5 milliers de tonnes), suivi par l'inde (2292,7 milliers de tonnes) et les Etats-Unis (875 milliers de tonnes). Alors que l'Algérie a été classé au 11ème rang (87,5 milliers de tonne) (FAO, 2007).

2.4.2. Production en Algérie

En Algérie, la culture du pois est soumise aux contraintes sévères telles que la sécheresse, la salinité et des maladies depuis plusieurs années consécutives (Tadja, 2009). Sa production est particulièrement réponde à Oran, Sidi bel Abbés et Tlemcen (Nord) où elle est soit en culture normale ou en jachère. Son exportation est réglementée par l'arrêté du 27 juin 1958 et soumise au contrôle de l'OFAAET (Office Algérien d'Action Economiques Touristique) (Laumont, 1960).

2.6. Facteurs limitant la production du pois

A. Les contraintes abiotiques

Le froid, la sécheresse et les déficits nutritionnels sont des stress environnementaux les plus importants pouvant affecter la production de pois. L'aridité et les températures élevées y apparaissent ensemble dans plusieurs régions de production de légumineuses, où ils interagissent pour réduire les rendements (Cousin, 1997). De plus, la sécheresse peut arrêter la fixation de l'azote et diminuer la production de biomasse. En outre, la salinité est aussi un stress important du pois, des niveaux critiques du sel ont été établis et des procédures de dépistage ont été élaborées pour identifier les déterminants génétiques de tolérance au sel chez le pois. La fixation de l'azote symbiotique est notamment sensible à la salinité élevée (Saxena, 1993).

B. Les contraintes biotiques

A. 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).

B. Les maladies bactériennes

Les bactérioses les plus redoutables du pois sont la brûlure bactérienne causée par *Pseudomonas syringae* pv. *psis*, qui provoque des pertes économiques significatives particulièrement pendant le printemps et l'été, et aussi la maladie des taches brunes causée par *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

C. Les maladies virales

La culture du pois fait face à plusieurs attaques de virus (Tableau 4), comme le virus de la jaunisse apicale, le virus de la mosaïque commune...etc. Les symptômes de certains virus qui attaquent cette culture sont faciles à reconnaître en plein champ, alors qu'ils sont peu apparents dans d'autres cas où un diagnostic correct requiert une grande expérience (OEPP/EPPO, 1994)

Tableaux 4: les principales maladies virales de la culture du pois (Hagedorn, 1991; Taupin et al., 1994).

| Désignation de la maladie | Agent responsable | Groupe | Symptômes |
|------------------------------|-------------------|--------------------|---|
| Mosaïque commune de Pois | CMV | <i>Cucumovirus</i> | Mosaïque jaune sur les feuilles. |
| Red clover vein mosaic virus | RCVMV | <i>Carlavirus</i> | la mort des jeunes plantes, soit par leur survie sous forme de rosette aux entrenœuds raccourcis. |
| Pea enation mosaic virus | PEMV | <i>Lutéovirus</i> | Un éclaircissement des nervures, l'apparition de taches translucides le long des nervures. |
| La jaunisse apicale du Pois | PLRV | <i>Lutéovirus</i> | L'extrémité de la plante s'arrête de croître et prend une teinte jaune. |

D. Les maladies fongiques

Diverses maladies fongiques nuisent à cette culture. Parmi les maladies foliaires les plus importantes nous avons l'antracnose (causée par un complexe de trois espèces de champignons, *Ascochyta pisi*, *Didymella pinodes* et *Phoma medicaginis* var. *pinodella*), l'oïdium et la rouille du pois (Rubiales et al., 2009, 2012). Pour les maladies telluriques les plus dévastatrices, les plus connues sont, la pourriture racinaire causée par *F. solani* f.sp. *psis* et la Fusariose vasculaire du pois causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *psis* (Fop) (Kraft, 2001).

La fusariose vasculaire du pois causée par Fop est une maladie redoutable, elle représente un facteur majeur limitant la production de pois (kraft, 1994).

2. La 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).

2.1. Agent causal

En 1809, le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par Link (Jeunot, 2005), il se compose de plusieurs espèces phytopathogènes responsables de maladies appelées «fusarioses» sur un grand nombre de plantes. 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. L'origine du nom *Fusarium* provient du latin *Fusus*, car ses spores sont en formes de fuseau (Jeunot, 2005).

Le genre *Fusarium* est caractérisé par de nombreuses espèces très variables au niveau morphologique, chacune d'elle étant représentée dans la nature par une majorité de souches saprophytes ou parasites de faiblesse, au sein des quelles peuvent se différencier des formes plus ou moins spécialisées douées d'une véritable pathogénicité (Feron, 1970).

3. *Fusarium oxysporum* f.sp *pisi*

Parmi le genre *Fusarium*, l'espèce *Fusarium oxysporum* est certainement le champignon tellurique le plus répandue dans la nature et dans tous types de sols (Champion, 1997; Fravel et al., 2002). Il envahi le système vasculaire par les racines induisant ainsi une maladie de type systémique (Fravel et al., 2002). Celle-ci touche plusieurs espèces végétales, dont la culture de

pois, et cela a été signalé dans tous les pays où cette culture est cultivée. Elle est souvent sévère là où on pratique des rotations courtes avec d'autres cultures (Kraft, 1994).

3.1. 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 formes spéciales ont été définies.

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

4.2. Caractères de l'agent pathogène

4.2.1. Caractères macroscopiques

Fusarium oxysporum se caractérise par une pigmentation du mycélium qui au contact avec les milieux de culture est pour la plupart du temps, blanchâtre pendant les 15 premiers jours qui suivent l'isolement, puis se pigmente souvent de façon diffuse, dans la zone centrale d'une couleur différent (Booth, 1977; Botton et *al.*, 1985; Tivoli, 1988; Champion, 1997).

4.2.2. Caractères microscopiques

Le filament mycélien de *F. oxysporum* est hyalin, septé et uninuclé. La phase sexuée n'existe pas ou, du moins, 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 descendance de type clonal. Ce champignon produit trois types de spores asexués (Figure 7).

- a. **Les microconidies** : Les microconidies sont abondantes, unicellulaires, d'aspect ellipsoïdal ou cylindrique, droites ou légèrement courbées, spores de petites tailles (5 à 12 μm de long sur 2,3 à 3,5 μm de large), disposées en « fausses têtes ».
- b. **Les macroconidies** : Les macroconidies peuvent être abondantes, discrètement incurvées, avec une cellule basale bien marquée ; elles contiennent 3 à 5 logettes (23 à 54 μm de long sur 3 à 4,5 μm de large) (Synder et Hansen ,1940)

Ces spores (macro et microconidies) sont regroupées sous forme de fausses têtes sèches à l'extrémité de microconidiophores allongés, dispersés sur le mycélium aérien.

c. Les chlamydospores (forme de résistance):

F. oxysporum dispose d'organes de conservation très résistants connus sous le nom de chlamydospores, qui lui permettent une survie dans des conditions très défavorables même en absence de l'hôte (Rouxel et Bouhot, 1971). Après 3 semaines de culture, de nombreuses chlamydospores intercalaires apparaissent sur le mycélium (Tivoli, 1988).

Elles sont connues pour être des structures de résistances entourées d'une paroi épaisse parfois ornementée. De forme ovale, elles résultent de condensation du contenu des hyphes ou des macroconidies (Nelson, 1991).

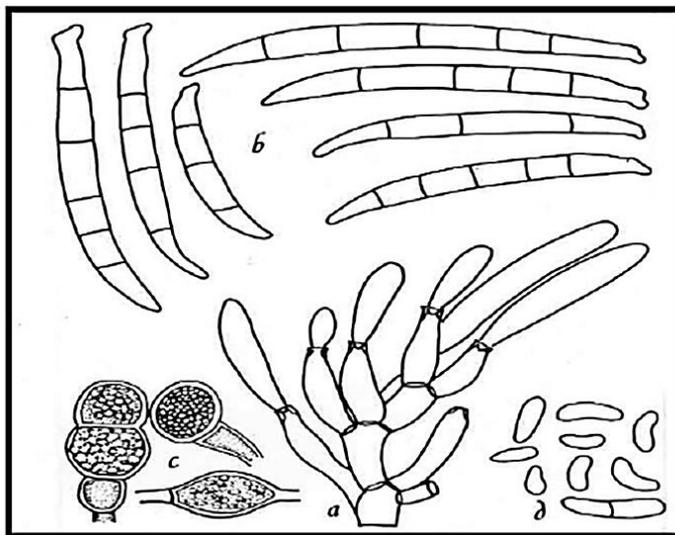


Figure 7 : Aspect microscopique du *Fusarium oxysporum*

a: conodiophores; **b**: macroconidies; **c**: chlamydozspores; **d**: microconidies (Gray, 1988).

4.3. Ecologie

Les *Fusarium* sp., sont des ascomycètes ubiquistes abondants dans les sols et souvent phytopathogènes. Leur développement est influencé par les facteurs environnementaux (Criquet et Calvert, 1997).

- **Température**

La température joue un rôle déterminant dans l'expression des symptômes des maladies d'origine cryptogamiques. Son action peut se manifester sur la croissance du parasite, sur la physiologie de la plante et sur les interactions hôte-parasite (Molot et Mas, 1975).

D'après Molot et Mas (1975), la température optimale au développement des fusarioses vasculaires en culture *in vitro* se situe entre 26-30°C. Toutefois il a été prouvé que l'intensité maximale des symptômes de la fusariose vasculaire du pois, et de celles des cucurbitacées se situe à 21 °C. (Molot et Mas ,1975).

- **Humidité**

Ya et Fang (1948), ont démontré qu'un sol hydraté (44-65% de sa capacité de rétention) est très favorable à l'apparition des premiers symptômes, alors qu'un sol sec (18 et 27%) accentue la rapidité du flétrissement. (Gindrat, 1969). Comme il a été démontré aussi que l'humidité du sol influe considérablement sur la germination des chlamydozspores (Griffin, 1970 ; Corbaz, 1990).

- **pH**

Le pH est un facteur important dans la sévérité des maladies d'origine tellurique. La croissance de *F. oxysporum* peut s'observer dans une gamme de pH allant d'une valeur de 1.1 à 8.1 (Botton et al., 1985). Sexena (1988), trouve que le pourcentage de mortalité des plantes par la fusariose vasculaire, augmente avec l'accroissement du pH du sol jusqu'à 7.5 puis la mortalité diminue (Ben chaima, 1991).

- **Lumière**

Vaartaja (1952), a évoqué l'importance de l'ombrage dans la gravité de la maladie. Un éclairage insuffisant peut provoquer un étiolement des plantes qui favorise leurs sensibilités aux attaques de *F. oxysporum*. De même, Messiaen et al. (1991), ont démontré l'augmentation de l'agressivité du *F.oxysporum* f.sp. *melonis* en culture sous serre où la lumière était insuffisante.

4.4. Races

L'organisme causal de la 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 de la 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 résistant 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).

4.5. Symptômes de la maladie

La fusariose du pois est l'une des maladies les plus dévastatrices de cette culture. Plusieurs races ont été décrites et les symptômes de la maladie sont généralement nombreux et apparaissent sous formes différentes avec une intensité plus ou moins variable (Roger, 1953).

Ils apparaissent 20 à 25 jours après la levée, et progressent des feuilles les plus basses vers les feuilles les plus hautes. Ils montrent en particulier un jaunissement et un flétrissement unilatéral des folioles et des feuilles de la base des plantes, et incluent également l'enroulement vers le bas des feuilles et des stipules qui prennent une couleur grise (Figure 8) (Donald, 1985). Ces symptômes se généralisent par la suite tout long de la plante (Fabregne, 1986).

Les racines semblent ne pas être atteintes, mais une coupe longitudinale de la tige met en évidence une coloration anormale (brunissement), qui progresse dans le tissu vasculaire à partir de la racine jusqu'à la tige (Bencheima, 1991). A l'extérieur de la tige, une dépression longitudinale, part du collet puis remonte unilatéralement du côté correspondant à la racine malade (Bouhot et Rouxel, 1970).

D'après Trapero *et al.* (1985) l'importance du jaunissement foliaire est directement liée avec la sévérité des attaques de la partie souterraine.



Figure 8 : Symptômes de la fusariose vasculaire chez le pois (*Pisum Sativum*) :

A : jaunissement unilatérale; **B** : Flétrissement

4.6. Cycle

L'infection primaire se fait au moyen des chlamydospores (Haware et *al.*, 1986). Le tube germinatif s'introduit à travers l'épiderme du système racinaire, et envahit les vaisseaux du xylème. Le développement du champignon (mycélium et conidies) obstrue ces vaisseaux, ce qui conduit à un flétrissement des plantes accompagné d'une coloration des tissus vasculaires (Grewal et *al.*, 1974). L'infection fusarienne s'accompagne généralement par d'une réduction de la chlorophylle, et parallèlement d'une augmentation des acides organiques, des polyphénols et des hydrates de carbone.

Les symptômes peuvent se manifester à deux stades de développement de la culture au stade plantule (trois semaines après le semis), les feuilles affectées montrent une flaccidité suivie d'une coloration vert-terne et d'un dessèchement conduisant à la mort précoce de la plante, il s'agit d'un flétrissement typique. Comme les symptômes peuvent se manifester aussi chez les plantes adultes sous forme d'un jaunissement progressif de bas en haut avec une nécrose des folioles, il s'agit d'un flétrissement tardif appelé aussi jaunissement vasculaire (Nene et *al.*, 1979 ; Trapero-Casas et Jimenez-Diaz, 1985; Haware, 1988).

Dans les deux cas, les racines des plantes affectées gardent une apparence saine, et leurs tiges montrent une coloration brune des tissus internes quand elles sont sectionnées verticalement. Toutefois, il est probable que ces deux types de symptômes soient induits par des biotypes différents d'agent pathogène (Cabrera et *al.*, 1985).

Par sa forme de résistance (chlamydospores), *Fusarium oxysporum* est capable de survivre pendant plusieurs années dans des conditions défavorables et en absence de plante hôte, pouvant même coloniser des zones profondes du sol cultivé (Haware et *al.*, 1986).

Le cycle de *F.oxysporum* est constitué d'une période unique, correspondant à une reproduction asexuée qui se renouvelle et se perpétue sous la forme de conidies (Walker, 1961) (Figure 9).

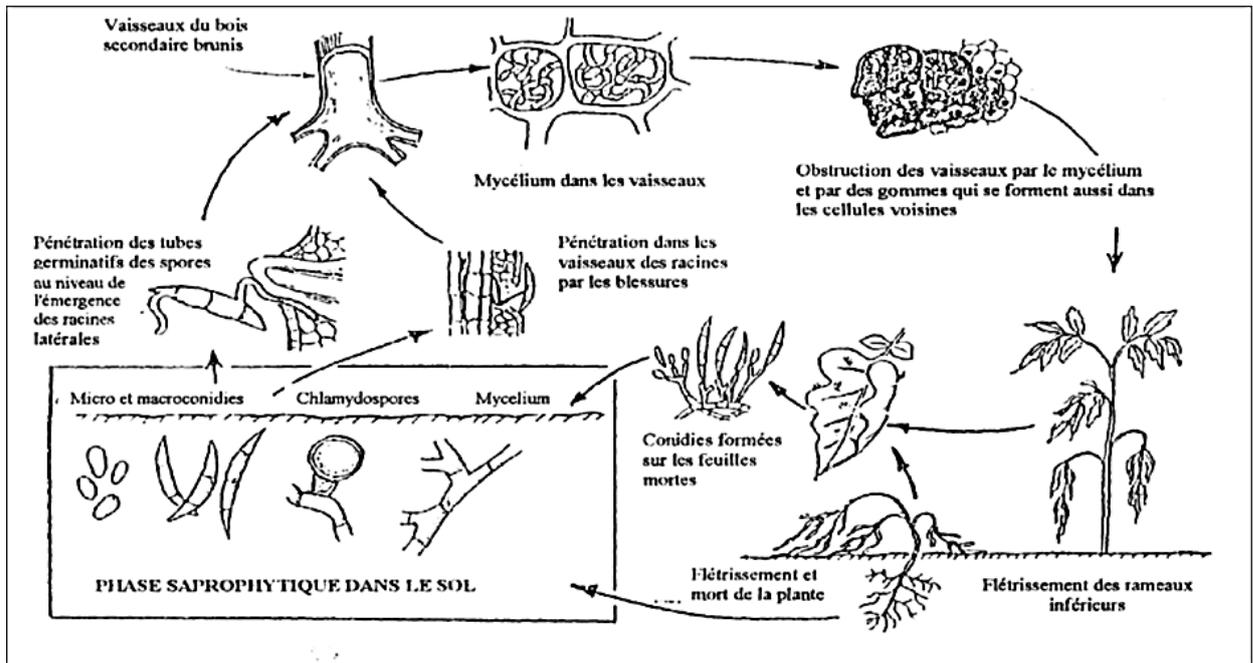


Figure 9 : Cycle infectieux du *Fusarium oxysporum* (Agrios, 2005).

4.7. Lutte

A. Les pratiques culturales

Les pratiques culturales, à savoir la destruction des débris de récolte des plantes atteintes par la fusariose par brûlis, jachère de longue durée, rotation culturale avec des cultures non hôtes, peuvent agir sur la densité de l'inoculum présent dans le sol. Mais l'éradication du champignon par ces techniques ne paraît pas très efficace, car *F. oxysporum*, même en absence de son hôte, peut survivre à l'état saprophytique dans les débris végétaux et la rhizosphère des plantes non-hôtes durant plusieurs années (Booth, 1971 ; Edel et *al.*, 1995).

La fusariose et d'autres maladies de pois sont favorisées par des conditions qui sont défavorables à la croissance des racines et des plantes. Par conséquent, les bonnes pratiques culturales (la réduction du compactage du sol et un bon drainage, ainsi que l'utilisation de semences de haute qualité) contribueront à réduire le problème (Donald, 1985).

B. Méthodes chimiques

Les produits chimiques sont efficaces pour lutter contre certaines maladies. Plusieurs fongicides ont été utilisés pour lutter contre *Fop* : benomyl, carbendazime, prochloraze,

fludioxonil et azoxystrobine (Amini et Sidovich, 2010), mais de nombreuses études démontrent les risques que représentent les pesticides sur la santé humaine et l'environnement. A titre d'exemple 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).

C. La lutte génétique

L'utilisation des variétés résistantes des cultures de pois, semble être une mesure pratique pour contrôler la fusariose vasculaire sur terrain (Kraft et Pfleger, 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.

D. Méthodes biologiques

La lutte biologique vis-à-vis de la fusariose vasculaire, a donné des résultats encourageants. L'application de certaines 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, d'où la nécessité qui s'impose à approfondir es recherches afin d'améliorer ces pratiques.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

1. Matériels Biologique

1.1. Matériels végétal

Nos expérimentations ont été menées sur deux génotypes de pois (*Pisum sativum*) d'origine espagnole (Tableau5).

Tableau 5: Génotypes de pois utilisés.

| Origine | Code |
|-----------|-------|
| Génotype | Polar |
| Espagnole | P21 |

1.2. Isolats fongiques phytopathogènes

Pour notre expérimentation, nous avons utilisé la race la plus virulente de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* Fop R2R42 d'origine espagnole (Institut de l'agriculture durable IAS-CSIC Cordoue, Espagne) (Figure 10).

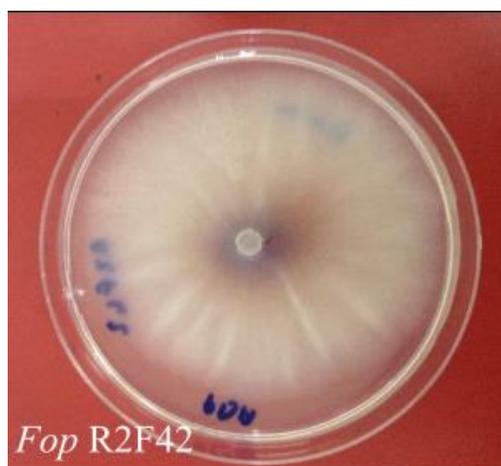


Figure 10 : la race de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* utilisée (R2F42)

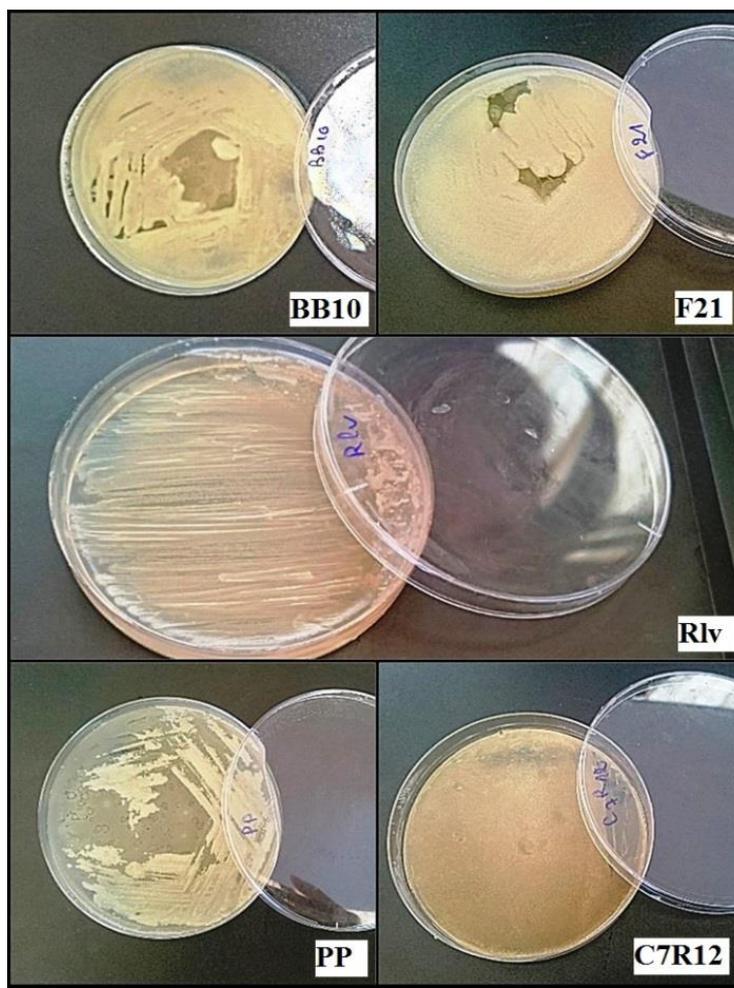
1.3. Isolats bactériens phytobénéfiques

L'objectif de notre travail est d'étudier la potentialité antagoniste et phytostimulante de cinq souches rhizobactériennes (Tableau 6), dont trois souches de *Pseudomonas fluorescens* (F21, BB10, C7R12), une souche de *Pseudomonas putida* (PP) et une souche de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* (Rlv), vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lisi* en interaction avec deux génotypes de pois (P21 et Polar).

Tableau 6: Souches bactériennes utilisées

| Souches | Origine |
|--|--|
| <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> | Institut de l'agriculture durable IAS-CSIC Cordoue, Espagne |
| <i>Pseudomonas fluorescens</i> (F21 ,BB10 ,C7R12 et PP) | 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). L'ensemencement a été fait selon la technique de stries. Après incubation à 25°C pendant 24-48h,



les cultures sont repiquées plusieurs fois jusqu'à l'obtention des aspects culturaux purs et spécifiques des cinq souches bactériennes étudiées (Figure 11). Les cultures ainsi purifiées, sont stockées à 4°C (Bauman, 2004)

Figure 11 : Les souches bactériennes utilisées

2. ACTIVITE ANTAGONISTE

Nos essais d'antagonisme ont été effectués, avec les cinq souches bactériennes (Tableau 6) vis-à-vis la souche pathogène *Fop* R2F42, agent de la fusariose vasculaire du pois. Ces essais ont été réalisés en interaction avec les deux géotypes de pois, 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, 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.

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 sept jours (Rajjou, 2012) . Une fois germées, les graines sont transférées dans des pots de Perlite stérile (Figure 12). Les plantules sont arrosées avec de l'eau courante selon besoin durant 26 jours.



Figure 12 : Germination des graines dans des pots de Perlite 7 jours après le semi

2.2. Préparation des inoculums

2.2.1. Inoculum fongique

Afin de préparer la suspension fongique, la souche de Fop R2F42 a été cultivée pendant sept jours sur milieu Potatos Dextros Agar (PDA) (Annexes 1). A partir de cultures pures nous avons mis dans six flacons de milieu PD liquide six disques mycéliens, et nous les avons mis sous agitation constante (170 rpm), à une température ambiante pendant trois jours, l'inoculum est ensuite filtré à l'aide des compresses stériles (Peter et *al.* ; 2001). La concentration de la suspension conidienne a été ajustée approximativement à 5×10^6 conidies/ml à l'aide d'une cellule de Malassez (Figure 13)



Figure 13 : Préparation de l'inoculum fongique

A : Disques mycéliens ; **B** : Agitation de l'inoculum ;

C : Détermination de concentration avec une cellule de Malassez

2.2.2. Inoculum bactérienne

La préparation de la suspension bactérienne des *Pseudomonas* fluorescents, était réalisée à partir d'une culture bactérienne cultivée sur milieu KB et incubée à 25°C dans l'étuve pendant 24h.

Concernant les suspensions de la souche de *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*, l'inoculum bactérien était cultivé sur le milieu YMA (Yeast Mannitol Agar) (Annexes 1), incubé dans l'étuve à 28°C pendant 48h.

Les colonies bactériennes sont raclées et mises 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 (Centre Suisse de contrôle de qualité)

2.3. Inoculation des plantes

Au stade de deux à trois nœuds (Figure 14), nous avons réalisé l'inoculation bactérienne sur un lit de tourbe désinfectée avec chacune des cinq souches bactériennes (10 ml/pot), suivi 24h après par une inoculation fongique, qui s'est effectuée par immersion des racines durant 5min (Figure 14), après avoir coupé 1/3 de celles-ci selon la méthode de «trimmed root dipping». Les témoins négatifs (T-) sont inoculés uniquement avec de l'eau distillée stérile et les témoins positifs (T+) sont inoculés avec la suspension conidienne Fop R2F42.

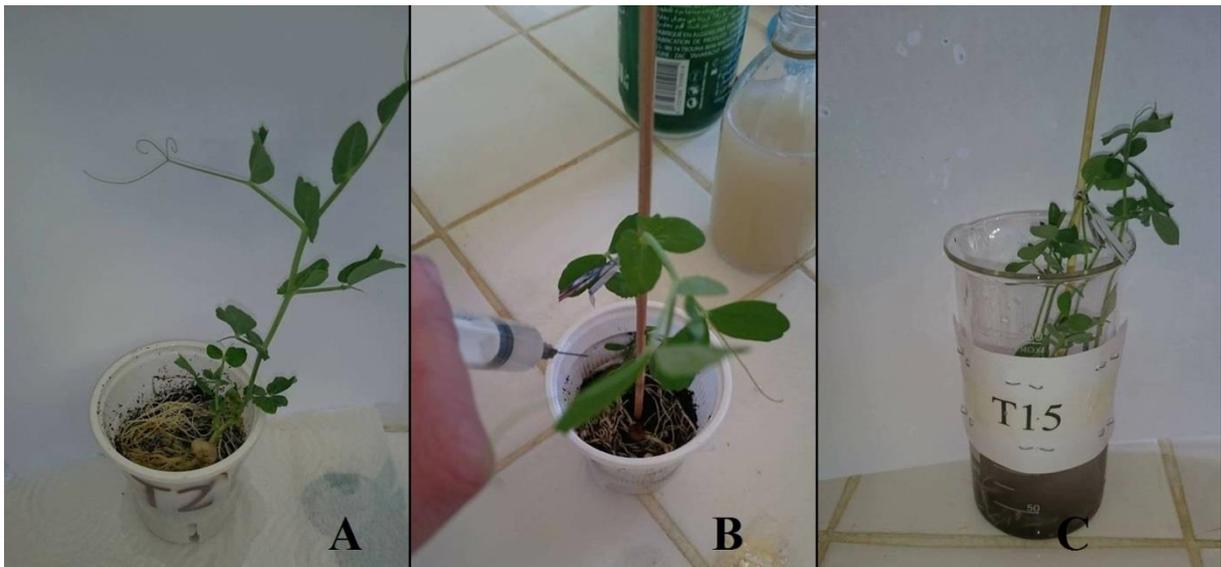


Figure 14 : Inoculation des plantes

A : plante sur un lit de tourbe **B :** inoculation bactérienne; **B :** inoculation fongique par immersion

2.4. Dispositif expérimental

Les essais expérimentaux ont été réalisés selon un dispositif contenant 144 traitements (Tableau 7) : 12 traitements par génotype avec 6 répétitions (12 traitements X 2 Génotypes X 6 Répétitions) (Figure 15).



Figure 15 : Dispositif expérimental.

Tableau 7: Traitements étudiés (EDS: Eau distillé stérile. **Fop R2F42**: *Fusarium oxysporum* f.sp *lisi*)

| Inoculation/ Génotypes | P21 | Polar |
|---|-----|-------|
| EDS | T1 | T2 |
| Fop R2F42 | T3 | T4 |
| F21 | T5 | T6 |
| BB10 | T7 | T8 |
| C7R12 | T9 | T10 |
| PP | T11 | T12 |
| <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> × F21 | T13 | T14 |
| Fop R2 F42 × F21 | T15 | T16 |
| <i>Fop R2 F42</i> × BB10 | T17 | T18 |
| <i>Fop R2 F42</i> × C7R12 | T19 | T20 |
| Fop R2F42 × PP | T21 | T22 |
| Fop R2F42 × <i>Rhizobium</i> <i>leguminosarum</i> bv. <i>viceae</i> × F21 | T23 | T24 |

race2.

2.5. Paramètres étudiés

Pour le suivi du déclenchement et de l'évolution de la fusariose vasculaire du pois, cinq principaux paramètres ont été pris en considération : le taux d'infection, la sévérité de la maladie, L'AUDPC (Area Under the disease progress curve), les paramètres de croissance (biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine, hauteur des tiges) et la teneur en chlorophylle.

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'au 26^{ème} jour.

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 16) Bani (2015).

Nous considérons les plantes comme étant malades à partir du degré 3 (jaunissement total).



Figure 16 : 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).

2.5.1. Taux d'infection

Appelé aussi indice de la maladie, évalué au jour 26 après inoculation, en calculant le pourcentage des feuilles symptomatiques sur le nombre total des feuilles pour chaque plante (Madden et *al.* ; 2007):

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

2.5.2. Sévérité de la maladie

Ce paramètre est calculé suivant cette formule :

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

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 du xylème causé par la fusariose vasculaire.

2.5.3. AUDPC (Area Under the disease progress curve)

Ce paramètre permettra d'évaluer la progression de la maladie durant la période d'expérimentation, c'est-à-dire le temps du suivi et du déroulement de l'expérimentation.

Il est obtenu selon la formule :

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

x_i : sévérité de la maladie au temps *i*

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

t_{i+1} - t_i : nombre de jours entre *i* et *i+1*

2.5.4. Paramètres de croissance

a. Poids frais et poids sec

A la fin de l'expérimentation, la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine a été mesurée. Pour mesurer les poids secs, le matériel végétal a été mis dans une étuve à une température de 150°C durant 48h.

b. Hauteur des tiges

La hauteur des tiges a été mesurée à l'aide d'une règle décimale du collet jusqu'à l'apex de la tige. A partir des mesures effectuées chaque trois jours pendant 26 jours, nous avons calculé la moyenne de chaque traitement et pour chaque répétition.

2.5.5. Dosage de la chlorophylle

Le dosage de la chlorophylle totale (chlorophylle a et b) a été mesuré selon la méthode proposée par Lichtenthaler (1987). Des feuilles fraîches (0.1 g) ont été mélangées avec 4ml d'acétone à 80% et centrifugées à 3000 tr/min pendant 10 min (Sun et *al.* 1998) . L'absorbance du surnageant a été lue à 647 et 664 nm en utilisant un spectrophotomètre (Figure 17). Les chlorophylles (a) et (b) et la teneur totale en chlorophylle ont été déterminées respectivement comme suit :

$$\text{Chl}_a = 12.21 (A_{664}) - 2.79 (A_{647})$$

$$\text{Chl}_b = 21.21(A_{664}) - 5.1 (A_{664})$$

$$\text{Chl}_T = \text{Chl}_a - \text{Chl}_b$$

Sur la gamme étalon, en utilisant l'équation suivant : $Y = 4,3918X - 0,1946$

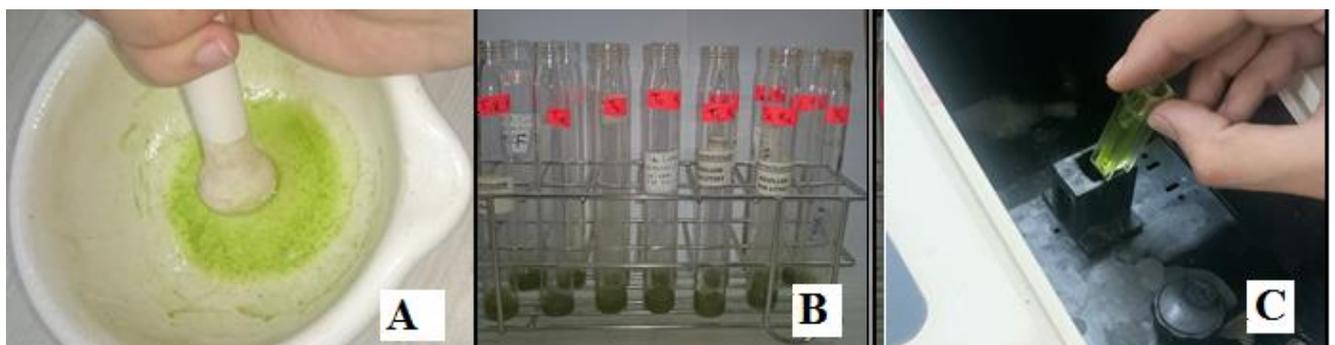


Figure 17 : Dosage de chlorophylle

A : Broyage des feuilles; **B** : feuilles broyées + acétone ; **C** : Lecture de l'absorbance avec le spectrophotomètre

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 Nexman-Keuls au seuil de risque d'erreur de 5% (Baird et *al.*, 2002).

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

L'étude de l'antagonisme et de phytostimulation, ont permis l'obtention des résultats avec le génotype Polar, avec les cinq variables étudiés, à savoir : Taux d'infection, sévérité de la maladie, AUDPC, paramètres de croissance et teneur en chlorophylle.

Pour le génotype P21, nous n'avons pris en considération que le paramètre de la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne et souterraine. Les autres paramètres se sont avérés négatifs pour ce génotype, dû principalement aux écarts thermiques important durant le mois du suivi causant la mort précoce des plantes.

1. TAUX D'INFECTION

D'après nos résultats (Tableaux 9 et figures 18), nous constatons chez le génotype Polar que la bactérisation a permis de réduire le taux d'infection avec quatre souches bactériennes C7R12, F21, PP, Rlv, notamment avec les deux souches C7R12 et F21 où nous avons constaté un recul plus important de la maladie. Toutefois les symptômes observés dans ce paramètre restent sans grande gravité pour la totalité des traitements.

Chez le témoin malade (Fop R2F42), le taux d'infection lors des premières observations (9 jours, 13 jours et 16 jours) sont brusques et rapides avec des taux de 14%, 24.95% et 27.14% respectivement pour atteindre un taux de 37.02% au 26ème jour. Alors que pour les traitements bactérisés, nous remarquons une évolution beaucoup plus lente avec des taux des premiers jours de l'ordre de 10.19%, 11.27% et 13.97 pour atteindre un taux de 25% (Fop R2F42 × F21) de 6.67%, 10.36% et 13% pour atteindre un taux de 20.83% (Fop R2F42 × C7R12) de 5.83%, 8.72% et 14.52% pour atteindre un taux de 35.71% (Fop R2F42 × PP) et enfin de 0.00%, 8.21% et 20.91% pour atteindre un taux de 34.29% (Fop R2F42 × Rlv × F21) (Tableau 9).

Tableau 8: Analyse de variance de taux d'infection chez le génotype Polar.

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------|-------------------|------------------------|
| Lignes | 1371,90151 | 6 | 228,650252 | 11,1778631 | 4,5014E-08 | 2,27198866 |
| Colonnes | 4242,58727 | 9 | 471,398586 | 23,0449291 | 1,7165E-15 | 2,05852015 |
| Erreur | 1104,60412 | 54 | 20,4556319 | | | |
| Total | 6719,09291 | 69 | | | | |

Tableau 9 : Taux d'infection pour le génotype Polar

| Polar | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 16 | 18 | 22 | 24 | 26 |
|---------------------|--------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|----------------------|---------------|---------------|---------------|----------------------|
| EDS | 6,19 ± 8,52 | 6,67 ± 9,13 | 6,67 ± 9,13 | 7,33 ± 10,11 | 12,22 ± 10,72 | 12,22 ± 10,72 | 13,33 ± 11,55 | 16,19 ± 14,66 | 18,10 ± 20,27 | 20,63 ± 18,03 |
| FopR2F42 | 0,00 ± 0,00 | 14,00 ± 14,22 | 23,24 ± 16,18 | 24,95 ± 16,21 | 24,95 ± 11,13 | 27,14 ± 18,57 | 30,19 ± 12,35 | 34,07 ± 19,61 | 36,79 ± 5,14 | 37,02 ± 6,19 |
| FopR2F42× F 21 | 8,33 ± 11,79 | 10,19 ± 9,52 | 10,19 ± 9,52 | 11,27 ± 6,60 | 12,86 ± 8,26 | 13,97 ± 8,34 | 13,97 ± 8,43 | 14,86 ± 5,87 | 15,94 ± 4,78 | 25,00 ± 3,54 |
| Fop R2F42× BB10 | 6,19 ± 8,52 | 6,19 ± 8,52 | 11,67 ± 16,24 | 15,83 ± 16,24 | 15,83 ± 16,24 | 17,69 ± 13,45 | 18,10 ± 19,46 | 20,57 ± 15,04 | 38,95 ± 8,33 | 41,27 ± 9,83 |
| Fop R2F42× C7R12 | 4,00 ± 8,94 | 6,67 ± 9,13 | 8,57 ± 7,82 | 10,36 ± 10,59 | 12,21 ± 7,39 | 13,00 ± 8,18 | 13,69 ± 9,03 | 14,17 ± 12,00 | 19,17 ± 13,04 | 20,83 ± 14,43 |
| Fop R2F42× PP | 3,33 ± 7,45 | 5,83 ± 8,12 | 8,06 ± 7,63 | 8,72 ± 8,65 | 8,72 ± 8,65 | 14,52 ± 14,88 | 14,88 ± 11,92 | 15,24 ± 15,58 | 21,36 ± 9,60 | 35,71 ± 17,50 |
| Fop R2F42× F1v× F21 | 0,00 ± 0,00 | 0,00 ± 0,00 | 6,19 ± 8,52 | 8,21 ± 12,60 | 13,57 ± 10,15 | 20,91 ± 11,39 | 22,87 ± 7,67 | 25,67 ± 7,60 | 31,74 ± 9,25 | 34,29 ± 23,90 |

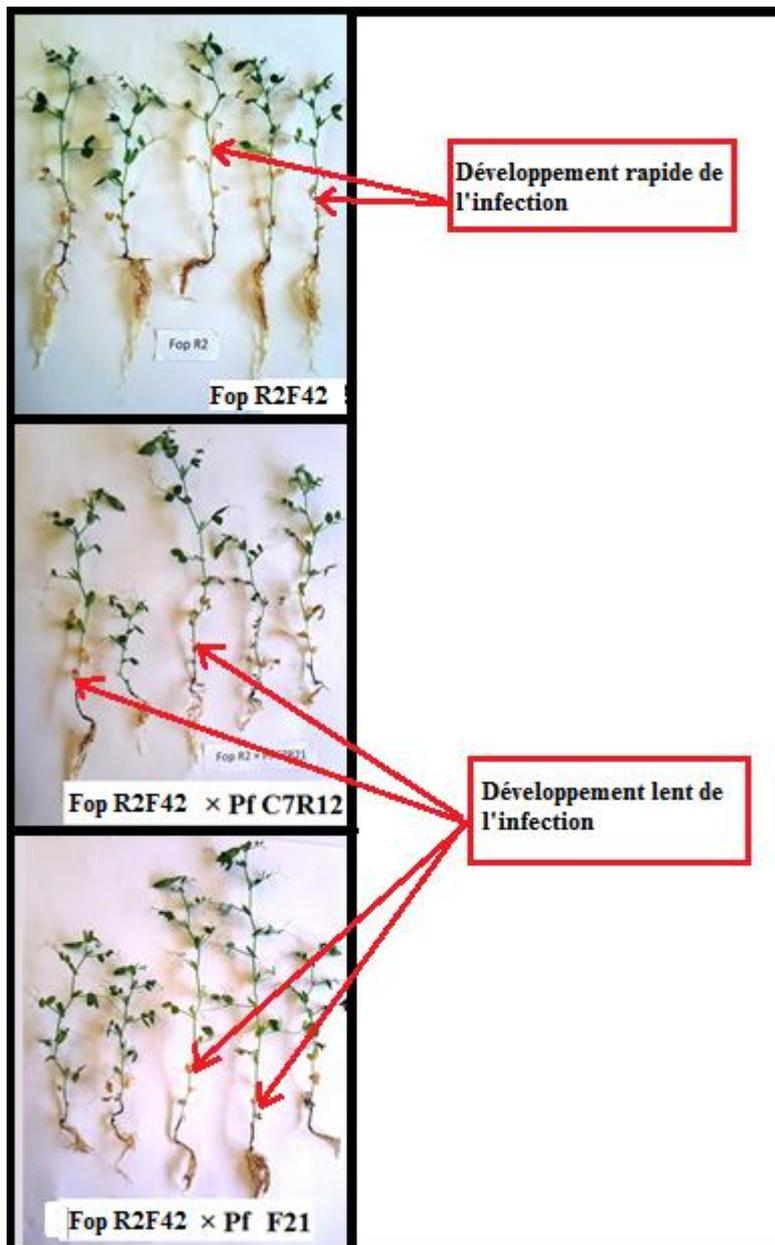


Figure 18 : Expression symptomatologique chez le génotype Polar au jour 26

(Fop R2F42, Fop R2F42 × C7R12, Fop R2F42 × F21)

2. SEVERITE DE LA MALADIE

D'après les résultats obtenus (Tableau 11 et Figure 19), nous remarquons qu'il existe une correspondance entre les résultats du taux d'infection et de la sévérité où les traitements bactérisés avec les souches C7R12, PP, F21 et Rlv ont permis de réduire la sévérité de la

maladie en comparant avec le témoin positif, et plus précisément avec les souches bactériennes C7R12 et F21.

Chez le témoin sain (EDS), les niveaux de sévérité lors des premières observations (11 jours) sont de 0.19 à 0.23, leur évolution reste lente et atteint un maximum de 0.98 (26 jours) (Tableau 11).

Pour le témoin malade (Fop R2F42), les niveaux vont de 1 à 2 dès les premières observations, leur évolution est plus dynamique, atteignant souvent des valeurs supérieures au niveau 2, pour atteindre des valeurs qui s'approche du niveau 3 au jour 26 (Tableau11).

L'application bactérienne à base des cinq souches, particulièrement avec les quatre souches bactériennes C7R12, PP, F21 et Rlv nous permettent de constater qu'il y a des symptômes préliminaires de niveau 0 à 1, globalement similaires à ceux observés chez le témoin sain, qui sont dues aux anomalies physiologiques que malades (Tableau 11)

Par ces résultats, nous constatons aussi que l'effet antagoniste exercé par la souche C7R12 contre l'agent de la fusariose vasculaire du pois, a permis de réduire le brunissement des tissus vasculaires par rapport au témoin positif (Figure 19).

Tableau 10: Analyse de variance de la sévérité de la maladie chez le génotype Polar

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------|-------------------|------------------------|
| Lignes | 12,1939053 | 11 | 1,10853684 | 20,0762572 | 1,2459E-20 | 1,8866836 |
| Colonnes | 17,8749505 | 9 | 1,98610561 | 35,9695462 | 2,1402E-27 | 1,97580607 |
| Erreur | 5,4664147 | 99 | 0,05521631 | | | |
| Total | 35,5352705 | 119 | | | | |

Tableau 11: Sévérité de la maladie chez le génotype Polar.

| Polar | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 16 | 18 | 22 | 24 | 26 |
|----------|-------------|------|-------------|------|------|-------------|------|------|------|-------------|
| EDS | 0,19 | 0,23 | 0,23 | 0,25 | 0,42 | 0,42 | 0,53 | 0,60 | 0,70 | 0,98 |
| FopR2F42 | 0,00 | 0,49 | 1,07 | 1,16 | 1,21 | 1,30 | 1,37 | 1,55 | 1,76 | 2,85 |

| | | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|------|------|------|------|------|-------------|------|------|------|-------------|
| FopR2F42×F21 | 0,28 | 0,34 | 0,48 | 0,48 | 0,64 | 0,70 | 0,70 | 0,74 | 0,80 | 1,23 |
| Fop R2F42× BB10 | 0,22 | 0,33 | 0,49 | 0,71 | 0,77 | 0,78 | 0,80 | 0,97 | 1,84 | 2,04 |
| Fop R2F42× C7R12 | 0,16 | 0,23 | 0,37 | 0,39 | 0,59 | 0,65 | 0,66 | 0,71 | 0,93 | 1,01 |
| Fop R2F42×PP | 0,50 | 0,23 | 0,29 | 0,33 | 0,44 | 0,54 | 0,60 | 0,63 | 0,99 | 1,68 |
| Fop R2F42×Rlv× F21 | 0,00 | 0,00 | 0,19 | 0,33 | 0,65 | 0,87 | 1,01 | 1,11 | 1,56 | 1,66 |

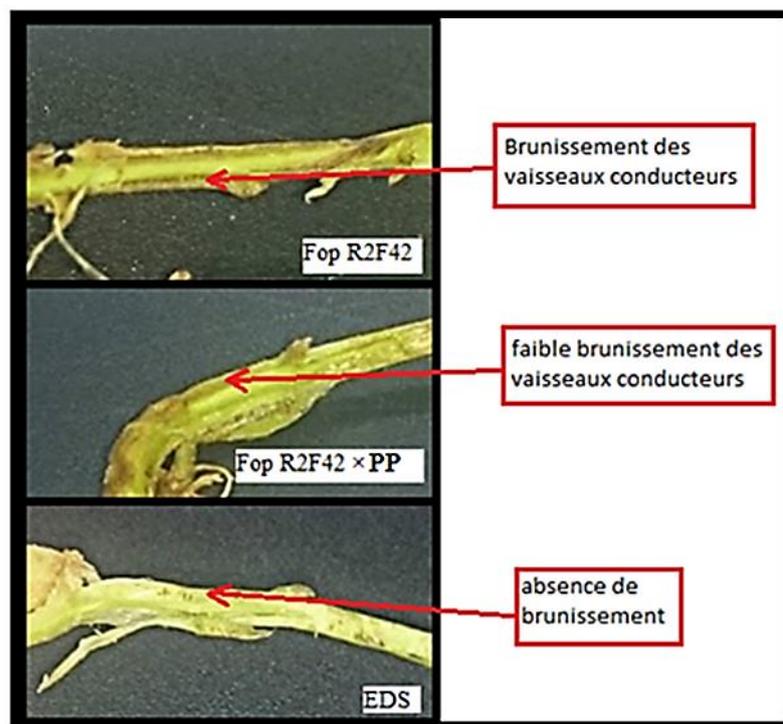


Figure 19: Coupe longitudinales au niveau du collet du génotype Polar

D'après ces variables étudiées, et en comparant les différents traitements bactérisés, nous pouvons dire que les traitements représentés par les souches C7R12 et F21 ont une meilleure efficacité antagoniste vis-à-vis de *fusarium oxysporum* f.sp. *psi*.

3. AUDPC

Les cinq souches bactériennes utilisées, ont montré une activité antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (R2F42) avec le génotype de pois Polar. Cette inhibition est détectable durant les 26 jours de suivi du développement de la maladie, par le calcul de l'AUDPC qui permet d'évaluer la progression de la maladie durant cette période d'expérimentation (Figure 20 et Annexe 2).

D'après les résultats obtenus, en comparant tous les traitements étudiés, nous constatons que l'évolution de l'AUDPC montre clairement que la valeur d'AUDPC la plus importante a été observée chez le témoin malade (Fop R2F42) avec une valeur de 505,90 (Figure 20 et Annexe 2).

En comparant les valeurs d'AUDPC enregistrées avec les cinq bactéries en interaction avec l'agent phytopathogène, nous constatons que la bactérie ayant enregistré la valeur d'AUDPC la plus élevée est la bactérie BB10, avec une valeur de 380.70, alors que les bactéries ayant enregistré les valeurs d'AUDPC les plus faibles sont la bactérie C7R12 avec une valeur de 249.75, suivie de la bactérie F21 avec une valeur de 284.40 (Figure 20 et Annexe 2).

Tableau 12: Analyse de variance de l'AUDPC chez le génotype Polar

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------|-------------------|------------------------|
| Lignes | 37507,4372 | 11 | 3409,76702 | 2,33740401 | 0,01207695 | 1,86861485 |
| Colonnes | 574777,958 | 11 | 52252,5417 | 35,8192509 | 6,5393E-33 | 1,86861485 |
| Erreur | 176512,835 | 121 | 1458,78376 | | | |
| Total | 788798,231 | 143 | | | | |

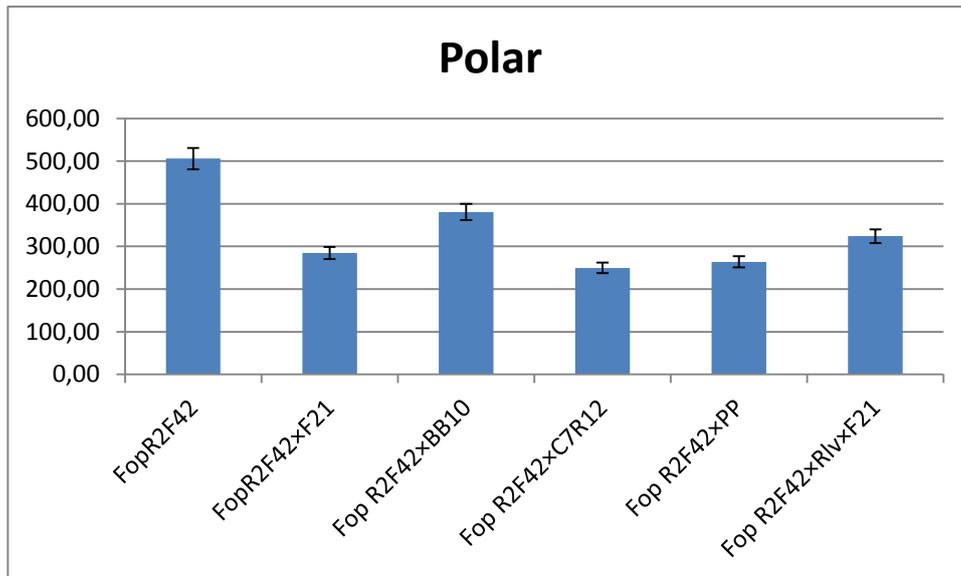


Figure 20: AUDPC sur le génotype Polar

4. PARAMETRES DE CROISSANCE

4.1. Poids frais et poids sec

D'après les résultats obtenus (Tableau 14 et 16), nous constatons que la bactérisation des deux génotypes Polar et P21 avec les cinq souches bactériennes a augmenté considérablement les biomasses fraîches et sèches des parties aériennes, souterraines et gousse des traitements.

Chez les deux génotypes de pois étudiés (Polar et P21), en comparant avec le témoin sain (EDS), nous remarquons un effet de phytostimulation plus important au niveau des parties aériennes et des gousses qu'au niveau des parties souterraines, à titre d'exemple chez le génotype P21 qui a enregistré au niveau de la partie aérienne des poids frais de 0,185g (EDS), 0,357g (PP), 0,302g (BB10), 0,285g (C7R12), et des poids secs de 0,115 (EDS), 0,200g (PP), 0,184g (C7R12) (tableau 14). Chez le génotype Polar, au niveau de la partie aérienne les poids frais sont de 0,754g (EDS), 2,016g (F21×Rlv), 1,939g (PP), 1,700g (BB10), les poids secs sont de 0,129g (EDS), 0,463g (F21), 0,472g (BB10), 0,237g (C7R12), 0,260 (PP), 0,269(F21 ×Rlv), et pour les gousses les poids frais enregistrés sont de 0,591g (EDS), 1,079g (C7R12), 1,044g (PP), 0,815g (F21), et les poids secs sont de 0,064g (EDS), 0,213g (C7R12), 0,150g (PP), 0,147g (F21) (Tableau16).

Nous remarquons aussi certain effet d'antagonisme des bactéries chez le génotype Polar, qui a enregistré au niveau de la partie aérienne, des poids frais de 0,754 g (Fop R2F42), 1,074g (Fop R2 F42× F21 × Rlv), 0,999g (Fop R2F42 × PP), 0,901g (Fop R2F42×

F21) et des poids secs de 0,153g (Fop R2F42), 0,463g (F21), 0,472g (BB10), 0,237g (C7R12) et 0,269g (F21×Rlv). Au niveau des gousses, nous constatons des poids frais de 0,297g (Fop R2), 0,809 (Fop R2 × Pf F21 × Rlv), 0,632g (Fop R2× Pf F21), 0,567g (Fop R2 × Pf PP), et des poids secs de 0,033g (Fop R2), 0,361 (Fop R2 × Pf F21 × Rlv), 0,088g (Fop R2× Pf F21), 0,2g (Fop R2 × Pf PP) (Tableau 16).

Tableau 13 : Analyse de variance de poids frais et poids sec chez le génotype P21

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|-------|-------------------|------------------------|
| Lignes | 0,172118 | 11 | 0,016 | 8,228 | 0,00076983 | 2,81793047 |
| Colonnes | 0,02607 | 1 | 0,026 | 13,71 | 0,00348548 | 4,84433567 |
| Erreur | 0,020917 | 11 | 0,002 | | | |
| Total | 0,219106 | 23 | | | | |

Tableau 14 : Poids frais et poids sec des parties aériennes et souterraines des traitements bactérisés chez le génotype P21

| Traitement | | P21 | | | |
|------------------|---------------------|--------------|---------|--------------|---------|
| | | Poids frais | | Poids sec | |
| EDS | Partie aérienne | 0,185 | ± 0,667 | 0,115 | ± 0,046 |
| | Partie sous-terrine | 0,030 | ± 0,012 | 0,025 | ± 0,010 |
| BB10 | Partie aérienne | 0,302 | ± 0,153 | 0,146 | ± 0,050 |
| | Partie sous-terrine | 0,057 | ± 0,018 | 0,044 | ± 0,014 |
| F21 | Partie aérienne | 0,219 | ± 0,101 | 0,117 | ± 0,052 |
| | Partie sous-terrine | 0,050 | ± 0,009 | 0,041 | ± 0,007 |
| C7R21 | Partie aérienne | 0,285 | ± 0,076 | 0,184 | ± 0,031 |
| | Partie sous-terrine | 0,079 | ± 0,015 | 0,062 | ± 0,014 |
| PP | Partie aérienne | 0,357 | ± 0,133 | 0,200 | ± 0,070 |
| | Partie sous-terrine | 0,092 | ± 0,036 | 0,072 | ± 0,027 |
| F21 × Rlv | Partie aérienne | 0,263 | ± 0,047 | 0,127 | ± 0,009 |
| | Partie sous-terrine | 0,041 | ± 0,003 | 0,036 | ± 0,001 |

Tableau 15 : Analyse de variance de poids frais et poids sec chez le génotype Polar

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------|-------------------|------------------------|
| Lignes | 5,404 | 35 | 0,15439309 | 2,08844012 | 0,01620554 | 1,75713953 |
| Colonnes | 7,736 | 1 | 7,73621113 | 104,645964 | 4,6645E-12 | 4,1213382 |
| Erreur | 2,587 | 35 | 0,07392747 | | | |
| Total | 15,73 | 71 | | | | |

Table

au 16 : Poids frais et poids sec des parties aériennes et souterraines chez le génotype Polar

| Traitement | | Polar | |
|-----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| | | Poids frais | Poids sec |
| EDS | Partie aérienne | 0,754 ± 0,111 | 0,129 ± 0,029 |
| | Partie sous-terrine | 1,093 ± 0,205 | 0,331 ± 0,158 |
| | Gousse | 0,591 ± 0,185 | 0,064 ± 0,031 |
| Fop R2F42 | Partie aérienne | 0,754 ± 0,082 | 0,153 ± 0,069 |
| | Partie sous-terrine | 0,451 ± 0,104 | 0,062 ± 0,032 |
| | Gousse | 0,297 ± 0,135 | 0,033 ± 0,016 |
| F21 | Partie aérienne | 1,623 ± 0,140 | 0,463 ± 0,142 |
| | Partie sous-terrine | 0,764 ± 0,274 | 0,141 ± 0,060 |
| | Gousse | 0,815 ± 0,341 | 0,147 ± 0,069 |
| BB10 | Partie aérienne | 1,700 ± 0,256 | 0,472 ± 0,194 |
| | Partie sous-terrine | 0,606 ± 0,345 | 0,157 ± 0,178 |
| | Gousse | 0,795 ± 0,130 | 0,256 ± 0,212 |
| C7R12 | Partie aérienne | 1,574 ± 0,373 | 0,237 ± 0,063 |
| | Partie sous-terrine | 0,590 ± 0,297 | 0,061 ± 0,022 |
| | Gousse | 1,079 ± 0,416 | 0,213 ± 0,163 |
| PP | Partie aérienne | 1,939 ± 0,448 | 0,260 ± 0,061 |
| | Partie sous-terrine | 0,958 ± 0,450 | 0,093 ± 0,038 |
| | Gousse | 1,044 ± 0,232 | 0,150 ± 0,046 |
| F21×Rlv | Partie aérienne | 2,016 ± 0,192 | 0,269 ± 0,035 |
| | Partie sous-terrine | 0,503 ± 0,361 | 0,080 ± 0,057 |
| | Gousse | 0,665 ± 0,218 | 0,076 ± 0,037 |
| Fop R2F42 × F21 | Partie aérienne | 0,901 ± 0,324 | 0,147 ± 0,050 |
| | Partie sous-terrine | 0,147 ± 0,042 | 0,037 ± 0,010 |
| | Gousse | 0,632 ± 0,221 | 0,088 ± 0,044 |
| Fop R2F42 × BB10 | Partie aérienne | 0,846 ± 0,366 | 0,221 ± 0,102 |
| | Partie sous-terrine | 0,162 ± 0,044 | 0,041 ± 0,007 |
| | Gousse | 0,647 ± 0,376 | 0,332 ± 0,254 |
| Fop R2F42 × C7R12 | Partie aérienne | 0,861 ± 0,036 | 0,155 ± 0,077 |
| | Partie sous-terrine | 0,276 ± 0,123 | 0,046 ± 0,010 |
| | Gousse | 0,562 ± 0,302 | 0,075 ± 0,043 |
| Fop R2F42 × PP | Partie aérienne | 0,999 ± 0,281 | 0,335 ± 0,214 |
| | Partie sous-terrine | 0,186 ± 0,058 | 0,046 ± 0,010 |
| | Gousse | 0,567 ± 0,269 | 0,200 ± 0,126 |
| Fop R2F42 × F21 × Rlv | Partie aérienne | 1,074 ± 0,420 | 0,289 ± 0,130 |
| | Partie sous-terrine | 0,658 ± 0,215 | 0,117 ± 0,067 |
| | Gousse | 0,809 ± 0,196 | 0,361 ± 0,173 |

4.2.La longueur de la tige

Selon nos résultats (Tableau 18), nous remarquons un effet de phytostimulation chez le génotype Polar qui a enregistré une longueur de tige de 26,00cm (EDS), 42,80cm (PP), 38,00cm (BB10), 37,75cm (C7R12), et un effet de biôcontrol des traitements bactérisés en présence du pathogène en enregistrant des longueurs de 25,00cm (Fop R2F42), 33,40cm (Fop R2F42 × F21 × Rlv), 29,80cm (Fop R242 × PP) et de 29,20cm (Fop R2F42 × BB10) (Tableau 18).

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 Nexman-Keuls au seuil de risque d'erreur de 5% (Baird et *al.*, 2002) (Tableau 17).

Tableau 17 : Analyse de variance de la longueur de la tige chez le génotype Polar

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|-----------|------------------|------------------------|
| Lignes | 1960,6472 | 11 | 178,24066 | 386,83447 | 5,648E-40 | 2,014046 |
| Colonnes | 33,04713 | 4 | 8,2617824 | 17,930489 | 8,437E-09 | 2,5836674 |
| Erreur | 20,273759 | 44 | 0,4607673 | | | |
| Total | 2013,9681 | 59 | | | | |

Tableau 18 : Longueur de la tige pour le génotype Polar

| Polar | Suivi 1 | Suivi 2 | Suivi 3 | Suivi 4 | Suivi 5 |
|---------------------------|---------|---------|---------|---------|--------------|
| EDS | 20,67 | 21,00 | 22,17 | 23,00 | 26,00 |
| FopR2F42 | 23,60 | 23,60 | 24,00 | 24,00 | 25,00 |
| F21 | 33,00 | 35,67 | 35,67 | 35,67 | 35,67 |
| BB10 | 36,20 | 36,40 | 36,50 | 36,60 | 38,00 |
| C7R12 | 34,60 | 34,60 | 34,70 | 34,80 | 37,75 |
| PP | 41,20 | 42,60 | 42,60 | 42,60 | 42,80 |
| Rlv× F21 | 32,20 | 34,40 | 34,40 | 34,40 | 35,00 |
| FopR2F42×F21 | 26,80 | 26,80 | 27,60 | 28,00 | 28,00 |
| Fop R2F42× BB10 | 27,20 | 27,40 | 28,20 | 28,20 | 29,20 |
| Fop R2F42× C7R12 | 24,60 | 24,60 | 25,40 | 25,60 | 25,00 |
| Fop R2F42×PP | 26,60 | 28,20 | 28,40 | 28,40 | 29,80 |
| Fop R2F42×Rlv× F21 | 31,60 | 31,80 | 31,90 | 32,00 | 33,40 |

5. TENEUR EN CHLOROPHYLLE

Selon les résultats obtenues (Tableau 20), nous remarquons que la bactérisation a eu un effet positif sur l'augmentation de la teneur en chlorophylle uniquement avec les deux bactéries F21 et PP, avec des valeurs de 42,96mg/g MF (Fop R2F42 X F21) et de 42,48mg/g MF (Fop R2F42 X PP), alors que le témoin malade (Fop R2F42) a enregistré une teneur de 34,30mg/g MFFop (Tableau 20).

Tableau 19 : Analyse de variance de la teneur en chlorophylle de génotype Polar

| Source des variations | Sommes des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|-----------------------|-------------------|------------------|--------------------|------------|-------------------|------------------------|
| Lignes | 376,511281 | 11 | 34,2282983 | 1,91966212 | 0,06264992 | 2,01404601 |
| Colonnes | 10405,1414 | 4 | 2601,28535 | 145,890658 | 8,6913E-25 | 2,58366743 |
| Erreur | 784,536566 | 44 | 17,8303765 | | | |
| Total | 11566,1893 | 59 | | | | |

Tableau 20 : Teneur en chlorophylle de génotype Polar

| Traitement | Moy (647) | Moy (664) | Chl(a) | Chl(b) | Chl Total |
|-----------------------|------------|------------|----------|----------|-----------|
| EDS | 1,47266667 | 2,293 | 23,88879 | 19,54096 | 43,42975 |
| Fop R2F42 | 1,164 | 1,80866667 | 18,83626 | 15,46424 | 34,3005 |
| F21 | 1,59233333 | 1,60133333 | 15,10967 | 25,60659 | 40,71626 |
| BB10 | 1,01833333 | 1,21866667 | 12,03877 | 15,38365 | 27,42242 |
| C7R12 | 1,652 | 1,50466667 | 13,7629 | 27,36512 | 41,12802 |
| PP | 1,38766667 | 1,13266667 | 9,95827 | 23,65581 | 33,61408 |
| Rlv×F21 | 1,38433333 | 1,795 | 18,05466 | 20,20721 | 38,26187 |
| Fop R2F42 × F21 | 1,824 | 1,317 | 10,99161 | 31,97034 | 42,96195 |
| Fop R2F42 × BB10 | 0,82066667 | 1,32633333 | 13,90487 | 10,64204 | 24,54691 |
| Fop R2F42 × C7R12 | 1,35366667 | 1,207 | 10,96074 | 22,55557 | 33,51631 |
| Fop R2F42 × PP | 1,86233333 | 1,15066667 | 8,85373 | 33,63169 | 42,48542 |
| Fop R2F42 × Rlv × F21 | 1,219 | 1,25666667 | 11,94289 | 19,44599 | 31,38888 |

6. Discussion

Les résultats obtenus dans le test d'antagonisme et de phytostimulation, 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 cinq souches bactériennes a permis de réduire l'infection de la fusariose vasculaire du pois et sa sévérité en ayant un effet positif direct sur la diminution des valeurs d'AUDPC, 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* C7R12 suivi de la souche *P. fluorescens* F21.

La réduction du taux d'infection et de la sévérité de la maladie, causée par Fop R2F42 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, que nous observant rarement chez certaines interactions (plante × rhizobactérie × pathogène), peut être expliquée par l'effet délétère des bactéries. Cet effet dépend largement des conditions d'environnement défavorables (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, en condition expérimentale, la pseudobactine excrétée par *Pseudomonas* fluorescents séquestre le fer et peut empêcher ainsi son assimilation par de jeunes plantes de pois et de maïs, provoquant une chlorose généralisée (Becker et *al.*, 1985).

La bactérisation a permis chez certains traitements une augmentation de teneur en chlorophylle et de la longueur des tiges, comme nous avons constaté aussi une augmentation considérables de la biomasse chez les génotypes étudiés, et cela s'explique par le fait que l'action phytostimulante des bactéries s'exprime par le renforcement de la structure morphologique de la plante due principalement aux différents mécanismes d'action des bactéries bénéfiques sur celle-ci par la solubilisation du phosphate, synthèse de phytohormone... etc.

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 (antagonisme) (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, 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'autre 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

Les maladies causées par les micro-organismes pathogènes d'origine tellurique prennent constamment de l'importance. Ces maladies sont difficiles à combattre (Messiaen et *al.*, 1991). Le développement de l'agriculture biologique est basé à l'origine sur la conduite d'un système de culture équilibré, c'est pour cela que les agriculteurs sont incités à se spécialiser pour atteindre des rendements nécessaires à la demande du marché.

La recherche de nouvelles méthodes alternatives à la lutte chimique pour lutter contre les maladies telluriques a pris beaucoup d'importance de nos jours. La lutte biologique représente à cet égard une solution intéressante (Nikolay et *al.*, 2005). Il a été démontré que certains microorganismes ont un pouvoir limitant l'activité infectieuse de plusieurs formes spéciales de *F. oxysporum*.

L'utilisation des PGPR, peut permettre de stimuler la croissance des plantes et de réduire l'effet des agents phytopathogènes. Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et par conséquent, leur croissance. Cependant, cette corrélation peut contribuer à une compétition importante pour les nutriments dans la rhizosphère ou par la synthèse d'antibiotiques ou d'autres métabolites à effet inhibiteur de l'agent pathogène. (Haas et Defago 2005).

D'après notre expérimentation, l'application des cinq souches rhizobactériennes, en tant qu'agent de lutte contre la fusariose vasculaire de pois, nous a permis de mettre en évidence des potentialités antagonistes et phytostimulantes chez ces souches, plus précisément chez le génotype Polar, où nous avons constaté que le biocontrôle a permis de réduire l'infection de la maladie et sa sévérité, ayant une conséquence positive direct sur la diminution des valeurs de l'AUDPC enregistrées chez les traitements bactérisés. Comme cette situation a permis aussi l'observation d'une augmentation considérable de la biomasse fraîche et sèche de la partie aérienne, souterraine et des gousses, tout en augmentant la longueur des tiges et la teneur en chlorophylle chez certains traitements bactérisés.

Toutefois chez le génotype P21, bien que l'effet antagoniste n'a pas été observé, nous avons pu constater une augmentation importante de la biomasse des traitements bactérisés allant jusqu'à trois fois leur poids normal.

Nous souhaitons continuer les recherches sur les effets bénéfiques 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 démontré leur efficacité antagoniste, et surtout de travailler sur des géotypes locaux.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- Agrios, G.N., 2005, "Plant pathology", 5th edition. Department of plant pathology. University of Florida, Elsevier Academic Press, 948 p.
- Alabouvette C (1983) La réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires. Rôle de la compétition nutritive entre microorganismes. Thèse de sciences naturelles, univ Nancy, 158 p
- Ali, S.k.Z, Sandhya. V, Grover. M, Kishore. N, Rao. L.V, 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 Beck F (1991) Increasing VA-mycorrhization with application of rhizosphere bacteria. In: *The rhizosphere and plant growth* (Kleister DL, Cregan PB, eds) Kluwer Acad Publ, 381
- 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 AJ, Guerra D (1985) Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in hydroponic system. *Phytopathology* 75, 992-995
- Anjaiah, V., Koedam, N., Nowak-Thompson, B., Loper, J. E., Hofte, M., Tambong, J. T. and Cornelis, P., 1998. Involvement of phenazines and anthranilate in the antagonism of *Pseudomonas aeruginosa* PNA1 and Tn5 derivatives toward *Fusarium* spp. and *Pythium* spp. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11:847–854.
- Antoine Jacobson et Dominique Michel, *Le petit pois, illustrations de Fabien Seignobos*, Arles, Actes Sud, coll. « Chroniques du potager », 2001
- 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.
- Antoun, H., Prevost, D., 2005. Ecology of plant growth promoting rhizobacteria. In : *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Siddiqui, Z.A. (ed.). Springer, The Netherlands, pp : 16-39.
- B. Drogue, E. Combes-Meynet, Y. Moenne-Loccoz, F. Wisniewski-Dyé and C. Prigent-Combaret. Control of the cooperation between plant growth-promoting rhizobacteria and crops by rhizosphere signals. In: *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, F. De Bruijn (.ed), John Wiley & Sons, Inc. 2013
- Babalola, O.O., 2010 b. Ethylene quantification in three rhizobacterial isolates from *Striga hermonthica*-infested maize and sorghum. *The Egyptian Journal of Biology* 12, 1-5.

- Bais, H.P., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R.M., Vivanco, J.M., 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science* 9, 26-32.
- Bakker AW, Schippers B (1987) Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp mediated plant growth stimulation. *Soil Biol Biochem* 19, 451-457
- Bakker PAHM, Bakker AW, Marugg JD, Weisbeek PJ, Schippers B (1987) Bioassay for studying the role of siderophores in potato growth stimulation by *Pseudomonas* spp in short potato rotations. *Soil Biol Biochem* 19, 443-449
- Bakker PAHM, Lammers JG, Bakker AW, Marugg JD, Weisbeek PJ, Schippers B (1986a) The role of siderophores in potato tuber yield increase by *Pseudomonas putida* in short rotation of potato. *Neth J Plant Pathol* 92, 249-256
- Bano. A et Fatima.M, 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biol. Fert. Soils*. 45: 405–413.
- Bashan, Y., Holguin, G., 2002. Plant growth-promoting bacteria: a potential tool for arid mangrove reforestation. *Trees* 16, 159-166.
- Bates ML, Stanghellini ME (1984) Root rot of hydroponically grown spinach caused by *Pythium aphanidermatum* and *Pythium dissocotum*. *Plant Dis* 68,989-991
- Bauman, R. (2004) *Microbiology*. Pearson Benjamin Cummings.
- Beauchamp, C.J., 1993. Mode of action of plant growth-promoting rhizobacteria and their potential use as biological control agents. *Phytoprotection* 71, 19-27.
- 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. Microbiol*, 49 : 1090-1093.
- Becker JO, Cook RJ (1988) Role of siderophores on suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 78, 778-782
- Becker, J.O. and Cook, R.J., 1988. Role of siderophores in suppression of *Pythium* species and production of increased-growth response of wheat by fluorescent pseudomonads. *Phytopathol.* 78:778–782.
- Ben Chaima B.,1991. Contribution à l'étude du *Fusarium oxysporum* (Schlect) emend SNYDER HANS f.sp. lentis agent du flétrissement de la lentille.
- Ben Chaima B.,1991. Contribution à l'étude du *Fusarium oxysporum* (Schlect) emend SNYDER HANS f.sp. lentis agent du flétrissement de la lentille. Pathogénéicité et comportement variétal. Thèse d'ingénieur en agronomie,

université de Cheliff ; 67 p.

BENANTAR et AYOUNI 2015, Evaluation de l'efficacité symbiotique de quatre souches de *Rhizobium leguminosarum* SV.Viciae nodulant le pois *Pisum sativum*, mémoire de Master en Microbiologie option Ecologie microbienne, Université des Frères Mentouri Constantine, 31p.

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.

Benoît M., Deffontaines J.-P., Lardon S. 2006. Acteurs et territoires locaux. Vers une géoagronomie de l'aménagement. Collection Savoir-Faire, Inra.

Bienfait HF (1986) Iron efficiency relations of monocotyledonous and dicotyledonous plants. In: Iron, siderophores and plant diseases (TR Swinburne, ed) Plenum Press, New York, 21-27

Bitter, W., Marugg, J.D., de Weger, L.A., Tommassen, J. and Weisbeek, M. 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.

Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England., 237 p

Booth, C., 1977. *Fusarium*. Laboratory guide to the identification of the major species. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, England, 58p.

Bordeleau L. M., 1989. Potentiel du *Rhizobium* comme agent de lutte biologique. *Phymprotecron.* 70 : 31-41.

Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L. 2000. The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* : current status and need for revision. *Agronomie*, 20: 51-63.

Botton, B. ; Breton, A. ; Fevre, M. ; Guy, PH. ; Laprent, J. P. et Veau, L., 1985. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Ed. Masson, 364 p.

Botton, B. ; Breton, A. ; Fevre, M. ; Guy, PH. ; Laprent, J. P. et Veau, L., 1985. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Ed. Masson, 364 p.

Bouhot, D. et Rouxel, F., 1970. Deux techniques de détermination du pouvoir pathogène des *Fusarium oxysporum*. *Ann. Phytopathol.*, 2 : 591-594.

Bowen GD, Rovira AD (1976) Microbial colonization of plant roots. *Annu Rev Phytopathol* 14, 121-144

Boyeldieu, J, 1991. Produire des grains oléagineux et

protéagineux.

- Brink M, Belay G. 2006. Céréales et légumes secs, ressources végétales de l'Afrique tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P:102
- Brisbane PG, Harris JR, Moen P (1989) Inhibition of fungi from wheat roots by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 and fungicides. *Soil Biol Biochem* 21,1019-1025
- Brisbane PG, Rovira AD (1988) Mechanisms of inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* by fluorescent pseudomonads. *Plant Pathol* 37, 104-111
- Brown ME (1974) Seed and root bacterization. *Annu Rev Phytopathol* 12, 181-197
- Budzikiewicz, H., 1993. Secondary metabolites from fluorescent pseudomonads. *FEMS Microbiol. Rev.* 104: 209–228.*
- Cabrera et al, 1985 :Cabrera de la Coline., Trapero-Casas. J. L and Jimenez Diaz,R.M.,1995. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in Andalusia southern Spain. *I.C.N*,13:24-26.
- Caesar AJ, Burr TJ (1987) Growth promotion of apple seedlings and rootstocks by specific strains of bacteria. *Phytopathology* 77, 1583-1588
- Carcanague, D.R., 1997. Novel derivatives of pseudomonic acid. *Bioorganic Medicinal Chem. Lett.* 7(21): 2805-2808.
- Cattelan, A.J., Hartel, P.G. and Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1670–1680.
- Centre Suisse de contrôle de qualité
- Champion. R, 1997, Identifier les champignons transmis par les semences: Techniques et pratiques. Ed. Quae, Paris, 398 p.
- Champion. R., 1997. Identifier les champignons transmis par les semences INRA, Paris, 108p.
- Cheng, W., Coleman, D.C., Carroll, C.R., Hoffman, C.A., 1994. Investigating short term carbon flows in the rhizospheres of different plant species, using isotopic trapping. *Agronomy Journal* 86, 782-788.Picard, C.,
- Chet, I., 1987. *Trichoderma* - application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In: *Innovative Approaches to Plant Disease Control*, I. Chet (ed.), John Wiley & Sons: New York. pp. 137-160.
- Cieslarová J, Smýkal P, Dockalová Z, Hanáček P, Procházka S, Hýbl M, Griga M. 2011. Molecular evidence of genetic diversity changes in pea (*Pisum sativum* L.) germplasm after long-term maintenance. *Genetic Resources and Crop Evolution.* 58: 439–451.

- Cieslarová J, Smýkal P, Dočkalová Z, Hanáček P, Prochazka S, Hýbl M, Griga M. 2011. Molecular evidence of genetic diversity changes in pea (*Pisum sativum* L.) germplasm after long-term maintenance. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 58: 439–451.
- Clays-Josserand, A., Lemanceau, P., Philippot, L. and Lensi, R., 1995. Influence of two plant species (flax and tomato) on the distribution of nitrogen dissimilative abilities within fluorescent *Pseudomonas* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 1745-1749.
- Cook RJ, Sitton JW, Haglund WA (1987) Increased growth and yield responses of wheat to reductions in the *Pythium* population by soil treatments. *Phytopathology* 77, 1192-1198
- Cook RJ, Sitton JW, Haglund WA (1987) Increased growth and yield responses of wheat to reductions in the *Pythium* population by soil treatments. *Phytopathology* 77, 1192-1198
- Cook RJ, Sitton JW, Waldher JT (1980) Evidence via *Pythium* as pathogen of direct-drilled wheat in the Pacific Northwest. *Plant Dis* 64, 102-103
- Corbaz, R., 1990. Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Ed. presse phytotechnique et universitaire, Paris, 650p.
- 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.
- Criquet et Calvert., 1997. Planche de TP du phytopathologie, 03p
- Curl EA (1982) The rhizosphere: relation to pathogen behaviour and root disease. *Plant Dis* 66, 624-630
- Darrah, P. R., 1993. The rhizosphere and plant nutrition: a quantitative approach, *Plant and Soil* 156, 1-20.
- Défago, G., Berling, C.H. and Burger, U., 1990. Suppression of Black Root Rot of Tobacco and Other Root Diseases by Strains of *Pseudomonas fluorescens*: Potential Applications and Mechanisms. In: *Biological Control of Soilborne Plant Pathogens*. Hornby D, (ed). Oxon, UK: CAB International, Wellingford, pp. 93–108.
- Denarie J., Debelle F., et Rosenberg C., 1992. Signaling and host range variation in nodulation. *Annu Rev Microbiol*, 46 : 497-531.
- D'Haese, W., Holsters, M. (2002). Nod factor structures, responses, and perception during initiation of nodule development. *Glycobiology* 12, 79R-105R.

- Di Cello, F., Ventura, M., Fani, R., Guckert, A., 2000. Frequency and biodiversity of 2,4-diacetylphloroglucinol producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of plant growth. *Applied and Environmental Microbiology* 66, 948-955.
- 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.
- Digat B, Gaudillat M, Labadie JM (1990) Susceptibility of various tomato and lettuce genotypes to plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Symbiosis* 9, 295-303
- Dommergues Y, Mangenot F (1990) *Écologie microbienne du sol*. Masson, Paris, 796 p
- Donald, J., 1985. Compendium of pea diseases. In cooperation with Department of plant pathology University of Wisconsin – Madison. APS Press, The American Phytopathologies I Society. PP. 55.
- Donald, J., 1985. Compendium of pea diseases. In cooperation with Department of plant pathology University of Wisconsin – Madison. APS Press, The American Phytopathologies I Society. PP. 55.
- Dowling, D.N. and O’Gara, F, 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. *Trends Biotechnol.* 12: 133-140.
- Dubuis, C. and Haas, D., 2007. Cross-species GacA-controlled induction of antibiosis in pseudomonads. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 650-654.
- Duijff BJ, Meijer JW, Bakker PAHM, Schippers B (1991) Suppression of *Fusarium* wilt of carnation of *Pseudomonas* in soil; mode of action. In: *Plant growth-promoting rhizobacteria-progress and prospects* (C Keel, B Koller, G Defago, eds) IOBC/WPRS, XIV/8, 152-156
- Duniway J.M., 2002. Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. *Phytopathology*, 92, 12 / 1337-1343.
- Edel V., Steinberg C., Gautheron N., Recorbet G. and Alabouvette C., 1995. Comparison of 3 molecular methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains. *Phytopathology.*, 85:579-585.
- Elad Y, Chet I (1987) Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium damping-off* by bacteria. *Phytopathology* 77, 190-195
- Elad Y, Baker R (1985) The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 75,

- Elander, R.P., Mabe, J.A., Hamili, R.H. and Gorman, M., 1968. Metabolism of tryptophane by *Pseudomonas aureofaciens*. VI. Production of pyrrolnitrin by selected *Pseudomonas* species. *Appl. Microbiol.* 16:753-758.
- Elliott LF, Lynch JM (1984) *Pseudomonads* as a factor in the growth of winter wheat (*Triticum aestivum* L). *Soil Biol Biochem* 16, 69-71
- Emery T (1965) Isolation, characterization and properties of fusarinine a hydroxamic acid, derivate of ornithine. *Biochemistry* 4, 1410-1417
- Euzeby, J.P., 2008. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. URL <http://www.bacterio.cict.fr/>.
- Fabregne, C ., 1986 . Les principales maladies de la tomate à la réunion (cultures légumières), pp :45-50.
- FAO, 2007 : site de l'organisation de l'agriculture et de la nutrition (FAO Statistique).
- Favrin RJ, Rahe JE, Mauza B (1988) *Pythium* spp associated with crown rot of cucumbers in British Columbia greenhouses. *Plant Dis* 72, 683-687
- Fenton, A.M., Stephens, P.M., Crowley, J. O'Callaghan, M. and O'Gara, F., 1992. Exploitation of gene(s) involved in 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthesis to confer a new biocontrol capability to a *Pseudomonas* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 58: 3873-3878.
- Fernon J-P. 1970. Etude de la pénétration et de la colonisation du *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis. SN. & H, Influence des facteurs écologiques sur ce phénomène et sur l'extériorisation des symptômes sur plantules de Melon. Mémoire, Diplôme d'Ingénieur des Techniques Agricoles, ENITA de Bordeaux, Bordeaux, 30p.
- Figueiredo M.V.B., Martinez C.R., Burity H.A. and Chanway C.P. 2008 b. Plant growth promoting rhizobacteria for improving nodulation and nitrogen fixation in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *World. J. Microbiol. Biotechnol.* 24:1187-1193. fixation. *Mol. Biol. Evol.* 21, 541-554.
- Flaishman M, Eyal Z, Voisard C, Haas S (1990) Suppression of *Septoria tritici* by phenazine- or siderophore- deficient mutants of *Pseudomonas*. *Curr Microbiol* 20, 121-124
- Foster RC, Rovira AD (1978) The ultrastructure of the rhizosphere of *Trifolium subterraneum* L. In: *Microbial ecology* (MW Loutit, JAR Miles, eds) Springer-Verlag, Berlin, 278-290
- Fravel D., Olivain C. and Alabouvette C. 2002. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*, v. 157, pp.

493-502.

- Fravel DR (1988) Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Annu Rev Phytopathol* 26, 75-91
- Gamble, T.N., Betlach, M. R. and Tiedje, J.M., 1977. Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 33: 926-939.
- Gams W. et Nirenberg H.I., 1989. A contribution to the genetic definition *Fusarium*. *Mycotaxon*, 35 : 407-416.
- Ganesan P, Gnanamanickam JJ (1987) Biological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc in peanut by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol Biochem* 19, 35-38
- Garbaye J, Bowen GD (1987) Effect of different microflora on the success of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata*. *Can J For Res* 17, 941-943
- Garcia, M.G., O'Connor, J.E., Garcia, L.L., Martinez, S.I., Herrero, E. and del Castillo, A.L., 2001. Isolation of a *Candida albicans* gene, tightly linked to URA3, coding for a putative transcription factor that suppresses a *Saccharomyces cerevisiae* *aft1* mutation. *Yeast* 18: 301-311.
- Gardner JM, Chandler JL, Feldman AW (1984) Growth promotion and inhibition by antibiotic producing fluorescent pseudomonads on citrus roots. *Plant Soil* 77, 103-119
- Geels FP, Lamers JG, Hoekstra O, Schippers B (1986) Potato plant response to seed tuber bacterization in the field in various rotations. *Neth J Plant Pathol* 92, 257-272
- Geels FP, Schippers B (1983) Reduction of yield depressing in high frequency potato cropping soil after seed tuber treatment with antagonistic fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathol Z* 108, 207-214
- Gill PR, Warren GJ (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., Patten, C.L, Holguin, G. and Penrose, D.M., 1999. *Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria*. Imperial College Press, London, UK, 267 p.
- Glick, B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41, 109-117.
- 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., 1988. Report on plant pathology: Wilt diseases of pea, RPD No.912

- Grewal J.S., Mahendra pal and Kulshrestha D.D.,1974.A new record of wilt gram caused by *Fusarium solani*. Current science 43:767 p.
- Griffin, D. M.,1970. Ecology of soil fungi. Ed. Syracus. University press, P193.
- Gurusiddaiah S, Weller DM, Sarkar A, Cook RJ (1986) Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* and *Pythium* spp. Antimicrob Agents Chemother 29, 488-495
- Gurusiddaiah, S., Weller, D.M., Sarkar, A. and Cook, R. J., 1986. Characterization of an antibiotic produced by a strain of *Pseudomonas fluorescens* inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* and *Pythium* spp. Antimicrob. Agents Chemother. 29:488-495.
- Gutterson, N., Ziegler, J.S., Warren, G.J. and Layton, T.L., 1988. Genetic determinants for catabolite induction of antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* HV37a. J. Bacteriol. 170: 380-385.
- 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. (Schreuder, 1951, Bolton et al., 1966)
- Hagedorn, D.J.1991. Handbook of pea diseases. University of Wisconsin.Madison Cooperative Extension Bulletin A 1167: 35.
- Haglund W.A. et Kraft J.M., 1970. *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii* race 5. Phytopathology, 60 : 1861-1862.
- Haglund W.A. et Kraft J.M., 1979. *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii*, race 6: Occurrence and distribution. Phytopathology, 69 : 818-820.
- Haglund W.A. et Kraft J.M., 1979. *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii*, race 6: Occurrence and distribution. Phytopathology, 69 : 818-820.
- Hamdan H, Thomashow LD, Weller DM (1988) Relative importance of fluorescent siderophore and phenazine antibiotic by *Pseudomonas fluorescens* 2-79 in suppression of take-all. Phytopathology 78,1522
- Hawar.M.P.,1988. *Fusarium* wilt and other important diseases on chickpea. In the mediterranean area. proceeding of international workshop on present status and future prospects on chickpea crop production and improvement Mediterranean countries CIHEAM/EEC,AGRIMES/ICARDA,11-13, Zaragoza, Spain.

- Haware M.P., Nene, Y and Mathur.,1986.Seed borne diseases of chickpea. Technical bulletin n°1 From the Danish government. Institute of Seed pathology for developing countries. Copenhagen. Danemark.
- Haware M.P., Nene, Y and Mathur.,1986.Seed borne diseases of chickpea. Technical bulletin n°1 From the Danish government. Institute of Seed pathology for developing countries. Copenhagen. Danemark.
- Hawes, M.C., 1998. Function of root border cells in plant health: pioneers in the rhizosphere. Annual Review of Phytopathology 36, 311-327.
- Haynes WC, Stodola FH, Locke JM, Pridham TG, Conway HF, Sohns VE, Jackson RW (1956) *Pseudomonas aureofasciens* Kluyver and phenazine α -carboxylic acid, its characteristic pigment. J Bacteriol 72, 412-417
- Heming BC (1986) Microbial-iron interactions in the plant rhizosphere. An overview. J Plant Nutr 9, 505-521
- Hernandez-Lucas, C., Royo, J., Paz-Ares, J., Ponz, F., Garcia-Olmedo, F. and Carbonero, P., 1986. Polyadenylation site heterogeneity in mRNA encoding the precursor of the barley toxin a-hordothionin. FEBS Lett. 200: 103-105.
- 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
- Hohnadel D, Meyer JM (1988) Specificity of pyoverdinin-mediated iron uptake among fluorescent *Pseudomonas* strains. J Bacteriol 70, 4865-4873
- Holloway, B. W., 1992. *Pseudomonas* in the late twentieth century. In: *Pseudomonas, Molecular Biology and Biotechnology* (E Galli, S Silver, B Witholt,eds), Am Soc Microbiol, Washington, DC, 1-8.
- Homma, Y., Kato, Z., Hirayama, F., Konno, K., Shirahama, H. and Suzui, T., 1989. Production of antibiotics by *Pseudomonas cepacia* as an agent for biological control of soilborne plant pathogens. Soil Biol. Biochem. 21:723-728.
- Howell CR, Stipanovic RD (1980) Suppression of *Pythium ultimum* induced damping off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. Phytopathology70, 712-715
- Howell CR, 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
- Howell, C. R. and Stipanovich, R. D., 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas*

fluorescens and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathol.* 69: 480-482.

Hoy JW, Schneider RW (1988) Role of *Pythium* in sugar cane stubble decline: effects on plant growth in field soil. *Phytopathology* 78, 1692-1696

Hseuh, P., Teng, L., Pan, H., Chen, Y., Sun, C., Ho, S., and Luh, K. "Outbreak of *Pseudomonas fluorescens* Bacteremia among Oncology Patients" *Journal of Clinical Microbiology*, 1998. Volume 36, p. 2914-2917.

Huebbling N., 1974. Testing for resistance to wilt and near wilt of peas caused by race 1 and race 2 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii*. *Genetics*, 29 : 991-1000.

Jeunot B. 2005. Les fusariotoxines sur céréales : Détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse, Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré, Nancy, 125 p

Jindong Sun, John N. Nishio & Thomas C. Vogelmann, « Green light drives CO₂ deep within leaves », *Plant Cell Physiol*, vol. 39, no 10, 1998, p. 1020-1026.

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.

Jordan, D.C. (1982)– transfert of *Rhizobium japonicum* b Buchanan to *Bradyrhizobium* gen. nov. A genus of slow-growing root nodule bacteria from leguminous plants. *Int.J. syst. Bacteriol.*32: 136-139.

Kanner D, Gerber NN, Bartha R (1978) Pattern of phenazine pigment production by a strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 134, 690-692

Katz, E. and Demain, A. L., 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis and possible functions. *Bacteriol. Rev.* 40: 449–474.

Keel C, Maurhofer M, Oberlhansli TH, Voisard C, Haas D, Defago G (1991) Role of 2,4- diacetylphloroglucinol in the suppression of take-all of wheat by a strain of *Pseudomonas fluorescens*. In: *Biotic interactions and soil-borne diseases* (Beemster ABR, Bollen GJ, Gerlagh M, Ruissen MA, Schippers B, Tempel A) *Dev Agric Managed Forest Ecol* 23, Elsevier, Amsterdam, 335-338

Keel C, Voisard C, Berling CH, Kahr G, Defago G (1989) Iron sufficiency a prerequisite for the suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* CHAO in gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 79, 584-589

- Keel C, Wirthner P, Oberhansli TH, Voissard C, Burger U, Haas D, Defago G (1990) Pseudomonads as antagonists of plant pathogens in the rhizosphere: role of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol in the suppression of black root rot of tobacco. *Symbiosis* 9, 327-341
- Keel, C., U. Schinder, M. Maurhofer, C. Voissard, J. Laville, P. Burger, P. Wirthner, Haas, D. and Défago, G., 1992. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 5: 4-13.
- Khan M.S., Zaidi .A. 2005. Interactive Effect Of Rhizospheric Microorganisms On Growth,
- Kim, K.Y. and McDonald, G.A., 1998. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity. *Fert. Soils* 26: 79-87.
- Kirner, S., Hammer, P.E., Hill, D.S., Altmann, A., Fischer, I., Weislo, L.J., Lanahan, M., van Pée, K.H. and Ligon, J.M., 1998. Functions encoded by pyrrolnitrin biosynthetic genes from *Pseudomonas fluorescens*. *J. Bacteriol.* 180(7): 1939-1943.
- Kleinkauf, H. and von DGHren, H., 1996. A non-ribosomal system of peptide biosynthesis. *Eur. J. Biochem.* 236:335-351.
- Kloepper JW, Schroth MN (1981b) Plant growth-promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 71, 642-664
- Kloepper JW, Scher FM, Laliberte M, Tipping B (1986) Emergence-promoting rhizobacteria: description and implications for agriculture. In: Iron, siderophores and plant diseases (TR Swinburne, ed) NATO ASI Series A, Life Sci, Plenum Press, New York, 351, 155-164
- Kloepper JW, Schroth MN, Miller TD (1980c) Effects of rhizosphere colonization by plant growth promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology* 70, 1078-1082
- Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In: 4th Int. Conf. Plant Pathogen. Bacteria. Angers France, 2: 879-882.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth., M.N., 1980b. *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4: 317-320.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, R., Zablotowicz, R.M., 1989. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology* 7, 39-44.
- Kraft J.M. et Haglund W.A., 1978. A reappraisal of the race

classification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii*.
Phytopathology, 68 : 273-275.

Kraft J.M., 1994. *Fusarium* wilt of peas (a review). *Agronomie* 14 : 561-567.

Kraft J.M., 1994. *Fusarium* wilt of peas (a review). *Agronomie* 14 : 561-567. *Synder WC. Hansen HN., 1945. The species concept in *Fusarium* with reference to *discolor* and other section. *Am. J. Bot.*, 27 : 738-742.

Kraft J.M., 1994. *Fusarium* wilt of peas (a review). *Agronomie* 14 : 561-567.

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.

Kraft J.M., Pflieger F.L., 2001. *Compendium of pea diseases*, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 67p

Kraft J.M., Pflieger F.L., 2001. *Compendium of pea diseases*, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 67p.

Latour, X. and Lemanceau, P., 1997. Carbon and energy metabolism of oxidase-positive saprophytic fluorescent *Pseudomonas* spp., *Agronomie*, 17: 427-443.

LAUMONT, P. et CHEVASSUS, A. Note sur l'amélioration du pois rond en Algérie. 1960.

Laurence Madden, Gareth Hughes, Frank Van Den Bosch, *Study of Plant Disease Epidemics*, American Phytopathological Society, 2007, 2e éd

Leben SD, Wadi JA, Easton GD (1987) Effects of *Pseudomonas fluorescens* on potato plant growth and control of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 77, 1592-1595

Leeman M, Scheffer RJ, Schippers B (1991) Control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens* WCS374, in greenhouse trials. In: *Plant growth-promoting rhizobacteria-progress and prospects* (C Keel, B Koller, G Defago, eds) IOBC/ WPRS, XIV/8, 34-38

Leisinger, T. and Margraff, R., 1979. Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonads. *Microbiol. Rev.* 43(3): 422-442.

Lemanceau P, Samson R (1983) Relations entre quelques caractéristiques in vitro de 10 *Pseudomonas fluorescens* et leur effet sur la croissance du haricot (*Phaseolus vulgaris* L). In : *Les antagonismes microbiens*, 24e colloque SFP Bordeaux INRA, 327-328

Lemanceau P (1988) Réceptivité des sols aux fusarioses vasculaires : étude critique des théories proposées. Thèse de

doctorat, univ Claude bernard, Lyon, 99 p

- Lemanceau P, Alabouvette C (1991) Biological control of Fusarium diseases by fluorescent Pseudomonas and non-pathogenic Fusarium. *Crop Protec* 10,279-286
- Lemanceau P, Alabouvette C, Meyer JM (1986) Production of fusarinine and iron assimilation by pathogenic and non-pathogenic Fusarium. In: *Iron siderophores and plant diseases* (TR Swinburne, ed) Plenum press, New York, 251-253
- Lemanceau P, Alabouvette C, Couteaudier Y (1988a) Recherches sur la résistance des sols aux maladies. XIV. Modification du niveau de réceptivité d'un sol résistant et d'un sol sensible aux fusarioses vasculaires en réponse à des apports de fer et de glucose. *Agronomie* 8, 155-162
- Lemanceau, P., Offre, P., Mougel, C., Gamalero, E., Dessaux, Y., Moenne-Loccoz, Y. and Berta, G., 2006. Microbial ecology of the rhizosphere. In: *Microbiological methods for assessing soil quality*. Bloem, J., Hopkins, D.W. et Benedetti, A. (eds). CABI publishing, Massachusetts, Cambridge, MA, Etats-Unis, pp. 228-230.
- Leong J (1986) Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 24, 187-208
- Lewis, T.A., Cortese, M., Sebat, J., Green, T., Lee, C.H. and Crawford R.L., 2000. A Pseudomonas stutzeri gene cluster encoding the biosynthesis of the CCl₄-dechlorination agent pyridine-2,6-bis(thiocarboxylic acid). *Environ. Microbiol.* 2: 407–416.
- Linberg GO (1981) An antibiotic lethal to fungi. *Plant Dis* 65, 680-683, 153-204
- Linderman RG, Paulitz TC (1990) Mycorrhizal-rhizobacterial interactions. In: *Biological control of soil-borne plant pathogens* (D Hornby, ed) CAB, Int, 261-283
- Lindstrom, K., Murwira, M., Willems, A., Altier, N., 2010. The biodiversity of beneficial microbe-host mutualism: the case of rhizobia. *Journal of Microbiology Research* 161 : 453-463.
- Linford M.B., 1928. A fusarium wilt of peas in Wisconsin. *Wisconsin Agricultural Experiment Station Research Bulletin*, WI, USA 85, 43.
- Lockwood JL (1981) Exploitation competition. In: *The fungal community. Its organisation and role in the ecosystem* (DT Wicklow, GC Carrol, eds) M Dekker, Inc, 833 p
- Loper JE, Buyer JS (1991) Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol Plant-Microbe Interac* 4, 5-13
- Loper JE, Schroth MN (1986a) Importance of siderophores in

microbial interactions in the rhizosphere. In: Iron siderophores and plant disease (TR Swinburne) Plenum Press, New York, 85-98

- Loper, J.E., 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopathol.* 78:166–172.
- Lorito, M., Farkas, V., Rebuffat, S., Bodo, B. and Kubicek, C.P., 1996. Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. *J. Bacteriol.* 178: 6382–6385.
- Lugtenberg, B., Kamilova, F., 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63, 541-556.
- 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.
- Mamoun M, Olivier JM (1992) Effect of soil pseudomonads on colonisation of hazel roots by ectomycorrhizal species *Tuber melanosporum* and its competitors. *Plant Soil* 139, 265-273
- Martin, F. N. and Loper, J. E., 1999. Soilborne plant diseases caused by *Pythium* spp.: Ecology, epidemiology, and prospects for biological control. *Crit. Rev. Plant Sci.* 18:111-181.
- Martinez-Viveros, O., Jorquera, M.A., Crowley, D.E., Gajardo, G., Mora, M.L., 2010. Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10, 293-319.
- Matsubara, T. and Zumft, W. G., 1982. Identification of a copper protein as part of the nitrous oxide-reducing system in nitrite-respiring (denitrifying) pseudomonads. *Arch Microbiol.* 132: 322-328.
- Maurhofer M, Keel C, Schnider U, Haas D, Defago G (1991) Does enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO improve its dis-
- Maurhofer, M., Hase, C., Meuwly, P., Mettraux, J.P. and Défago, G., 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the root-colonizing *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: Influence of the *gacA* gene and of pyoverdine production. *Phytopathol.* 84: 139–146.
- Maurhofer, M., Keel, C., Schnider, U., Voisard, C., Haas, D. and

- Défago, G., 1992. Influence of enhanced antibiotic production in *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 on its disease suppressive capacity. *Phytopathol.* 82(2): 190–195.
- Mavrodi, O.V., McSpadden Gardener, B.B., Mavrodi, D.V., Bonsall, R.F., Weller, D.M. and Thomashow, L.S., 2001. Genetic diversity of *phlD* from 2,4-diacetylphloroglucinol-producing fluorescent *Pseudomonas* species. *Phytopathol.* 91: 35–43.
- Mazzola, M., Cook, R.J., Thomashow, L.S., Weller, D.M. and Pierson, L.S.III, 1992. Contribution of phenazine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of fluorescent pseudomonads in soil habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:2616-2624.
- Mench M (1985) Influence des exsudats racinaires solubles sur la dynamique des métaux dans la rhizosphère du maïs (*Zea mays* L). Thèse de Dr de l'INPL, Univ Nancy, 109 p
- Mercado-Blanco, J., van der Drift, K. M.G.M., Olsson, P.E., Thomas-Oates, J.E., van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M., 2001. Analysis of the *pmsCEAB* gene cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374. *J. Bacteriol.* 183:1909–1920.
- Messiaen C.M. et Cassini R., 1968. Recherches sur les Fusarioses. IV-La systématique des *Fusarium*. *Ann. Epiph.*, 19 : 387-454.
- Messiaen, C. M., Blancard, D., Rouxel, F. et Lafon, R., 1991. Les maladies des plantes maraîchères, INRA, Paris(3ème édition), pp: 291-305.
- 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.
- Mew TW, Rosales AM (1986) Bacterization of rice plants for control of sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 76, 1260-1264
- Meyer JM, Abdallah MA (1978) The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physico-chemical properties. *J Gen Microbiol* 107, 319-328
- Meyer JM, Halle F, Hohnadel D, Lemanceau P, Ratefiarivelo H (1987) Siderophores of *Pseudomonas*: biological properties. In: Iron transport in microbes, plants and animals (D Van der Helm, J Neilands, G Winkelmann, eds) VCH, Weinheim, 189-205

- Meyer JR, Linderman RG (1986) Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacteria, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol Biochem* 18, 185-190
- Mircetich SM (1971) The role of *Pythium* in feeder roots of diseased and symptomless peach trees and in orchard soils in peach tree decline. *Phytopathology* 61, 357-361
- Misaghi IJ, Olsen MW, Cotty PJ, Donndelinger CR (1988) Fluorescent siderophore mediated iron deprivation. A contingent biological control mechanism. *Soil Biol Biochem* 20, 573-574
- Molot, P. M. et Mas., 1975. Influence de la température sur la croissance mycélienne et la pouvoir pathogène des quatre races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*
- Moore L.W., 1988. Use of a *Agrobacterium radiobacter* in agriculture ecosystems. *Microbiol. Sci.*, 5 : 92-95.
- Mossialos, D., Meyer, J.M., Budzikiewicz, H., Wolff, U., Koedam, N. and Baysse, C., 2000. Quinolobactin, a new siderophore of *Pseudomonas fluorescens* ATCC 17400, the production of which is repressed by the cognate pyoverdine. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 487–492.
- Nap, J. P., & Bisseling, T. (1990). Developmental biology of a plant-prokaryote symbiosis: the legume root nodule. *Science*, 250(4983), 948.
- Neilands JB (1973) Microbial iron transport compounds (siderochromes). In: *Inorganic biochemistry* (GL Eichorn) Elsevier, Amsterdam, 167-202
- Neilands JB, Leong SA (1986) Siderophores in relation to plant growth and disease. *Annu Rev Plant Physiol* 37, 187-208
- Nelson P., 1991. History of *Fusarium* systematic. *Phytopathology*, 81: 1045 –1048.
- Nene Y.L., Haware M.P., and Ready. M., 1979. Diagnosis of some chickpea (*Cicer arietinum*). *ICRISAT Information bulletin*, 3: 1-44p
- Nielsen, T.H., Christophersen, C., Anthoni, U. and Sorensen, J., 1999. Viscosinamide, a new cyclic depsipeptide with surfactant and antifungal properties produced by *Pseudomonas fluorescens* DR54. *J. Appl. Microbiol.* 87: 80-90.
- Nielsen, M.N., Sørensen, J., Fels, J. and Pedersen, H.C., 1998. Secondary metabolite- and endochitinase-dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3563–3569.
- Nielsen, T.H., Thrane, C., Christophersen, C., Anthoni, U. and Sorensen, J., 2000. Structure, production characteristics and

fungal antagonism of tensin - a new antifungal cyclic lipopeptide from *Pseudomonas fluorescens* strain 96.578. *J. Appl. Microbiol.* 89: 992-1001.

Nikolay S. Strigul a, Lev V. Kravchenko., 2005. Mathematical modeling of PGPR inoculation into the rhizosphere. *Environmental modelling & software*

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.

OELKE, E. A., OPLINGER, E. S., HANSON, C. V., et al. *Dry Field Pea: Alternative Crops Manual*. University of Wisconsin-Extension, University of Minnesota-Center for Alternative Plant and Animal Products and the Minnesota Extension Service. St. Paul, Minnesota, 1991.

OEPP/EPPO., 1994. Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes, Norme OEPP PP 2/1(1) Directive sur la bonne pratique phytosanitaire : Principe de bonne pratique phytosanitaire, pois. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 24, pp: 233-244

Olivier JM, Guillaumes J (1981) Essais de lutte biologique contre la tache bactérienne. *Mush Sci* XI, 353-367

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.

Palleroni, N.J., 2008. The road to the taxonomy of *Pseudomonas*. In: Cornelis, P.(Ed.), *Pseudomonas: Genomics and Molecular Biology*. Caister Academic Press, Belgium, pp. 1–18.

Palleroni, N.J., 1984. Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894. In: Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141–171.

Park CS, Paulitz TC, Baker R (1988) Biocontrol of *Fusarium* wilt of cucumber resulting from interactions between *Pseudomonas putida* and non-pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 78, 190-194

Pathogénéicité et comportement variétal. Thèse d'ingénieur en agronomie, université de Cheliff ; 67 p.

Perry J.J., Stalex J.T. et Lory S. 2004. *Microbiologie cours et questions de revision*. Edition Dunod. Paris. France.

Peter M., Ayer F. & Egli S. 2001. Nitrogen addition in a Norway spruce stand altered macromycete sporocarp production and below-ground ectomycorrhizal species composition. *New Phytologist* 149: 311-325

Picard, C., Di Cello, F., Ventura, M., Fani, R. and Guckert,

- A., 2000. Frequency and biodiversity of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing bacteria isolated from the maize rhizosphere at different stages of plant growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 948–955.
- Raaijmakers, J.M., 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil* 321, 341-361.
- Raj J, Bagyaraj DJ, Manjunath A (1981) Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate-dissolving bacterium on plant growth and 32 P-uptake. *Soil Biol Biochem* 13, 105-108
- Rajjou, L., Duval, M., Gallardo, K., Catusse, J., Bally, J., Job, C., & Job, D. (2012). Seed germination and vigor. *Annual review of plant biology*, 63, 507-533.
- Raven P. H., Evert R. F. et Eichhorn S. E. 2000. *Biologie végétale*. 6ème Edition de boeck, Paris.
- 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.
- Rhodes DJ, Logan C (1986) Effects of fluorescent pseudomonads on potato blackleg syndrome. *Ann Appl Biol* 108, 511-518
- Richardson, A.E., 2001. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants *Aus. J. Plant Physiol.* 28(9): 897–906.
- Roger .1953 .*Phytopathologie des pays chauds*. 2ème édition, Paul Le chevalier, pp :1170-2252.
- Roger .1953 .*Phytopathologie des pays chauds*. 2ème édition, Paul Le chevalier, pp : 1170-2252
- Rouxel et Bouhot, D.1971. Recherche sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. IV- Nouvelles mises au point concernant l'analyse sélective quantitative des *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* dans le sol. P172-188.
- Rovira AD, Davey CB (1971) Biology of the rhizosphere. In: *The plant root and its environment* (EW Carson, ed) Univ Press Virginia, Charlottesville
- 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*,

- 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 soilborne plant pathogens.*, 22 : 123-130
- Sakthivel E, Sivamani E, Unnamalai N, Gnanama-nickam SS (1986) Plant growth-promoting rhizobacteria in enhancing plant growth and suppressing plant pathogens. *Curr Sci (Bangalore)* 55, 22-25
- Sakthivel, N. and Gnanamanickal, S.S., 1987. Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for Suppression of Sheath Rot Disease and for Enhancement of Grain Yields in Rice (*Oryza sativa* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 53(9):2056-2059
- Salisbury, F.B., 1994. The Role of Plant Hormones. In: *Plant-Environment Interactions.* Wilkinson, R.E. (ed.). Marcel Dekker, New York, USA., pp. 39-81.
- Salt GA (1979) The increasing interest in minor pathogens. In: *Soilborne plant pathogens* (B Schippers, W Gams, eds) Acad Press, Londres, 289-312
- 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.
- Scher, F.M. and Baker, R., 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopathol.* 72:1567-1573.
- Schippers B, Geels FP, Hoekstra O, Lamers JG, Maenhout CAAA, Scholte K (1985) Yield depressions in narrow rotations caused by unknown microbial factors and their suppression by selected pseudomonads. In: *Ecology and management of soilborne plant pathogens* (CA Parker, AD Rovira, KJ Moore, PTW Wong, JF Kollmorgen eds) HPS, St Paul, 127-130
- Schippers B, Bakker AW, Bakker PAHM (1987) Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu Rev Phytopathol* 25, 339-358
- Schippers B, Bakker AW, Bakker PAHM (1987) Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Annu Rev Phytopathol* 25, 339-358

- Schroth MN, Hancock JG (1981) Selected topics in biological control. *Annu Rev Microbiol* 34, 453-476
- Schroth MN, Hancock JG (1982) Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* 216,1376-1381
- Schroth MN, Hildenbrand DC (1964) Influence of plant exudates on root-infecting fungi. *Annu Rev Phytopathol* 2, 101-132
- Schroth, M.N., Hildebrand, D.C. and Panopoulos, N., 1992. Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated pseudomonads. In: *The Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, pp. 3104-3131.
- Scurkson, J.M.O., Johnson, K., Olson, R.J., 2002. Estimating net primary productivity from grassland biomass dynamics measurements. *Global Change Biology* 108, 736-753.
- Sexena. D. R and Khare M.N.,1988.Factors influencing vascular wilt of lentil.*Ind.Phytopathol.*41:69-74.
- Smith M.J., Shoolery J. N., Schwyn B., Holden I. et J. B. Neilands., 1985. Rhizobactin, a structurally novel siderophore from *Rhizobium meliloti*. *J.*
- Smykal P, Kenicer G, Flavell AJ, Corander J, Kosterin O, Redden RJ, Ford R, Coyne CJ, Maxted N, Ambrose MJ, Ellis NTH. 2011. Phylogeny, phylogeography and genetic diversity of the *Pisum* genus. *Plant Genetic Resources*. 9: 4–18.
- Snyder, W.C., and H.N. Hansen. 1940. The species concept in *Fusarium*.
- Somers, E., Vanderleyden, J., Srinivasan, M., 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*30, 205-240.
- Stanghellini ME, White JG, Tomlinson JA, Clay C (1988) Root rot of hydroponically grown cucumbers caused by zoospore producing isolates of *Pythium intermedium*. *Plant Dis* 72, 358-359
- Stanghellini ME, Kronland WC (1986) Yield loss in hydroponically grown lettuce attributed to subclinical infection of feeder rootlets by *Pythium dissocotum*. *Plant Dis* 70, 1053-1056
- Stanier, R. Y., Palleroni, N. J. and Doudoroff, N. 1966. The aerobic pseudomonads : taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.*, 43 : 159-271.
- Stevens, A.M., Dolan, K.M. and Greenberg, E.P., 1994. Synergistic binding of the *Vibrio fischeri* LuxR transcriptional activator domain and RNA polymerase to the *fax* promoter region. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 91:12619-12623.
- Stutz EW, Defago G, Kern H (1986) Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black

- root rot of tobacco. *Phytopathology* 76, 181-185
- Suslow TV, Schroth MN (1982a) Role of deleterious rhizobacteria as minor pathogens in reducing crop growth. *Phytopathology* 72, 111-115
- Suslow TV, Schroth MN (1982b) Rhizobacteria of sugarbeet: effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology* 72, 199-206
- Suslow, T.V. and Schroth, M.N., 1982. Rhizobacteria of sugar beet: Effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathol.* 72:199-206.
- Suty A, Lemanceau P, Alabouvette C (1992) Les *Pythium* spp agents de pertes de racines en culture hors-sol. In: Integrated and biological control in protected crop (R Cavalloro) OILB/OEPP, 6 p(sous presse)
- TADJA, A., BENKADA, M. Youcef, RICKAUER, M., et al. Characterization of ascochyta as pathological species of pea (*Pisum sativum* L.) at the north-west of Algeria. *J. Agron*, 2009, vol. 8, no 3.
- Taupin.P ,Turpaud L,Chaillet I,Mathon M P,et Painparay G., 1994 .Première enquête viroses du pois .Perspective agricole 189 .INRA.France 40-42P.
- Teintze M, Hossain MB, Barnes CL, Leong J, Van der Helm D (1981) Structure of ferripseudobactin, a siderophore from plant growth promoting *Pseudomonas* B10. *Biochemistry* 20, 6446-6457
- Thomashow LS (1991) Molecular basis of antibiosis mediated by rhizosphere pseudomonads. In: Plant growth-promoting rhizobacteria-progress and prospects (C Keel, B Koller, G Defago, eds) IOBC/ WPRS, XIV/8, 109-115
- Thomashow LS, Weller DM (1988) Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*. *J Bacteriol* 170, 3499-3508
- Thomashow LS, Weller DM (1990) Application of fluorescent pseudomonads to control root diseases of wheat and some mechanisms of disease suppression. In: Biological control of soil-borne plant pathogens (D Hornby, ed) CAB Int, 109-122
- Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bonsall, R.F. and Pierson, L.S., 1990. Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent *Pseudomonas* species in the rhizosphere of wheat. *Appl. Environ. Microb.* 56: 908-912.
- Tivoli, B.,1988. Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. *Agronomie* 8 (3): 211-222.
- Tivoli, B.,1988. Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de

terre et dans son environnement. *Agronomie* 8 (3): 211-222.

- 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*, vol. 7 N° 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.
- Trapero-Casas, A. and Jimenez-Diaz, R.M.,1985. Fungal wilt and root rot disease of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*,76(5) : 873-883. tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P:102
- Trapero-Casas, A. and Jimenez-Diaz, R.M.,1985. Fungal wilt and root rot disease of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*,76(5) : 873-883. tropicale. Fondation Prota, Wageningen, Pays-Bas. P:102
- Unnamalai N, Gnanamanickam SS (1984) *Pseudomonas fluorescens* in an antagonist to *Xanthomonas citri* (Hasse) Dye, the incitant of citrus canker. *Curr Sci (Bangalore)* 53, 703-704
- Van Peer R, Niemann CJ, 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 Peer R, Van Kuik AJ, Rattink H, Schippers B (1990b) Control of *Fusarium* wilt in carnation grown on rockwool by *Pseudomonas* sp strain WCS417rand by Fe EDDHA. *Neth J Plant Pathol* 96, 119-132
- 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.
- Vartaja P.O.,1952. Forest humus quality and light conditions as factors influencing damping off. *Phytopathology*, pp:501-506.
- Vincent, J.M. (1970) - A manual for the practical study of the root-nodule bacteria. IBP Handbook No15. Blackwell Scientific Publishers, Oxford.
- Visca, P., Imperi, F. and Lamont, I.L., 2007. Pyoverdine siderophores: from biogenesis to biosignificance. *Trends Microbiol.* 15: 22–30.
- 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
- Walker, J.W., 1961. *Plant pathology*. 3rd edition, P.829.

- Walther D, Gindrat D (1988) Biological control of damping off of sugar-beet and cotton with *Chaetomium globosum* and a fluorescent *Pseudomonas*. *Can J Microbiol* 34, 631-637
- Weger LA (de), Van Boxtel R, Van der Burg B, Bruters RA, Geels FP, 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 DM, Cook RJ (1986) Increased growth of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads, and implications of *Pythium* control. *Can J Plant Pathol* 8, 328-334
- Weller DM (1988) Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annu Rev Phytopathol* 26, 379-407
- Weller, D.M. and Cook, R.J., 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatment with fluorescent pseudomonads. *Phytopathol.* 73: 463–469.
- Weststeijn EA, Meijer JW (1991) Suppression of *Pythium* root rot in tulips by fluorescent pseudomonads. In: *Biotic interactions and soil-borne diseases* (ABR Beemster, GJ Bollen, M Gerlagh, MA Ruissen, B Schippers, A Tempel) *Develop Agric Manage-For Ecol* 23, Elsevier, Amsterdam, 281-283
- Weyens, N., Van der Lelie, D., Taghavi, S., Vangronsveld, J., 2009. Phytoremediation: plante endophyte partnerships take the challenge. *Current Opinion in Biotechnology* 20, 248-254. *Am.Chem. Soc.*, 107 : 1739-1743.
- Wong PTW, Baker R (1984) Suppression of wheat take-all and *Ophiobolus* patch by fluorescent pseudomonads from a *Fusarium*-suppressive soil. *Soil Biol Biochem* 16, 397-403
- Xu GW, Gross DC (1986b) Field evaluations of the interactions among fluorescent pseudomonads, *Erwinia carotorova*, and potato yields. *Phytopathology* 76, 423-430
- Yala A., 2016. Essai de biocontrol de la fusariose vasculaire du petit pois. Mémoire magister. U. Blida 1, 122p

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)

| | |
|---------------------------------|-------|
| 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 boites Petri

Annexes 2

Tableau de l'AUDPC de génotype Polar.

| traitements | 0 | 7 | 9 | 11 | 13 | 15 | 16 | 18 | 22 | 24 | 26 | AUDPC |
|----------------------------|---|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| EDS | 0 | 6,19047619 | 6,66666667 | 6,66666667 | 7,33333333 | 12,222222 | 12,222222 | 13,333333 | 16,190476 | 18,0952381 | 23,6349206 | 254,253966 |
| FopR2F42 | 0 | 0 | 14 | 23,238095 | 24,952381 | 24,952381 | 27,142857 | 30,190476 | 34,071429 | 36,7857143 | 37,0238095 | 505,904762 |
| Pf F21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4,1666667 | 6,6666667 | 20,6349206 | 46,468254 |
| Pf BB10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9,07936508 | 13,3333333 | 31,4920635 |
| Pf C7R12 | 0 | 0 | 0 | 2,222222 | 5,555556 | 5,555556 | 6,666667 | 9,0793651 | 15,888889 | 34,3208436 | 43,2142857 | 220,648624 |
| Pf PP | 0 | 0 | 0 | 7,5 | 7,8571429 | 7,8571429 | 7,8571429 | 10,666667 | 12,888889 | 19,3333333 | 26,3333333 | 204,952382 |
| Rlx×Pf F21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 18,166666 | 20,666666 | 83,999998 |
| FopR2F42×pf 21 | 0 | 8,3333333 | 0 | 10,190476 | 11,269841 | 12,857143 | 13,968254 | 13,968254 | 14,857143 | 15,9444444 | 25 | 284,404762 |
| Fop R2F42×Pf BB10 | 0 | 6,1904762 | 0 | 11,666667 | 15,833333 | 15,833333 | 17,690476 | 18,095238 | 20,571429 | 38,952381 | 41,2698413 | 380,698413 |
| Fop R2F42×Pf C7R12 | 0 | 4 | 0 | 8,5714286 | 10,357143 | 12,214286 | 13 | 13,690476 | 14,166667 | 19,166667 | 20,8333333 | 249,750001 |
| Fop R2F42×PP | 0 | 3,3333333 | 0 | 8,0555556 | 8,722222 | 8,722222 | 14,52381 | 14,880952 | 15,238095 | 21,3571429 | 35,7142857 | 263,876983 |
| Fop R2F42×Rlx×Pf F21 | 0 | 0 | 0 | 6,1904762 | 8,2142857 | 13,571429 | 20,912698 | 22,873016 | 25,666667 | 31,7380952 | 34,2857143 | 323,916668 |