

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

Université Mouloud MAMMARI TIZI-OUZOU
Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques
Département des sciences agronomiques



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme De Master
Spécialité Productions Végétales

Thème :

**Activité inhibitrice de deux souches de *Pseudomonas*
spp. Fluorescent vis-à-vis de deux isolats fongiques de
Fusarium oxysporum.**

Dirigé par :

Mme DAHOUMANE- LARBAOUI A

Réalisé par :

AMRANE Fadhila
BOUSSAD Fetta

Devant le jury :

President: Mr AIT SAID S .M.C.A. UMMTO

Examineur : Mme KOURABA-CHERIFI F .M.A.A. UMM UMMTO

Promotion : 2021/2022.



Remerciement

Nous tenons à remercier Dieu qui nous a donné le courage et le savoir afin d'achever ce travail.

Nous remercions Mme DAHOUMANE-LARBAOUI A. Maitre Assistante A à l'UMMTO, pour l'encadrement, et pour ces précieux conseils, ça disponibilité, et sa patience tout à long de ce travail.

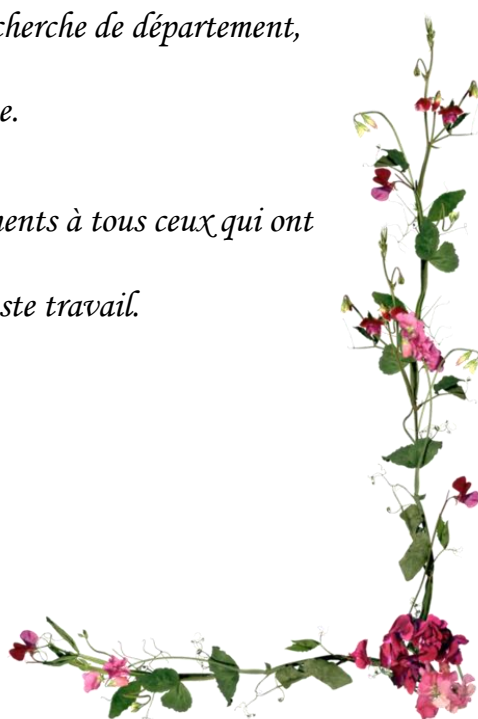
Nous remercions Mr AIT SAID S. Maitre de conférences A à l'UMMTO pour nous avoir fait l'honneur d'être le président du Jury.

Nos remerciements à Mme KOURABA-CHERIFI F. Maitre Assistante à l'UMMTO d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Notre responsable de promotion Mme BOUITEBTOUBE W et à tous les enseignants(es) de la faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques chacun par son nom pour leurs contributions dans notre formation tout au long de notre cursus universitaire.

Nous remercions aussi bien les ingénieurs de laboratoire de recherche de département, qui nous ont vraiment aidés lors de la pratique.

Aussi nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce Modeste travail.





Dédicace

Je dédie ce mémoire :

*À ma très chère mère **MALIKA**, tu as toujours été pour moi un exemple de la mère respectueuse, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer la femme que tu es. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployé pour mon éducation et ma formation.*

*À la mémoire de ma très chère grande mère « **Mema**».*

*À mon cher père **Mansour**, Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour ton soutien et encouragements. Je te dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que tu m'offre quotidiennement. Que Dieu le tout Puissant te garde et te procure santé et bonheur.*

*À mes très chers frères et sœurs **Lyna, Nabila, Karim, Hakim** que j'aime énormément, en témoignage de la fraternité, avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès.*

*À ma chère sœur **Lyna**, pour leur soutien moral. Qui m'ont entouré d'amour, d'affection et qui fait tout pour ma réussite, que dieu la garde.*

*Une dédicace spéciale à la personne qui m'a accompagné pendant mes moments de crise et de joie, mon cher **AREKI** pour ton écoute, ta présence et tes nombreux encouragements.*

*J'ai également une tendre pensée pour toute ma famille, mes grands-parents, mes chères tantes et mes cousines en particulier **Celia, Tounicia** que j'ai trouvé dans les moments difficiles.*

*À toute la famille **AMRANE** et **BEN SADOK**.*

*À mon cher binôme **Fetta**.*

*À mes chères amies **Assia, Rosa, Leticia.A, Leticia.L, Lamia, Louiza, Saidia.....***

À ceux qui m'ont beaucoup aidé et supporter dans les moments difficiles, qui m'ont soutenu et épaulé pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Narimane.



Dédicace

Je tiens tout d'abord à remercier le bon DIEU de m'avoir aidée à réaliser cet ouvrage

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents avec toute ma reconnaissance :

*A mon très cher père **SEDIK** :*

Je te dois l'essentiel de cette réussite, je suis consciente des énormes sacrifices que tu as consentis sans relâche pour nous

Ta sagesse et ton courage ont toujours été sécurisant pour moi.

. Avec tes modestes moyens, tu as toujours subvenu à nos besoins. Tu as rempli

pleinement ton rôle de père. Ta persévérance m'a aidé à ne jamais me décourager. Que Dieu fasse

que je continue à bénéficier longtemps encore de tes conseils. Seul le bon Dieu saura te récompenser. Prions ensemble pour qu'il te garde encore longtemps auprès de nous.

*A ma très chère mère **OURIDA**:*

Je te dois l'essentiel de cette réussite, je suis consciente des énormes sacrifices que tu as consentis

sans relâche pour m'éduquer et me permettre de gravir les échelons de notre société. Ton courage fait

de toi, une femme d'une trempe bien rare. Je te remercie du plus profond de mon coeur, seul le bon

Dieu saura te récompenser. Prions ensemble pour qu'il te garde encore longtemps auprès de nous

A mon chers frère : Aghilas

A mes chères sœurs : Ouardia, Kamila, Sonia, Dyhia.

A la mémoire de ma grande mère qui n'a jamais cessé de nous encourager : Fetta

A mon cher fiancé, A ma belle mère, mon beau père, ma belle sœur, mon beau frère et sa femme et ces enfants.

A mon cher binôme Narimane

A mes chères copines : Sadia et Louiza et Feroudja.

A mes chers cousins et cousines et cousin

Et a tout ce que j'aime.

Fetta.

Liste des abbreviations

ADH : Arginine dihydrolase

AIA : Acide indole-acétique.

DAPG : Diacétyl phloroglucinol.

FOA : *Fusarium oxysporum f.sp. albidinis*.

FOL : *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*.

FORL : *Fusarium oxysporum radidis-lycopersici*

HCN : Acide cyanhydrique.

KB : King B.

PDA : Potato Dextrose Agar

PGPR : Plant Growth Promoting Rhizobacteria.

PLT : Pyolutéorine.

PRN : Pyrrolnitrine.

RM : Rouge Méthyle

RSI : Résistance systémique induite.

TSI : Triple Sugar Iron Agar

VP : Voges-Proskaver.

Listes des figures

Figure 01 : schéma des principaux mécanismes d'action des PGPR (Mattar, 1993)	9
Figure 02 : Identification de <i>Fusarium oxysporum</i> f .sp.lycopersici (Toussoun et Nelson ,1976)	19
Figure 03 : Cycle général de la maladie flétrissement vasculaire causée par <i>F .oxysporum .f ;sp lycopercisi</i> chez la tomate (Agrios,2005).....	21
Figure 04 : Cycle infectieux du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>albedinis</i> (Sedra, 1992).....	28
Figure 05 : Symptômes de Bayoud sur des pieds de palmier dattier (Lepoivre, 2007)	29
Figure 06 : isolats fongiques FOL et FOA.....	34
Figure 07 : La galerie biochimique des suspensions bactériennes S20 ; CH.....	39
Figure 08 : Quelques matériels utilisés dans la production d'HCN.....	40
Figure 09 : Schéma de la méthode des spots.....	41
Figure 10 : Schéma de la méthode des traits.....	42
Figure 11 : Production de pigment fluorescent par les souches bactériennes S20 ; CH sur milieu King B	44
Figure 12 : Aspect microscopique de la souche bactérienne S20 au grossissement 10×100 après coloration de gram.....	45
Figure 13 : Aspect macroscopique du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>albedinis</i>	46
Figure 14 : Aspect macroscopique du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i>	46
Figure 15 : L'aspect microscopique de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i>	47
Figure 16 : L'aspect microscopique de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp <i>albedinis</i>	47
Figure 17 : Test TSI des deux souches CH et S20.....	48
Figure 18 : Résultats du test urée indole des deux souches CH et S20.....	49
Figure 19 : Réactions de RM et VP	50
Figure 20 : Test ADH des deux souches CH et S20	50

Figure 21 : Test gélatine des deux souches CH et S20	51
Figure 22 : Production d'HCN de la souche bactérienne S20	54
Figure 23 : Production d'HCN par la souche bactérienne CH.....	55
Figure 24 : Activité antagoniste des isolats fongique en confrontation directe avec les souches bactériennes sur le milieu PDA, par la méthode spots et traits	57
Figure 25 : Activité antagoniste des isolats fongique en confrontation directe avec les souches bactériennes sur le milieu King B, par la méthode spots et traits	58
Figure 26 : Taux d'inhibition de la confrontation directe des souches FOA/S20 et FOL/CH avec les deux méthodes spots et traits, sur les milieux PDA.....	60
Figure 27 : Taux d'inhibition de la confrontation directe des souches FOA/S20 et FOL/CH avec les deux méthodes spots et traits, sur les milieux King B	60
Figure 28 : Activité antagoniste des isolats fongiques en confrontation indirecte avec les souches bactériennes	61
Figure 29 : Taux d'inhibition de la confrontation indirecte des souches bactériennes (S20 et CH) avec les deux isolats fongiques (FOA et FOL)	63

Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques maladie transmises par le sol contre les quelles l'utilisation de Pseudomonas Fluorescents a déjà envisage (cahier agricultures 1993).....	16
Tableau 02 : Symptômes vasculaires et induits causé par <i>Fusarium oxysporum f.sp.Lycopersici</i> . I N R A -France-(Santé et Agroécologie du Vignoble).....	23
Tableau 03 : Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches B1 et B2 (CH et S20).....	52
Tableau 04 : Production de sidérophores par les bactéries S20 ; CH.....	53
Tableau 05 : Production d'HCN des souches bactériennes S20 et CH.....	55
Tableau 06 : Taux d'inhibition (%) de la confrontation directe sur les milieux PDA et King B, des souches F1B1 et F2B2.....	59
Tableau 07 : Taux d'inhibition (%) des isolats fongiques FOA et FOL parles deux souches bactériennes (confrontation indirecte).....	62

Sommaire :

Remerciement

Dédicaces

Liste d'abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre I: La lutte biologique

1. Historique et actualité 3

1.1. Dans le monde 3

1.2. En Algérie 3

2. Définition 4

3. Les agents de la lutte biologique (Biopesticides) 4

3.1. Définition 4

3.2. Les catégories de biopesticides 5

4. Les avantages de la lutte biologique 6

Chapitre II : Les Pseudomonas spp. Fluorescents

1. Généralités sur les Pseudomonas 7

2. Effets bénéfiques des Pseudomonas spp. Fluorescents 8

2.1. Effets direct 10

2.1.1. Stimulation de la croissance 10

2.1.2. Induire la résistance des plantes 10

2.2. Effets indirect 11

2.2.1. Concurrence pour l'espace et les nutriments.....	11
2.2.2. Antibiose	12
2.2.3. Modifications de l'équilibre microbien	12
3. Mécanismes d'actions	12
3.1. Production d'antibiotiques	12
3.2. Les sidérophores.....	13
3.3. Production de l'acide cyanhydrique (HCN).....	13
3.4. Production d'acide indole-acétique (AIA)	14
3.5. Solubilisation du phosphore	14
4. Les Pseudomonas spp. Fluorescents dans la lutte biologique.....	15

Chapitre III : Les fusarioses vasculaires

1. La Fusariose vasculaire de la tomate (fletrissure fusarienne de la tomate ou tomato Fusarium wilt).	
1.1. Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici (FOL)	17
1.1.1. Généralité	17
1.1.2. Identification	19
1.1.3. Cycle de vie.....	20
1.1.4. Symptômes et dogats du Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici	21
1.1.5. Importance économique de la maladie.....	24
2. Fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud).....	25
2.1. Généralité	25
2.2. Cycle de vie.....	26
2.3. symptômes.....	28
2.4. Importance économique de la maladie.....	29
3. Les moyens de lutte contre les maladies fusariennes.....	30
3.1. Lutte culturale	30
3.2. Lutte physique	30

3.3.Lutte chimique.....	31
3.4.Lutte intégré	31
3.5.Lutte génétique.....	31
3.6.Lutte biologique	31

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1-Matériel biologique.....	34
1.1.Les souches bactériennes	34
1.2.Les isolats fongiques	34
2.Caractérisation morphologique des souches bactériennes	35
2.1.Caractérisation macroscopique des colonies.....	35
2.2.Caractérisation microscopique des souches bactériennes	35
3.Caractérisations biochimique des souches bactériennes	36
4.Production de métabolites secondaires	40
4.1.Production de sidérophores	40
4.2.Production d'acide cyanhydrique.....	40
5.Antagonisme microbien in vitro.....	41
5.1.Confrontation directe.....	41
5.1.1.Méthode des spots	41
5.1.2.Méthode des traits	42
5.2.Confrontation indirect	43

Résultats et discussions

1.Caractères morphologiques des souches bactériennes	44
1.1.Aspect macroscopique.....	44
1.2.Aspect microscopique	45
2.Caractères morphologique des isolats fongiques	45

2.1.L'aspect macroscopique des isolats fongiques.....	46
2.2.L'aspect microscopique des isolats fongiques	47
3.Caractérisations biochimique et physiologiques des souches bactériennes	48
4.Production de métabolites secondaires	53
4.1.Production de sidérophores	53
4.2.Production de l'acide cyanhydrique (HCN).....	54
5.Antagonisme microbien in vitro.....	56
5.1.Confrontation directe.....	56
5.2.Confrontation indirecte	61
6.Interprétation	63
Conclusion	67

Références bibliographiques

Les annexes



Introduction

Dans le sol, les champignons phytopathogènes constituent la première barrière biotique pouvant affecter le rendement agricole. Ils sont capables de s'adapter très rapidement à des modifications de leur environnement comme par exemple développer des résistances à la plupart des pesticides récents (**Ashraf et al., 2012 ; Choudhary et Varma, 2016**).

Parmi les microorganismes pathogènes qui causent d'importants dommages lors de la production de végétaux, les champignons tels que *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Gaeumannomyces graminis* ainsi que l'oomycète *Phytophthora capsici* (**Allaire, 2005**).


L'utilisation des pesticides chimiques offre généralement une protection efficace contre les maladies fongiques des cultures. Leur efficacité est relativement peu durable à cause de l'adaptation rapide de ces populations pathogènes, la pollution et la contamination des aliments et de l'environnement qui soulève une grave préoccupation. Pour cela, la lutte biologique semble être une alternative fiable qui peut fournir une sécurité écologique et une protection à long terme à la culture (**Kumar et al., 2016**).

Le contrôle biologique des maladies telluriques par l'introduction de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère, les PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), est proposé comme une alternative pour remplacer ou compléter l'utilisation des produits chimiques de synthèse. Ces microorganismes bénéfiques se manifestent par une grande variété, dissémination facile, spécificité d'action ainsi qu'une persistance dans l'environnement (**Kouassi, 2001**). L'antagonisme microbien est un mécanisme par lequel les rhizobactéries protègent les plantes contre les microorganismes pathogènes (**Adhikari et al, 2013**).

Les rhizobactéries du groupe *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont été largement utilisées dans le biocontrôle des pathologies végétales d'origine tellurique vis-à-vis des *Fusarium oxysporum*. Plusieurs souches de ce groupe bactérien ont été expérimentées avec succès contre de nombreuses formes spéciales de ce pathogène (**Benchabane et al., 2011**). Ces souches bactériennes sont les plus prédominantes grâce à leur capacité de suppression des pathogènes et la réduction de l'incidence des maladies par plusieurs mécanismes : la compétition, l'antibiose ou le parasitisme. Ainsi que leur capacité à sécréter des substances antimicrobiennes ayant soit une activité antibactérienne soit une activité antifongique (sidérophores, le cyanure d'hydrogène (HCN) et les composés volatiles). En plus d'améliorer la santé des plantes, ils jouent divers rôles dans le sol et impactent la structure des

communautés microbiennes ainsi que le développement des plantes (**Bloemberg et Lugtenberg, 2001**).

Notre travail consiste à mettre en évidence les potentialités de deux souches bactériennes **S₂₀** et **CH** de *Pseudomonas* spp fluorescents dans la production de métabolites secondaires à effet d'antibiose sur les agents pathogènes principalement les sidérophores et l'acide cyanhydrique. L'objectif de notre étude est l'évaluation in vitro des activités antagonistes de deux souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents vis -à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent de la fusariose vasculaire de la tomate et vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier.



*Partie
bibliographique*

La lutte biologique est un ensemble de procédés exploitant la relation de concurrence ou d'antagonisme existante entre les êtres vivants, y compris les champignons, en vue de minimiser ou de limiter les dommages ainsi que l'abondance des agents phytopathogènes sans nécessairement les détruire par la suite (**Alabouvette, 1986**).

La lutte biologique est une solution qui a été proposées afin de rendre l'agriculture moderne plus propre, et moins dangereuse, et réduire ou/et annuler l'impact négatif sur les cultures, sans l'utilisation des pesticides.

1. Définition :

Le terme "lutte biologique" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures (Nordlund, 1996).

Le même auteur signale qu'il existe de nombreuses définitions de la lutte biologique mais nous nous en tiendrons à une définition générale, telle que celle proposée par Van Drische et Bellows « La lutte biologique est un processus agissant au niveau des populations et par lequel la densité de la population d'une espèce est abaissée par l'effet d'une autre espèce qui agit par prédation, parasitisme, pathogénicité ou la compétition ».

Elle est donc l'utilisation d'organismes vivants dans le but de limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures « rongeurs, insectes, nématodes, maladies des plantes et mauvaises herbes » (**Philippe et al, 2013 ; Jeunot, 2005**), elle permet le maintien de la biodiversité des biotopes, et elle diminue les risques de pollution grâce à la dégradation rapide des biopesticides.

2. Historique et actualité :

2.1. Dans le monde :

La lutte biologique ne date pas d'hier, sa première utilisation a été effectuée dans les vergers chinois, aux environs de l'an 400 avant Jésus-Christ. Les fermiers utilisaient alors des fourmis tisserandes pour lutter contre les ravageurs des fruits. Depuis, d'autres utilisations ont été effectuées avec succès (**Lambert, 2010**). En 1762 dans l'île Maurice, des oiseaux sont importés pour lutter efficacement contre des sauterelles (**Resche- Rigon, 2008**). En 1840, le français Boisgiraud est le premier à tester la lutte biologique en plein champ : il a utilisé des coléoptères comme les carabiques et les staphylins pour en faire des lâchers en vue de limiter les pullulations du bombyx disparate (ou spongieuse), puis pour combattre l'invasion du phylloxera de la vigne. Ces techniques très empiriques, ont été utilisées partout dans le monde

de manière assez limitée jusqu'à la fin du XIXème siècle (**Lydie Suty, 2010**) Un pionnier, Charles Valentine Riley, a donné ses lettres de noblesse à la lutte biologique moderne (**Suty, 2010**). Des succès importants ont donc été constatés, mais aussi beaucoup d'échecs à l'arrivée du DDT en 1939, la lutte biologique a été boudée au profit de la lutte chimique. Depuis 1955 suite à la prise de conscience des problèmes liés à l'utilisation des produits chimiques (résistances et résidus) on se mit à penser à une mise en œuvre de techniques de protection des cultures associant différents moyens, dont la lutte biologique (**Resche- Rigon, 2008**).

2.2. En Algérie :

C'est en 1922 que les premières tentatives d'acclimatation et d'utilisation d'auxiliaires ont été faites en Algérie notamment avec des coccinelles *Novius (Rodolia) cardinalis* pour lutter contre la cochenille australienne *Icerya purchasi*. En effet, cette cochenille introduite à Boufarik en provenance de la côte d'Azur faisait d'énormes dégâts sur agrumes. En 1925, une autre coccinelle *Pharoscyrnus ancharago* et un coléoptère Nitidulidae *Cybocephalus seminulum* ont été ramenés d'El Goléa vers Béchar pour lutter contre la cochenille blanche du palmier-dattier. Ce n'est que plusieurs années plus tard, que des essais de lutte biologique ont été entrepris contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) par l'utilisation de l'ooparasitoïde ou parasitoïde embryonnaire *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) dans des vergers de Citrus en Mitidja en 1983 et dans des palmeraies de Ouargla en 1986 (**DOUMANDJI et al., 2014**).

3. Les agents de la lutte biologique (Biopesticides) :

3.1. Définition :

Les biopesticides ou agents de lutte biologique peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés.

Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de microorganismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux, phéromones, etc. (**Thakore, 2006**).

Ils peuvent être classés en trois grandes catégories, selon leur nature : les biopesticides végétaux, les biopesticides animaux et les biopesticides microbiens (**Leong et al., 1986**).

3.2. Les catégories de biopesticides :

- **Biopesticides végétaux:**

Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des insectes. Le biopesticide d'origine végétale le plus utilisé est l'huile de neem, un insecticide extrait des graines d'*Azadirachta indica* (Schmutterer, 1990).

- **Biopesticides animaux:**

Les biopesticides d'origine animale sont des prédateurs, des parasites, ou des molécules dérivées d'animaux, souvent d'invertébrés comme les venins d'araignées, des scorpions, des hormones d'insectes, des phéromones (Thakore, 2006). Par exemple, les coccinelles (insecte auxiliaire le plus connu) ou les acariens qui utilisent la prédation pour se nourrir de certains insectes ravageurs des plantes (Grewal et al., 2003).

- **Biopesticides microbiens:**

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

Certains biopesticides microbiens présentent des bénéfices supplémentaires à leur rôle de protection. La bactérie Bt par exemple en raison de la rapidité de son mode d'action, de la parfaite maîtrise de sa production industrielle, de la diversité des souches permettant l'élargissement de son spectre d'activité, et de la rareté des cas de résistance, même après une application intensive et répétée. De nombreux autres biopesticides commercialisés dans le monde correspondent à des micro-organismes utilisés contre des maladies de plantes : des bactéries (une vingtaine de préparations commerciales), comme *Agrobacterium radiobacter* ou *Pseudomonas*, agissent par antagonisme microbien ; des champignons (une vingtaine de préparations également), comme *Ampelomyces quisqualis*, *Fusarium oxysporum* ou *Trichoderma harzianum*, sont utilisés dans la lutte contre les phytopathogènes. (Guy RIBA et al.).

Parmi les nombreuses espèces de bactéries, environ une centaine d'espèces sont considérées comme pathogènes pour les cultures, d'autres espèces sont considérées comme

bénéfiques soit pour leur activité fongicide, nématocide ou insecticide ou encore pour leur activité symbiotique stimulant la croissance des plantes ou leur activité antagoniste, particulièrement dans les sols, et sont généralement considérées comme des biopesticides. Ces bactéries entomopathogènes appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les *Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonaceae* (Greathead et al., 1994). Il existe d'autres bactéries qui appartiennent à la même famille comme les *Vibrionaceae*, *Aeromonadaceae*, *Clostridiaceae*, *Spirillaceae*.....

4. Les avantages de la lutte biologique :

Selon Lefort (2010) la lutte biologique présente de nombreux avantages des points de vue environnementaux, sociaux et économiques. La lutte biologique est :

- Efficace.
- Permet de restreindre ou d'éliminer l'utilisation des pesticides chimiques.
- Moins toxique que les pesticides chimiques.
- Elle est utilisable en serre.
- Permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques
- Plus grande spécificité d'action.
- Faible coût de développement.
- Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricole.
- Pas de délai de traitement avant la récolte.
- Non contamination des produits (pas de résidus chimiques).
- Dégradation rapide des biopesticides diminuant aussi les risques de pollution.

Dans le sol, l'activité microbienne est très élevée, en particulier la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol.

Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes (**Gray et Smith, 2005**).

Ces bactéries de la rhizosphère sont alors généraliser sous le terme *PGPR* (*Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*). Les *PGPR* sont caractérisés par une capacité d'adaptation physiologique et métabolique polyvalente (**Sturz et Christie, 2003**), formant un groupe hétérogène de bactéries bénéfiques de la rhizosphère (**Soltani, 2010**).

Les genres connus comme *PGPR* sont *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* (**Fernando et al., 2005**), *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (**Coballero Mellado et al., 2004**), *Serratia* (**Liu et al., 1995**).

1. Généralités sur les *Pseudomonas* :

Les *Pseudomonas* sont parmi les bactéries les plus importantes dans la rhizosphère. Le genre *Pseudomonas* a été décrit en 1894 (Migula, 1894), est le groupe le plus hétérogène écologiquement significatif de bactéries connues. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents appartiennent à la classe des *Gamma proteobacteria*, famille des *Pseudomonaceae*, ordre des *Pseudomonales* (**Moor et al. 2006**).

Le genre de *Pseudomonas* se retrouve dans des habitats naturels comme le sol, l'eau douce, les eaux marines etc., mais il a également été isolé des instruments cliniques, des solutions aseptiques, des cosmétiques et produits médicaux (**Franzetti et Scarpellini, 2007**).

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou légèrement incurvés, de 0,5 à 1,0 µm de diamètre sur 1,5 à 5,0 µm (ou plus) de longueur, non sporulés. Ces bactéries sont généralement mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires (**Garrity, 2005**). La culture de ces bactérie est facile avec ou sans production de pigments sur des milieux minéraux synthétiques avec une source simple de carbone.

D'un point de vue taxonomique les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont très complexes (**Stanier et al, 1966**). Le genre comprend les espèces *P. aeruginosa* , *P. aureofaciens* , *P. chlororaphis* , *P. fluorescens* , *P. putida* , et plus récemment *P. protegens* ainsi que des

espèces phytopathogènes telles que *P. cichorii* et *P. syringae* (María Lis Yanes, 2016). Ces espèces bactériennes sont principalement des microorganismes saprophytes d'origine essentiellement telluriques et aquatiques (Alquati et al, 2002).

Au sein de ce groupe, les espèces saprophytes à cytochrome oxydase positive telles que *P.chlororaphis*, *P.fluorescens* et *P.putida* se rencontrent à une densité élevée dans des biotopes assez viables (Schroth et al., 1992). Les espèces *P.fluorescens* *P.putida* sont prédominantes et peuvent constituer plus de 60% de la microflore bactérienne (Digat et Gardan, 1987).

Les *Pseudomonas* spp. *fluorescents* forment un groupe diversifié de bactéries qui peuvent généralement être distinguées visuellement des autres *Pseudomonas* par leur aptitude à produire de pigments jaune vert solubles dans l'eau qui sont les pyoverdines (sidérophore) produites dans des milieux pauvres en fer (Palleroni et Migula., 1984).

Ces bactéries ont la capacité de dégrader des composés complexes tels que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, et la cellulose (Palleroni et Mulagi, 1984). De nombreux isolats de *Pseudomonas* fluorescents et *Pseudomonas putida* ont été cités comme souches capable de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes (Campbell et al., 1995; Latour et al., 1996). Elles ont une grande capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable. Cette grande rhizocompétence vient de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres bactéries ; et de leur capacité à utiliser une gamme de substrats très large, souvent issus des exsudats racinaires, comme source d'azote ou de carbone (Haas et Keel, 2003).

Actuellement les *Pseudomonas* spp fluorescents font parti des P.G.P.R (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), possèdent des propriétés prometteuses dont les actions de biocontrôle des maladies des plantes causées par des agents pathogène (Wang et al., 2012).

2. Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. fluorescents :

Les *Pseudomonas* spp *fluorescents* ont une présence bactérienne importante dans le sol. Elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique, elles sont responsable de la suppression des maladies fongiques dans les cultures (Haas et Keel, 2003) et stimulent la croissance des plantes comme le riz, le blé (Weller et Cook, 1983), la pomme de terre

(Kloepper et al., 1980), la canne à sucre (Suslow et Schroth, 1982), le coton (Howell et Stipanovic, 1980).

Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer les effets bénéfiques de *Pseudomonas* fluorescents. Ces bactéries se fixent d'abord sur les racines et sont donc distribuées passivement. Elles se multiplient alors et colonisent activement la rhizosphère (Lemanceau, 1992).

Les effets bénéfiques des *rhizobactéries* sur les plantes sont divisés en deux catégories (Van der Heijden et al., 2009) : les effets directs via les micro-organismes associés aux racines qui établissent une relation réciproque avec les plantes et les effets indirects via les effets des micro-organismes libres dans les plantes. (Figure.01)

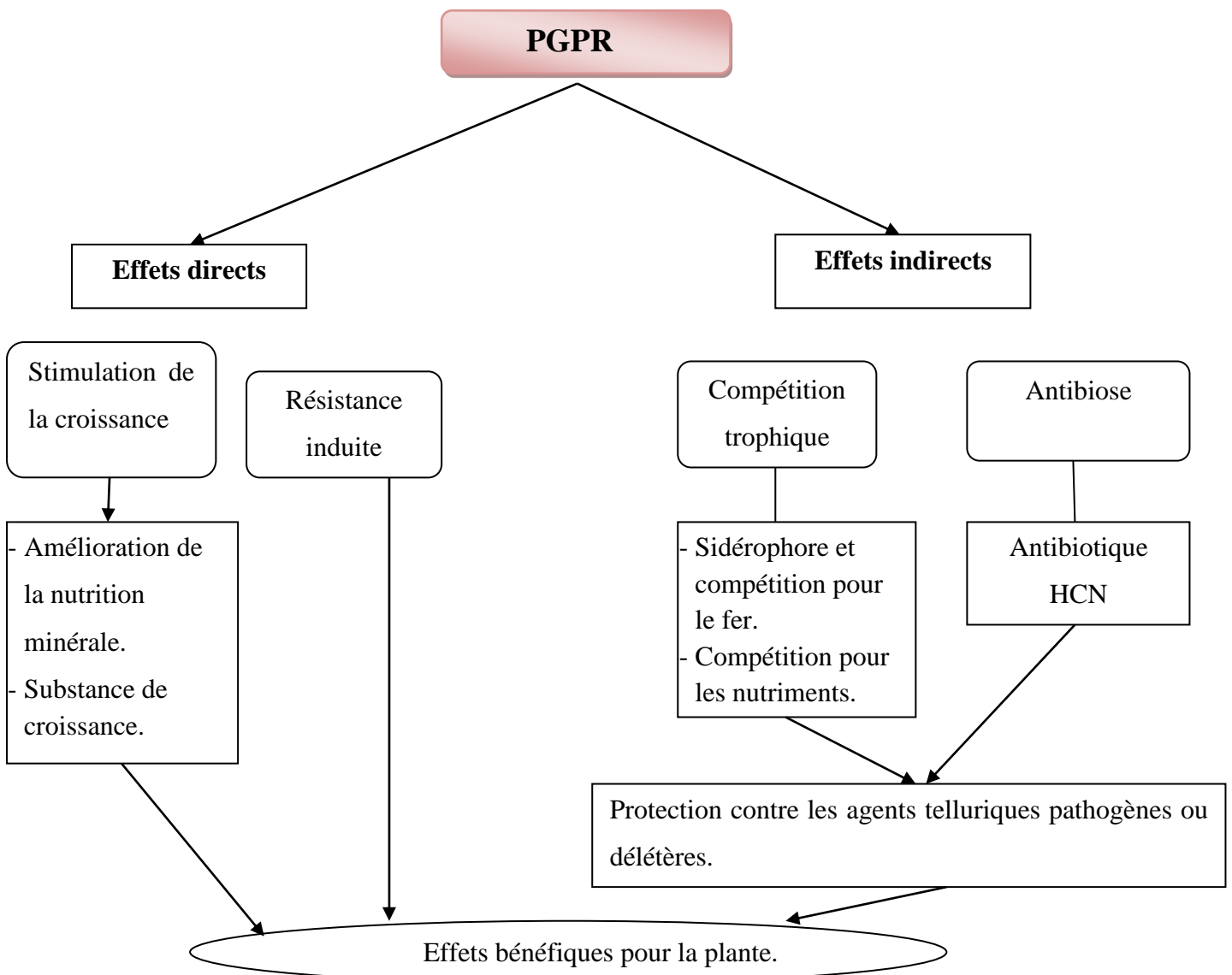


Figure 01 : Schéma des principaux mécanismes d'action des PGPR (Mattar, 1993).

2.1. Effets direct :

2.1.1. Stimulation de la croissance :

Les *Pseudomonas fluorescents* stimulent et améliorent la germination des graines et l'émergence des plantes, en particulier dans des conditions environnementales défavorables. (Compant et al., 2005 ; Haas et Déffago, 2005). Chez certaines espèces végétales, notamment herbacées, après leur bactérisation, le taux d'émergence est augmenté (Digat et al., 1990 ; Matiru et Dakora, 2004 ; Sharma et al., 2007 ; Wang et al., 2012). Ainsi, Biswas et al (2000) ont montré que l'inoculation avec certaines souches bactériennes peut augmenter significativement le taux de germination du colza semé dans un sol froid battu. Digat et al (1990) ont montré que certaines souches de *Pseudomonas* peuvent stimuler significativement la germination des graines de tomate, même si les conditions environnementales ne semblent pas favorables.

La stimulation de la croissance bactérienne des plantes peut être due à la synthèse microbienne de substances de croissance de type phytohormone (Persello-Cartieaux et al., 2003 ; Remans et al., 2007). Il existe cinq types de régulateurs de croissance des plantes : les auxines, Gibbérellines, cytokinines, éthylène et acide abscissique (Zahir et al., 2004). L'acide indole-3-acétique est la phytohormone la plus répandue dans allongement des racines et prolifération des poils absorbants (Spaepen et al., 2007).

2.1.2. Induire la résistance des plantes :

Les micro-organismes pathogènes sont connus pour leur capacité à induire des mécanismes de défense chez les plantes grâce à la résistance systémique acquise (SAR), qui peut protéger les plantes d'attaques ultérieures par d'autres agents pathogènes. Certaines bactéries peuvent également jouer un rôle protecteur en induisant une résistance systémique (ISR : Induction of Systemic Resistance) par l'activation des mécanismes de défense des plantes, leur permettant de mieux se protéger d'éventuelles attaques de pathogènes (Van Loon, 2007).

L'induction de la résistance systémique chez les plantes est un processus qui leur permet de stimuler leurs aptitudes et capacités à induire l'activation et l'amélioration des niveaux de résistance aux attaques biotiques et abiotiques. Les bactéries bénéfiques de la rhizosphère du genre *Pseudomonas fluorescens* peuvent induire ce type de réponse en synthétisant certains métabolites secondaires par des bactéries de la rhizosphère (Bakker et al., 2007).

De nombreuses études ont rapporté l'implication active des PGPR, en particulier *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, et *Pseudomonas aeruginosa*, dans la résistance systémique induite (RSI) chez diverses espèces végétales (**Bakker et al., 2007**). Pour **Andrés et al (2011)**, la résistance accrue des légumineuses à *Fusarium solani* était associée à leur teneur plus élevée en lignine suite à l'inoculation avec une souche de *Pseudomonas putida*.

D'autres travaux sur différents modèles de recherche ont mis en évidence que certaines souches de *Pseudomonas* produisent des plantes avec une plus grande résistance naturelle. La souche bactérienne CHAO provoque une augmentation des poils absorbants et une résistance naturelle à *Thielaviopsis basicola* dans les plants de tabac bactérisés (**Voisard et al, 1989**).

2.2. Effets indirect :

Kloepper et Schroth (1981) ont été les premiers à démontrer un effet bénéfique indirect des souches de *Pseudomonas fluorescens* sur la croissance des plantes. En effet, ces effets bénéfiques des rhizobiums sont liés à la localisation stratégique des racines à l'interface sol.

2.2.1. Concurrence pour l'espace et les nutriments :

Les interactions microbiennes sont déterminées par la nature et l'intensité de la compétition entre microorganismes (**Lepoivre, 2003**). Cette compétition peut concerner l'espace et les nutriments.

La compétition entre nutriments se produit lorsque plusieurs micro-organismes consomment simultanément le même composé. Dans certains cas, les bactéries nodulaires racinaires à croissance rapide (PGPR) peuvent éliminer les agents pathogènes fongiques en rivalisant pour les sources de carbone et d'énergie (**Kamilova et al., 2009**).

Les sidérophores des bactéries de la rhizosphère peuvent affecter directement l'apport en fer des plantes, les rendant indisponibles pour les agents pathogènes (**O'sullivan et O'gara, 1992**). Ils agissent également comme chélateurs pour les métaux de la rhizosphère moins assimilables par les plantes, comme le Zn et le Pb (**Lemanceau et al., 1988**). De nombreuses espèces végétales peuvent assimiler le complexe sidérophore bactérien Fe³⁺ (**Loper, 1988; Bitter et al., 1991**).

2.2.2. Antibiose :

Les antibiotiques, mécanisme d'action des agents bioprotecteurs le plus étudié, consistent à inhiber directement la croissance des pathogènes par la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (**Défago, 1993, Haas et Defago, 2005**).

Les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de puissants métabolites antifongiques qui sont impliqués dans la lutte biologique tels que acide cyanhydrique (HCN), biscosamide, pyortéoline, 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), pyrrolnitrine, phénazine, butyrolactone, tensine, tropolone (**Defago, 1993 ; Haas et Defago 2005**).

Certaines souches de PGPR ont la capacité de dégrader les parois cellulaires fongiques en produisant des enzymes hydrolytiques telles que la β -1,3-glucanase, l'exo- et l'endo-polygalacturonase, la pectinolyase, la cellulase et la chitinase (**Whippes et Lumsden, 2001**).

2.2.3. Modifications de l'équilibre microbien :

La microflore rhizosphérique est naturellement constituée d'un assemblage complexe de microorganismes procaryotes et eucaryotes, dont la croissance, la santé des plantes et leur diversité sont influencées par la diversité des populations des microorganismes présents dans la **rhizosphère** (**Lemanceau, 1992; Whipps, 2001 ; Weller et al., 2002 ; Van der Heijden et al., 2008**).

Parmi cette microflore les *Pseudomonas* fluorescents qui ont une grande compétence rhizosphérique, qui est défini par la capacité d'une souche à se distribuer le long des racines de la plante hôte, à se multiplier et à survivre pendant plusieurs semaines (**Weller ., 1988**).

3. Mécanismes d'actions :

Les *Pseudomonas*. Spp Fluorescences produisent une gamme importante de métabolites secondaires, qui sont toxiques aux pathogènes du sol, dont les antibiotiques, les siderophores, et diverses substances qui ont des activités inhibitrices de la croissance des pathogènes.

3.1. Production d'antibiotiques :

Les antibiotiques produits par les différents *PGPR* possèdent un large spectre d'activité. Ils jouent un rôle majeur dans la suppression des agents pathogènes bactériens. Le groupe de bactéries rhizosphériques le plus étudié en ce qui concerne la production d'antibiotiques est

celui des *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Ce dernier est responsable de la production du premier antibiotique impliqué dans le biocontrôle. En plus d'autres antibiotiques sont produits par les *rhizobacteries* du genre *pseudomonas* : 2,4 diacéthylyphoroglucinol (DAPG), Pyolutéorine (PLT), les Pyrrolnitrine (PRN) etc. (Allaire, 2005). La pyrrolnitrine (3-chloro - 4-(2'- nitro-3'- chlorophenyl)-pyrrole) est un antibiotique qui inhibe la croissance des champignons en bloquant le système respiratoire (Arima et al., 2002). En outre, la production de cet antibiotique par *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus cepacia* est impliquée dans le contrôle de certains agents pathogènes de plantes comme *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* et *Fusarium oxysporum* (Allaire, 2005).

3.2. Les sidérophores :

Les sidérophores sont des molécules extracellulaires de faible poids moléculaire considérées comme des métabolites essentiels pour la régulation du fer (Fallahzadeh-Mamaghani et al., 2009). Ces molécules sont des transporteurs des ions ferriques à l'intérieur des cellules microbiennes.

Les Pyoverdines sont des sidérophores complexes, produites par les *Pseudomonas fluorescens* (Ravel et Cornelis, 2003 ; Cornelis, 2010) ; elles sont composées par un chromophore dihydroxyquinoline fluorescent associé à un peptide de longueur et de composition variables. D'autres sidérophores Ferrichrome, *Ferroxamine* B, Pseudobactine, Pyochéline. Leur mode d'action est lié à la compétition pour le fer, en carence de fer les antagonistes produisent les sidérophores qui réduisent la germination des chlamydo-spores du pathogène *Fusarium* dans le sol. La capacité de produire des sidérophores est une propriété PGPR et est aussi considérée comme une propriété de biocontrôle, car la chélation du fer permet de restreindre la quantité disponible aux pathogènes (Trapet, 2015 ; Subramaniam, et Sundaram, 2020).

3.3. Production de l'acide cyanhydrique (HCN) :

Les cyanides sont des métabolites secondaires secrétés par plusieurs micro-organismes, produits directement à partir de la glycine ou à partir des glycosides cyanogènes. Ce sont des substances volatiles inhibitrices, l'action bénéfique de ces composés est liée à la lutte biologique, soit par induction des mécanismes de défense des plantes ou par antagonisme direct avec l'agent pathogène (Bakker et Schippers, 1987).

La production du cyanure d'hydrogène (HCN), été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas fluorescens* (Askeland et Moeisson, 1983). La stimulation de cette production a amélioré l'efficacité des bactéries à réduire la gravité de la maladie (Abbas-Zadeh et al., 2009).

3.4. Production d'acide indole-acétique (AIA) :

L'acide indole acétique (AIA) est une auxine primaire active dans la majorité des plantes, elle fonctionne comme une molécule-signal importante dans la régulation du développement des plantes (Spaenpen et al., 2007). Cette phytohormone est impliquée dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines et de leurs élargissements. Elle ressemble beaucoup à un acide aminé (Salisbury, 1994).

L'AIA est synthétisé à partir de l'indole et certains indices montrent que les plantes peuvent le produire directement à partir du tryptophane (Raven et al., 2007) et les exsudats des racines sont les ressources principales de tryptophane dans le sol (Spaenpen et al., 2007).

Les bactéries utilisent cette phytohormone pour établir des interactions avec les plantes dans le cadre de leur stratégie de colonisation notamment la phytostimulation et l'intervention dans les mécanismes de base de défense des plantes (Ryan et al., 2008).

3.5. Solubilisation du phosphore :

Le phosphore est le cinquième élément composant de la matière vivante. C'est un élément qu'on trouve dans le sol, les plantes et les micro-organismes (Plassard et al., 2015). Dans le sol il est présent sous deux formes ; sous forme organique (esters phosphoriques) et inorganique (composés minéraux insolubles) (Alexander, 1977).

La solubilisation des phosphates est la capacité des microorganismes de convertir le phosphate insoluble à une forme accessible. Ce processus permet de réduire l'utilisation d'engrais phosphatés (Chaiharn et Lumyong, 2009).

Ces microorganismes augmentent la disponibilité du phosphore pour les plantes soit par minéralisation des phosphates organiques à l'action des phosphatases (Abd-Allah, 1994 ; Halder et Chakrabartty, 1993), ou bien par la dissolution des phosphates inorganiques par l'action des acides organiques (Abd-Allah, 1994 ; Halder et Chakrabartty, 1993; Richardson, 1994).

Les bactéries rhizosphériques solubilisant le phosphate pourraient donc constituer une source prometteuse comme agent biofertilisant dans l'agriculture (**Sharma et al., 2007**).

4. Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents dans la lutte biologique :

La réussite de la lutte biologique nécessite l'application d'un agent de biocontrôle efficace. L'efficacité est notamment liée à l'utilisation de plusieurs modes d'action et à la capacité de l'agent de lutte biologique à coloniser et à s'installer dans le milieu rhizosphérique des plantes (**Singh et al., 2003**).

La plupart des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Agrobacterium*, *Bacillus* et *Pseudomonas* (**Haas et Defago, 2005**). Ils ont la capacité de produire de nombreux antibiotiques, et ils sont faciles à cultiver in vitro ou à manipuler en laboratoire.

Différentes espèces de *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont été rapportées à la fois comme *PGPR* (*Plant Growth Promoting Rhizobactéria*) et comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (**de Salmone et al., 2001**).

Les *Pseudomonas* Fluorescents produisent un grand nombre de métabolites secondaires qui pourraient jouer un rôle dans l'effet antagoniste de ces microorganismes dans le sol. Ces agents inhibiteurs peuvent être scindés en quatre groupes : les antibiotiques, les siderophores, les enzymes et acide cyanhydrique (HCN) (**Leisinger T, Margraff R, 1979**).

Les *Pseudomonas* décrits comme des bactéries phytoprotectrices jouant un rôle prépondérant dans le biocontrôle de la rhizosphère (**Walsh, 2001**). Egalement, l'application potentielle des *Pseudomonas* dans la bioremediation en raison de leurs possibilités bien connues pour dégrader les composés xénobiotiques, particulièrement les produits organiques halogènes, utilisés comme herbicides, dissolvants et des décapants (**biotechnologie, 1993**).
(Tableau 01)

Tableau 01 : Quelques maladies transmises par le sol contre lesquelles l'utilisation de *Pseudomonas Fluorescents* a déjà été envisagée. (Cahier agricultures 1993).

Maladies	Agents phytopathogenes	Cultures
- Fonte des semis	<i>Pythium ultimum</i> <i>Rhizoctonia solani.</i>	Concombre, blé, pois chiche.....
Verticilliose pourriture des tubercules	<i>Verticillium dahliae.</i>	Pomme de terre
Pourriture des racines	<i>Erwinia carotovora</i>	Pomme de terre
- Fusarioses des racines et du collet.	<i>Fusarium oxysporum radicis</i> <i>Lycopersici.</i>	Tomate.
- Fusariose des feuilles et tiges.	<i>Fusarium oxysporum f sp.</i> <i>lycopersici.</i>	Tomate
- Piétin échaudage	<i>Gaenmannomyces graminis</i>	Céréales, gazon
- Fusarioses vasculaires	<i>Fusarium oxysporum</i>	Lin, concombre, radis,....
- Galle du collet	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Arbres fruitiers, vigne

Les fusarioses sont des maladies fongiques courantes des végétaux. Elles sont causées par certains champignons décomposeurs couramment présents dans le sol, du genre *Fusarium* (deutéromycète) mais ayant dans ces cas un développement parasitaire.

Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par **Link en 1809 (in Booth, 1985)**. Il est économiquement très important car il regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes susceptibles d'attaquer un grand nombre de plantes.

Fusarium oxysporum est certainement l'espèce de *Fusarium* la plus répandue dans la nature. Il est présent dans les sols du monde entier où il se comporte soit en parasite, soit en saprophyte. Il a de nombreuses formes spécialisées qui s'attaquent à une seule culture (**Champion, 1997**). Plusieurs espèces de la fusariose vasculaire, dont *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* qui est l'agent de la fusariose vasculaire de la tomate, et *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* est l'agent de la fusariose vasculaire du palmier dattier.

1. La Fusariose vasculaire de la tomate (fletrissure fusarienne de la tomate ou tomato Fusarium wilt) :

La tomate appartient au genre *Lycopersicum* de la famille des Solanacées. Elle est le deuxième légume le plus répandu mondialement après la pomme de terre. La culture de la tomate est un produit très important dans le secteur économique vu son revenu et son importance nutritionnelle, on peut la trouver dans les champs extérieurs, les maisons en filets et sous serres. (**Arbaoui, 1984**).

En effet certaines souches de *F. oxysporum* dites pathogènes engendrent des fusarioses sur les plantes hôtes. Deux formes spéciales sont inféodées à la tomate : ***Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*** qui provoque des trachéomycoses, alors que ***Fusarium oxysporum f.sp radicis lycopersici*** engendre des nécroses racinaires.

1.1. Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici (FOL) :

1.1.1. Généralité :

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

L'existence de races physiologiques ou de spécialisation physiologique de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*, capables d'infecter et de provoquer le flétrissement de variétés de

tomates très résistantes à d'autres isolats du champignon connus pour leur pathogénie virulente aux variétés sensibles, a été mise en évidence (**Alexander et Tucker, 1945**).

Trois races ont été identifiées chez *F. oxysporum f. sp. lycopersici*. Ce sont des souches distinguées par leur virulence envers les cultivars de tomates qui contiennent des gènes de résistance. La race 1 a été initialement décrite en 1886, la race 2 a été signalée en 1945 dans l'Ohio et la race 3 a été observée en Australie en 1978 (**Kistler et al., 1998**).

Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici a été isolé à partir de la tomate, il n'affecte que cette plante, donc il constitue ce qu'on appelle « forme spéciale *lycopersici* ». **Agrios (Henni, 1998)** a établi la classification suivante :

Domaine :	Eukaryota
Règne :	Mycota
Division :	Deuteromycota
Classe :	Hyphomycota
Ordre :	Hyphale
Famille :	Tuberculariaceae
Genre:	<i>Fusarium</i>
Espèce:	<i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i>
Téléomorphe :	<i>Gibberella (Sacco.)</i>

Au niveau macroscopique, l'aspect cultural de *F. oxysporum f.sp. lycopersici* est celui des caractères culturels généraux caractérisant l'espèce *F. oxysporum*. Caractères sur CLA (Carnation Leaf-piece Agar), les macroconidies sont abondantes ; elles sont de taille petite à moyenne, falciformes, de 3 à 5-septa, avec une cellule apicale effilée et une cellule basale. Les microconidies sont produites à partir de monophialides et de polyphialides. Des conidies mésoides ou fusoïdes peuvent être formées. Les chlamydospores sont abondantes dans les cultures plus anciennes et assombrissent avec l'âge de la plante (**Leslie et Summerell, 2006**). Ainsi des caractères sur PDA (Potato Dextrose Agar), La colonie est caractérisée par un mycélium aérien très abondant et extrêmement dense, de couleur blanche immaculée, aussi bien en surface qu'au contact du milieu (**Tivoli, 1988**). Il se développe de manière dense et

rapide. Au début, la culture est blanche ou rouge pâle, mais avec l'âge, le pigment s'assombrit et des sporodochies oranges peuvent apparaître. (Leslie et Summerell, 2006)

1.1.2. Identification :

Les mycéliums (**Figure.02**) de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Sacc.) **Snyder et Hans (2003)** sont délicatement blancs à roses, souvent avec une teinte pourpre, et sont clairsemés à abondants. Le champignon produit trois types de spores: les microconidies (B), les macroconidies (C) et les chlamydospores (D).

Les microconidies sont portées sur des phialides simples apparaissant latéralement et sont abondantes. Les macroconidies, clairsemées à abondantes, sont portées sur des conidiophores ramifiés ou à la surface des sporodochies et sont à parois minces, ont une base pédicellée. Les chlamydospores, à la fois lisses et à parois rugueuses, sont abondantes et forment des terminaisons ou des intercalaires.

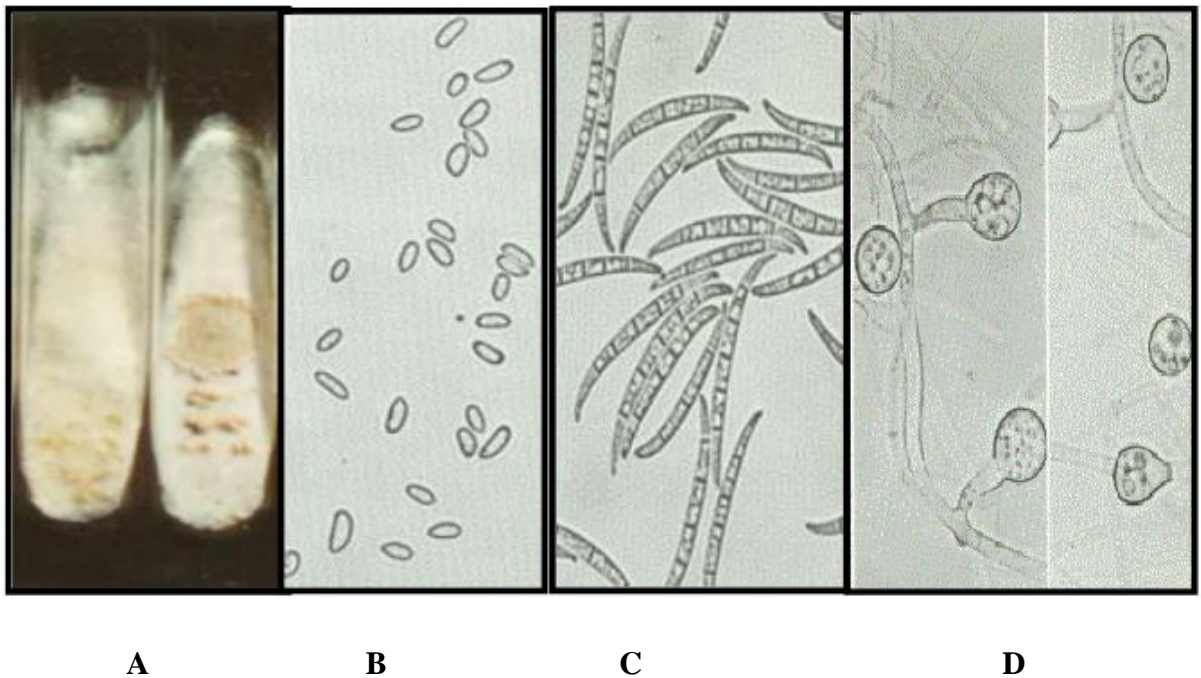


Figure 02 : Identification de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Toussoun et Nelson ,1976). Microconidies (B), les macroconidies (C) et les chlamydospores (D).

1.1.3. Cycle de vie :

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques. Les isollements effectués indiquent qu'un gramme de sol peut renfermer près de 100.000 propagules ou les *F. oxysporum* représentent 80 à 90 % de la population fusarienne totale de la rhizosphère (Correll et al , 1986).

Ces champignons persistent dans le sol principalement sous de spores de résistance (chlamydo-spores) en état de dormance (Booth ,1971). En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables le cycle se déroule comme suit (Figure.03) :

-Les chlamydo-spores germent et les jeunes filaments pénètrent les racines au niveau des blessures ou des ouvertures naturelles et après le mycélium se ramifie et colonise toutes les cellules avoisinantes (Smahi, 2008).

- Les hyphes mycéliens progressent à l'intérieur des puis colonisent le cortex, arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d' où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des macroconidies aisément véhiculées par la sève dans toutes les parties de la plante (El Mahjoub, 1979).

-A la surface des feuilles, se forment des organes fructifères appelés sporodochies qui produisent des macroconidies qui vont à leur tour contaminer d'autres plantes lorsqu'elles sont transportées par le vent, par l'eau ou bien par l'intermédiaire des insectes (El Mahjoub, 1979). 1979).

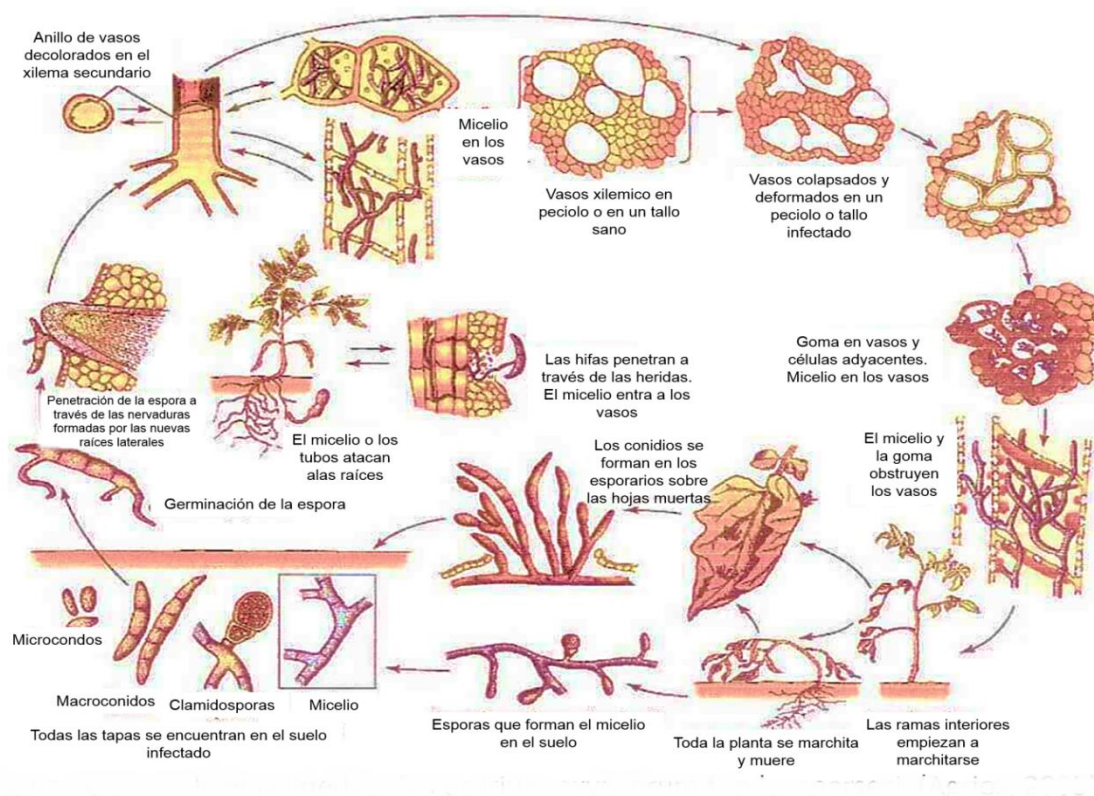


Figure 03 : Cycle général de la maladie flétrissement vasculaire causée par *F. oxysporum f.sp. lycopersici* chez la tomate (Agrios, 2005).

1.1.4. Symptômes et dégâts du *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* :

Les symptômes produits par *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* responsable de la fusariose vasculaire de la Tomate sont variables.

On peut observer des symptômes foliaires de flétrissement et de jaunissement, le brunissement des vaisseaux, et enfin la mort de la plante hôte (Messiaen, 1981). (Tableau 02)

a. Les symptômes externes :

- Les symptômes de flétrissement :

La maladie offre souvent une évolution très rapide. Brusquement les parties de limbe attaquées flétrissent de façon irréversible comme par manque d'eau c'est le flétrissement rapide.

Dans ce cas les feuilles sèches gardent leur chlorophylle ce qui leur donne aspect gris verdâtre (Laterrot et al., 1978).

-Les symptômes de jaunissement et nécrose :

Il apparaît successivement des éclaircissements de nervures puis des jaunissements suivis de nécrose d'une partie ou de la totalité du limbe. Les feuilles sont en général atteintes de bas en haut, le sommet de la plante pouvant rester vivant alors que les feuilles de base sont déjà mortes (Messiaen, 1981 ;Gindrat, 1975). Souvent, les feuilles ne commencent à jaunir que d'un côté de la tige, ou alors les jeunes feuilles d'un côté du pétiole, peuvent être atteintes. Très fréquemment aussi, il arrive qu'un seul rameau soit atteint avant que le reste de la plante ne présente des symptômes de la maladie. Au niveau de la tige, une dépression longitudinale large d'un centimètre environ part du collet puis remonte unilatéralement du côté correspondant à la racine malade. Les tissus à sa surface sont bruns. (Bouhot, 1972).

-Les symptômes annexes :

Outre le brunissement des vaisseaux, des pétioles et de la tige, d'autres symptômes annexes accompagnent le flétrissement et le jaunissement. L'épinastie qui se manifeste par l'inclinaison et courbure progressive vers le sol des pétioles et limbes des feuilles. Le ralentissement de la croissance de la plante et la formation de bourrelets adventifs sur la tige (Laterrot, 1978).

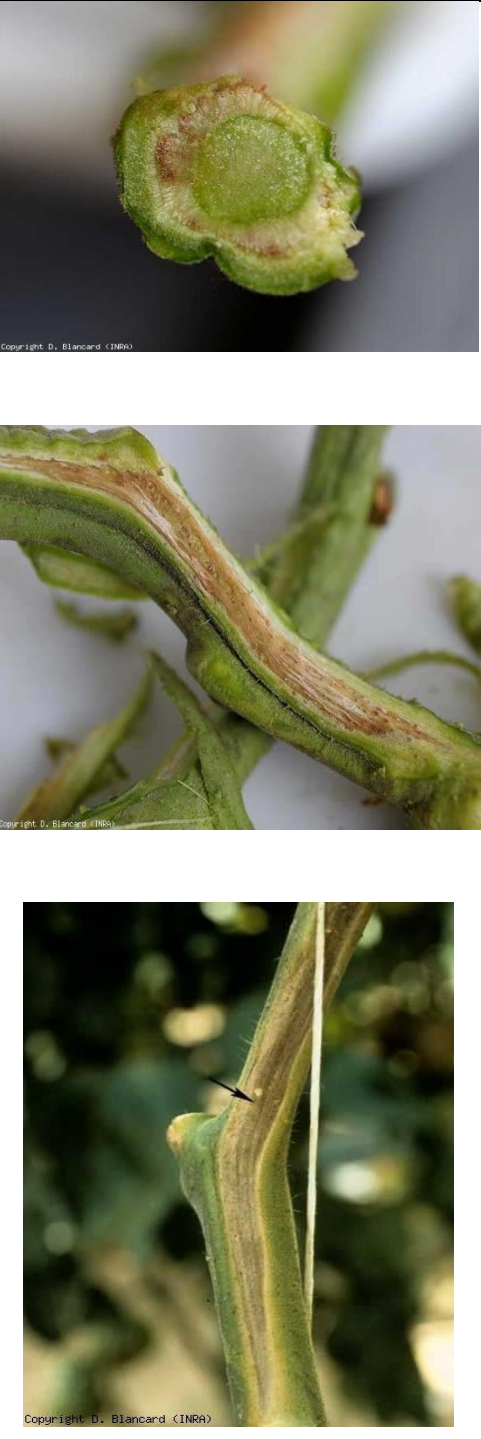
b. Les symptômes internes :

Une coupe longitudinale au niveau de la tige des plantes atteintes, présente dans la partie ligneuse et adjacente au cortex extérieur vert, une coloration brun sombre du tissu conducteur d'eau. Des coupes transversales laissent voir également des tissus bruns foncés contenant souvent des fragments du mycélium (Gindrat, 1975).

c. La mort de la plante :

Naturellement une plante de tomate attaquée par *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* après les premiers développements de la maladie, fini par se dessécher complètement aboutissant ainsi à la mort (Laterrot et al., 1978).

Tableau 02 : Symptômes vasculaires et induits causé par *Fusarium oxysporum f.sp.Lycopersici*. I N R A -France-(Santé et Agroécologie du Vignoble)

Flétrissure fusarienne	Symptômes
 <p>Copyright D. Blancard (INRA)</p> <p>Copyright D. Blancard (INRA)</p> <p>Copyright D. Blancard (INRA)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Une coupe transversale de la tige permet d'observer localement un brunissement plutôt marqué des vaisseaux. La moelle n'est pas affectée. <i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i> (fusariose, Fusarium wilt). - Une fois les tissus superficiels de la tige enlevés, les vaisseaux montrent une teinte marron à brune plus ou moins foncée. - Les tissus corticaux sont bien nécrosés et ont pris une teinte brunâtre. Ils sont légèrement déprimés et confèrent à la lésion longitudinale de la tige une apparence plutôt chancreuse.



- Par la suite, le jaunissement gagne plusieurs folioles situées sur un même côté de la feuille. Notons que plusieurs nervures sont encore vertes.
- La chlorose est maintenant manifeste, et son caractère unilatéral est typique d'une maladie vasculaire.

1.1.5. Importance économique de la maladie :

La tomate est un légume avec une grande valeur économique dans plusieurs pays, c'est pourquoi il est important de prévoir les maladies de cette culture.

La tomate peut être victime de deux maladies fusariennes différentes soit la flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*) causée par *Fusarium oxysporum lycopersici* abrégée (FOL) et la pourriture de la racine et du collet (*Fusarium crown and root rot*) causée par *Fusarium oxysporum radicles-lycopersici* (FORL).

Flétrissure fusarienne, est une maladie responsable de dégâts importants sur les cultures de la tomate,

2. Fusariose vasculaire du palmier dattier (Bayoud) :

2.1. Généralité :

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) est une plante dioïque, monocotylédone, appartenant à la famille des Arécacées, anciennement palmaceae (Dransfield et al;2008), qui comprend 200 genres et plus de 2500 espèces. Cette plante est cultivée depuis plus de 4000 ans, le genre comprend environ 14 espèces réparties dans le désert, zone tropicale et subtropicale du globe (Moussouni et al, 2013; Gros-Balthazard,2013; Al Antary et al. 2015 El Kinany et al. 2017., Bentradi et al.,2017).

Le palmier dattier (*Phoenix dactylifera L.*) malgré sa résistance à tous les facteurs abiotiques est menacé par la fusariose vasculaire (le Bayoud), une maladie cryptogamique causée par le champignon tellurique *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (Killian et Maire 1930). Cette maladie est la plus destructive et la plus menaçante dans l'Afrique du nord. Elle est répandue surtout au Maroc et dans une grande partie des palmeraies de l'Algérie (Djerbi, 1982).

✓ Classification :

La nouvelle classification taxonomique basée sur la phylogénie moléculaire selon (Debourgogne, 2013) est la suivante :

RègneFungi
 Division.....Ascomycota
 Classe.....Sordariomycètes
 Sous classe.....Hypocreomycetide
 Ordre.....Hypocreales
 FamilleNectriaceae
 Genre.....*Fusarium*
 Espèce..... *Fusarium oxysporum f.sp albedinis*.

✓ Caractéristiques morphologiques:

Le *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* (FOA), appartient au phylum des Deutéromycètes (champignons imparfaits). Ces formes imparfaites sont caractérisées par un mycélium septé et des conidies généralement unicellulaires situées sur des conidiospores; elles sont classées dans le groupe des Moniliales (Lepoivre, 2003).

Est un champignon avec un mycélium aérien qui a une pigmentation variable

(Blanchâtre, rosâtre, violette, mauve, orange, ou beige) qui est due à la formation d'une multitude de spores en surface par des organes fructifères (Sporodochies ,pionnotes,) ,ainsi qu'aux variations de la lumière et du milieu de culture. **(Messaoudi et al., 1989)**.

Il possède un mycélium cloisonné ,fin et régulier en culture jeune .il présente des cellules hypertrophiées en chaine d'aspect globuleux en cultures âgées ayant une grande ressemblance avec les chlamydospores, mais sans épaissement de la racine .Il est caractériser par la production des :

Les microconidies: Les microconidies de *Foa* sont sphériques ou allongées, légèrement courbées, généralement unicellulaires, hyalines, de dimension variables dans une même culture (3-15× 3-5 µm).

Les macroconidies: sont fusoides a falciforme, pointues aux deux extrémités ayant généralement 3 a 5 cloisons, mesurent (20 a 35 ×3 a 5 µm) **(Abdullah et al , 2010)**.

Chlamydospores : dans les cultures âgées ou dans le sol, le *Fusarium oxysporum f. sp albedinis* forme des chlamydospores , régulières soit globuleuse , a paroi lisse et épaisse , et leur taille varie de 6 a 20 µm. Elles sont intercalaires ou terminales et sont isolées ou groupées **(Buletin OEPP ,2003)**.

✓ **Caractères physiologiques:**

Ce champignon se développe bien sur le milieu PDA **(Louvet et al, 1973)**. La croissance débute à 7°C et demeure faible jusqu'à 12°C, devient rapide entre 21°C - 27,5°C et s'arrête à 37°C **(Malençon, 1947)**.L'optimum de croissance du champignon *in vitro* est obtenu à 28°C et la meilleure germination des microconidies est à 27°C **(Bounaga, 1975)**. Cet auteur montre que la croissance est faible entre les pH 8,5 à 9,7et rapide pour les PH 5 à 6.

Il est très inégalement réparti dans le sol, il a été isolé entre 0 et 30 cm de profondeur dans les sols des palmeraies infectées mais parfois il peut descendre jusqu'à 1 m **(Tantaoui, 1989)**.Concernant les conditions thermiques de culture du FOA, Elle se situe entre 21°C et 27°C et au-delà de 40°C le champignon ne se développe pas **(Bounaga, 1975)**.

2.2Cycle de vie :

Le cycle de vie de *Fusarium oxysporum f. sp albedinis* est représenté en deux phase : colonisation et parasitisme **(Lemanceau et Alabouvette ,1993)**. **Figure 1.**

Le *Fusarium oxysporum* démarre son cycle de développement en affectant le système souterrain de l'hôte (racines) avant de devenir systémique dans les tissus conducteurs. Ensuite son développement est lié aux modalités d'interaction entre la variété hôte et la race de l'agent pathogène (**Mourichon, 2003**).

En contact avec l'hôte et dès que les conditions sont favorables, et dans le cas d'une interaction compatible d'une race sensible, les chlamydospores s'adhèrent, germent et pénètrent dans les tissus vasculaires des racines, à partir desquels le mycélium atteint la tige et se ramifie au niveau des cellules épidermiques (**Djerbi, 1983**).

Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème (tissu conducteur) et le mycélium produit des microconidies qui sont transportées vers le haut par la sève montante. Quand ce mouvement est empêché par une paroi transversale, les microconidies germent, le tube germinatif pénètre dans la paroi et la formation de microconidies reprend de l'autre côté de la paroi. La mort de l'arbre intervient quand le champignon atteint avec ses toxines le bourgeon terminal. Au cours de sa progression, *F.O. albedinis* s'échappe du xylème et colonise le parenchyme environnant par un mycélium inter et intracellulaire, c'est ce qui donne plus tard la coloration brun rougeâtre caractéristique des arbres malades. Après la mort de l'arbre, le mycélium continue à se développer dans les tissus morts et forme de nombreuses chlamydospores dans les cellules du sclérenchyme (**Gäüman, 1957; Louvet, 1977**).

A l'extérieur, se forment des organes fructifères à la surface des feuilles appelées sporodochies et développent des macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes, lorsqu'elles sont transportées par le vent, l'érosion ou bien par les insectes (**Jones et Woltz, 1981**).

Dans un hôte résistant, cette progression est stoppée dans les cribles au niveau desquels on observe des tyloses obturantes. Les modalités et intensités de réaction de l'hôte sont variables selon les variétés. Généralement, dans le cas d'une résistance marquée on observe une rapide mise en place des réactions de défense qui se traduisent par un blocage de la colonisation systémique des vaisseaux du xylème (**Mourichon, 2003**).

Le dessèchement de la plante résulte donc du blocage de la circulation de sève, conséquence des différentes altérations du système vasculaire (Tantaoui et al., 1996). En général, les conditions favorables à une croissance rapide du palmier-dattier

favorisent aussi le développement de la maladie. La température de croissance optimale du pathogène est entre 21 et 27,5°C ; la croissance reste importante à 18°C et à 32°C, mais s'arrête à 7°C et à 37°C (Bounaga, 1975).

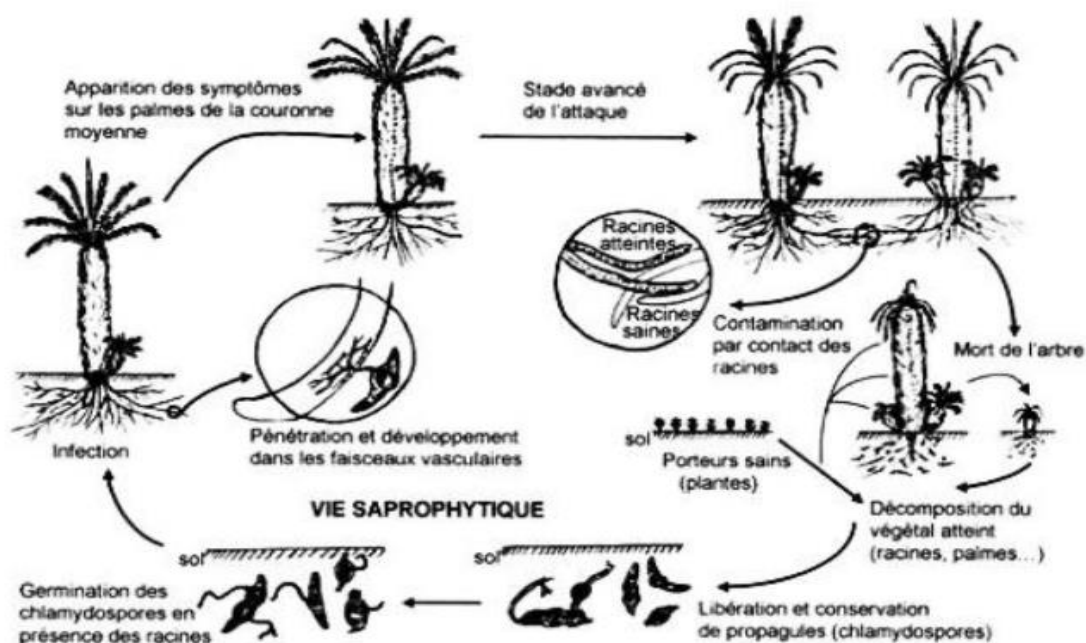


Figure 04: Cycle infectieux du *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (Sedra, 1992).

2.3. Symptômes :

Le premier symptôme externe de la maladie s'observe sur une palme de la couronne moyenne, cette palme prend un aspect plombe et se dessèche selon un processus très particulier. En effet, les folioles ou les épines situées d'un côté de cette palme se dessèchent progressivement du bas vers le sommet, et se replient vers le rachis. Ce dessèchement gagne ensuite les folioles du côté opposé, progressant cette fois de haut en bas, et toute la palme finit par se dessécher complètement et prend une couleur blanchâtre. Ce symptôme est à l'origine du nom de la maladie *bayoud* dérivant du mot arabe «abyed » qui veut dire blanc, et de la forme spéciale *albedinis* du *Fusarium oxysporum* responsable de la maladie, tiré du latin *albus* (blanc).

La cote dorsale du rachis est marquée d'une strie brune longitudinale, qui avance de la base vers l'apex de la fronde, et qui correspond au passage du mycélium dans les vaisseaux vasculaire du rachis.

Ensuite, la feuille va prendre une forme arquée, similaire à une feuille vivante, et pend le long du tronc. Les mêmes symptômes apparaissent ensuite sur les palmes voisines, puis l'attaque se généralise à l'ensemble du palmier entraînant sa mort au bout de 6 mois à 2 ans (**Djebri 1988**).



Figure 05 : Symptômes de Bayoud sur des pieds de palmier dattier (**Lepoivre, 2007**).

4. Importance économique de la maladie :

Le Bayoud provoque chaque année la mort de 4.5 à 12% de la population phoénicienne des palmerais infectées (**Djerbi , 1983,1986**).

Cette maladie n'a pas seulement provoqué la perte d'un aliment de base pour les populations sahariennes, mais aussi la perte d'une source de revenus et de devises indispensables à la vie quotidienne des oasis. Elle a réduit considérablement l'étendue des périmètres cultivés et a accéléré le processus de désertification. Par exemple, le Maroc qui était un exportateur traditionnel des dattes, occupait le 3^{ème} rang parmi les pays producteurs, actuellement, il importe des dattes pour satisfaire le marché national. Dans la plupart des oasis, plus de 50% des cultivars de bonne qualité dattiers ont été détruits au profit de la prolifération des cultivars peu productifs produisant des dattes communes qui sont souvent impropres à la consommation humaine. (**Harrak et Chetto 2001**).

Ce phénomène entraîne la disparition progressive des cultivars de qualité reconnus mondialement et par voie de conséquence, une forte réduction de la densité des palmiers. (Saaidi, 1979; Djerbi et al., 1986).

3. Les moyens de lutte contre les maladies fusarienne :

Les méthodes de lutte appliquées pour le contrôle des fusarioses et pourriture grise sont généralement limitées. Comme c'est le cas pour l'ensemble des maladies parasitaires, il n'existe actuellement aucun moyen réellement efficace pour contrôler totalement ces maladies, les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif (Rouxel et al., 1979).

2.2. Lutte culturale :

D'après Abadie et al., (1998), la lutte culturale se pratique par l'utilisation des cultivars résistants, en pratiquant la jachère, réaliser des rotations de 5 à 7ans en assurant que le précédent cultural est une légumineuse, tout en évitant l'utilisation des grains et des plants infestés.

Diminuer la croissance et la virulence du pathogène en élevant le PH du sol par l'ajout d'amendement de chaux (Scott, 1923), et par le maintien d'une fertilisation azotée élevée surtout sous forme de nitrates (Barna et al., 1985).

Et enfin l'inactivation de l'agent pathogène en pratiquant la solarisation du sol, qui consiste à couvrir le sol avec un film en plastique clair ce qui augmente la température jusqu'à 40° et 60°C, étant donné que les pathogènes sont généralement mésophiles, ces températures leur sont nuisible (Anchisi et al, 1985).

2.3. Lutte physique :

Anchisi et al (1985) ont développé un traitement des racines avec de l'eau chaude de 48° à 49°C pendant 30 secondes. La stérilisation et/ou la solarisation ne sont pas des solutions pratiques à long terme.

2.4. Lutte chimique :

Elle consiste en l'utilisation de fongicides systémiques ou incorporés dans le sol comme le Binomyl ou le capta fol qui sont des produits efficaces (**Maw et kempton, 1973**). La fumigation avec le methyl Bromide qui a montré une efficacité contre la fusariose vasculaire (**Maw et Kempton, 1973**).

Selon **Touze et al (1979)**, il existe plusieurs inconvénients suite à l'utilisation de ces produits chimiques :

- Apparition de souches résistantes difficiles à traiter.
Déséquilibre de la microflore du sol (élimination des microorganismes qui maintien l'équilibre de l'écosystème).
- Pollution de l'atmosphère, de l'eau et du sol.
- L'intoxication des êtres vivants consommateurs des plantes traitées.
- Coût élevé du traitement.

2.5. Lutte intégré :

C'est la réunion de toutes les méthodes précédemment cité pour lutter contre les phytopathogènes à longue durée. Ces méthodes ne peuvent émerger que d'une meilleure connaissance des mécanismes fondamentaux qui sont à la base des interactions entre les plantes et leurs agents pathogènes (**Corbaz, 1990**).

2.6. Lutte génétique :

Afin de contrôler la maladie, la lutte génétique exploite la diversité phyto-génétique. La technique consiste à introduire au niveau des plantes des gènes codant pour des protéines de défense, ces plantes sont appelées : plantes transgénétique. Mais cette technique fut inefficace car il y a eu l'apparition de nouvelles races plus virulentes du parasite (**Henni, 1998**).

2.7. Lutte biologique :

La lutte biologique est un ensemble de procédés exploitant la relation de concurrence ou d'antagonistes existant entre vivantes y compris les champignons, en vue de minimiser ou de limiter les dommages ainsi que l'abondance des agents phytopathogènes sans nécessairement les détruire par la suite (**Alabouvette et al.,1986**).

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux micro organismes tels que les bactéries et les champignons dans l'espoir de mettre au point un procédé de lutte efficace capable de limiter la gravité des fusarioses (**Alabouvette et al ., 1986**).



*Partie
expérimentale*

3- Caractérisations biochimique des souches bactériennes :

L'identification des souches bactériennes utilisées dans notre travail, est basée essentiellement sur l'étude des caractères suivants : recherche de l'oxydase, milieu TSI (Triple Sugar Iron Agar), milieu mannitol – mobilité, milieu au Citrate de Simmons, recherche des VP – RM, milieu urée-indole, quelques acides aminés et quelques sucres

- Mannitol Mobilité :

Le principe du milieu repose sur l'aptitude de certaines bactéries à fermenter le mannitol (Virage au jaune). Ensemencer au moyen d'un fil de platine par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu Mannitol Mobilité. Incubation à 28°C pendant 24h.

- Virage de milieu en jaune : mannitol +.
- Milieu rouge : mannitol- (Sayad, 2008).

- TSI (Triple Sugar Iron Agar) :

Le but de ce test est de mettre en évidence cinq caractères:

- Fermentation du Glucose, Lactose et Saccharose
- Production de Gaz
- Production d'hydrogène sulfureux (H₂S). (Lebres, 2004).

Ensemencé le milieu TSI à l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. Nous avons incubé les tubes ensemencés à 28°C pendant 24 heures. La méthode utilisée pour les deux souches bactériennes S₂₀ et CH âgés de 24h.

- Citrate de Simmons :

Le milieu Citrate de Simmons permet de mettre en évidence certaines bactéries qui sont capables d'assimiler le citrate de sodium comme seule source de carbone et d'énergie. Ces bactéries possèdent un citrate perméase et les enzymes du catabolisme du citrate, ainsi qu'il

possède un indicateur de pH « le bleu de bromothymol » dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin).

La pente du milieu estensemencée par strie longitudinale, réalisée à l'anse, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile. Mettre à l'étuve pendant 7 jours. Après incubation à 28°C pendant 24h, s'il y a une culture avec une alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu), la bactérie est de Citrate positive. S'il ya pas de culture et la couleur du milieu inchangée, la bactérie est de citrate négatif (**Carbonnelle et al., 1988**).

- **Urée-Indole :**

Ce milieu synthétique permet de réaliser trois tests biochimiques qui interviennent dans la différenciation et/ou dans l'identification des souches bactériennes. Le milieu urée – indole contient du tryptophane, de l'urée et du rouge de phénol comme indicateur de pH.

La recherche de l'uréase consiste à constater l'alcalinisation d'un milieu contenant de l'urée d'où l'utilisation de milieu urée-indole.

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole. Ce dernier va réagir avec le réactif de Kovacks (acide nitrique nitreux) pour former un anneau rouge surnageant (nitrose indole).

Ensemencement du milieu urée – indole avec la suspension bactérienne **S₂₀** et **CH**. Après incubation à 28°C pendant 24h, nous avons ajouté quelques gouttes de réactif de Kovacs. La lecture de l'indole est immédiate :

- Réaction indole positive : anneau rouge ou rose.
- Réaction indole négative : anneau brunâtre. (**Carbonnelle et al., 1988**).

- **VP (Voges-Proskaver) :**

Nous avons ajouté les suspensions bactériennes **S₂₀** et **CH** dans les tubes de milieu Clark et Lubs pour la réaction VP, puis incubation à 28°C pendant 24h. Ajouté 10 gouttes d'alpha naphthol et le même volume de potasse. En suite incliné le tube pour permettre une bonne oxygénation et on attend quelque minute à une heure. Lorsque le milieu devient rouge le VP+, ou bien devient jaune VP- (**Boukrouma, 2008**).

- **RM (Rouge Méthyle) :**

Le test RM met en évidence les bactéries produisant des acides organiques (éthanoïque...) par la voie des acides mixtes. Ensemencement des suspensions bactériennes **S₂₀** ; **CH** dans des tube Clark et Lubs. Puis incubation à 28°C pendant 24h. Après, on ajoute 2 à 3 gouttes de rouge de méthyle. La lecture est immédiate, si milieu rouge : RM+ ; Jaune : RM- .

- **ADH (Arginine dihydrolase) :**

La mise en évidence de cette enzyme est intéressent pour la caractérisation des bactéries. Le rôle de cette enzyme est de libérer l'ammoniac à partir de l'arginine.

Pour effectuer ce test on utilise les tubes de l'ADH (ce milieu contient un indicateur de pH, le pourpre de bromocrésol), on ajoutant les suspensions bactériennes **S₂₀** et **CH**. Après l'incubation à 28°C pendant 24h, si la couleur du milieu vire au jaune puis vers le violet ceci indique la présence de l'enzyme et la dégradation de l'arginine. Si elle reste jaune cela veut dire que la bactérie est ADH négative.

- **Hydrolyse de la Gélatine :**

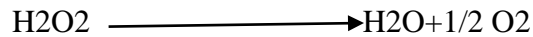
La gélatine peut être incorporée dans un milieu de culture afin de mettre en évidence sa dégradation par certaines bactéries possédant une gélatinase. Cette enzyme hydrolyse le collagène en acides aminés ou peptides (**Joffin et Lyeral, 2006**).

Une quantité importante de la souche bactérienne **S₂₀** et **CH** à tester est ensemencée dans un tube contenant de la gélatine. Après incubation à 28°C pendant 24h, on a mis directement le tube à 6 °C pendant 30 min et juste après on a fait la lecture :

- Si la gélatine a demeuré liquide, donc la souche bactérienne est gélatinase positive (+).
- Si la gélatine est devenue solide, donc la souche bactérienne est gélatinase négative (-)

- Catalase :

Sur une culture bactérienne **S₂₀** et **CH** âgée de 24 heures, on instille quelques gouttes de l'eau oxygénée à 10 volumes. La présence d'une catalase (catalase positive) se traduit par l'émission de bulbes gazeux juste après contact selon la formule :



- **Test oxydase** : test oxydase est à la base de l'identification des bactéries Gram, négatives. Il permet de mettre en évidence une enzyme la phénylène diamine oxydase. Selon la technique de KOVACS (1956) il est réalisé en déposant un disque pré-imprégné par le réactif N diméthylparaphénylène diamine, sur une colonie bactérienne âgée de 24h. La lecture des résultats se fait immédiatement, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur violette au bout de 10 secondes.

- Tolérance au sel:

La détermination de la résistance des isolats bactériens **S₂₀** et **CH** à la salinité a été effectué par l'ensemencement en stries des souches âgées de 24 heures sur milieu de culture Chapman. La lecture des résultats portant sur la présence ou l'absence de la croissance bactérienne est réalisée après incubation de 24 à 72 heures à une température de 28°C.



Figure 07 : La galerie biochimique des suspensions bactériennes **S₂₀** ; **CH**.



*Résultats et
discussions*

3. Caractérisations biochimique et physiologiques des souches

bactériennes :

La série des tests biochimiques effectués pour les deux souches bactériennes ont révélé les résultats suivant:

- Sur le **Mannitol-mobilité**, les deux souches sont mobiles mais elles n'ont pas la capacité à utiliser le mannitol.
- **Sur le milieu TSI:**

Dans les tubes testés par la bactérie **CH** nous avons observée la production d'hydrogène sulfureux (**H₂S**) qui se traduit par une coloration noire de milieu donc c'est (**H₂S** +) avec(glucose +) car même si la couleur du culot ne peut pas être vue a cause du noircissement du milieu , la bactérie est glucose (+),car s'il n'y avait pas consommation de glucose la formation de l'**H₂S** ne pourrait pas avoir lieu .

Aucun développement bactérien, ni changement de la couleur au niveau de la pente n'a été observé cela signifie que la bactérie CH est Lactose (-) et saccharose (-).

Dans les tubes testés par la bactérie (**S₂₀**), nous n'avons pas observé un changement de couleur de milieu donc c'est **H₂S**(-), glucose (-), saccharose (-) et lactoses (-).



Figure 17 : Test TSI des deux souches **CH** et **S₂₀**.

- Sur milieu **citrate de Simmons**, nous avons observé une coloration bleu et il y a eu alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu), ceci explique la capacité des bactéries à se développer en utilisant le citrate de sodium comme seule source de carbone donc les souches **CH** et **S20** possèdent la citrate-perméase, (Citrate de Simmons +).
- Sur milieu **Urée-Indole** nous avons observée la formation d'un anneau rose qui vire vers rouge dans la partie supérieur de milieu ce que signifie une réaction positif (+).

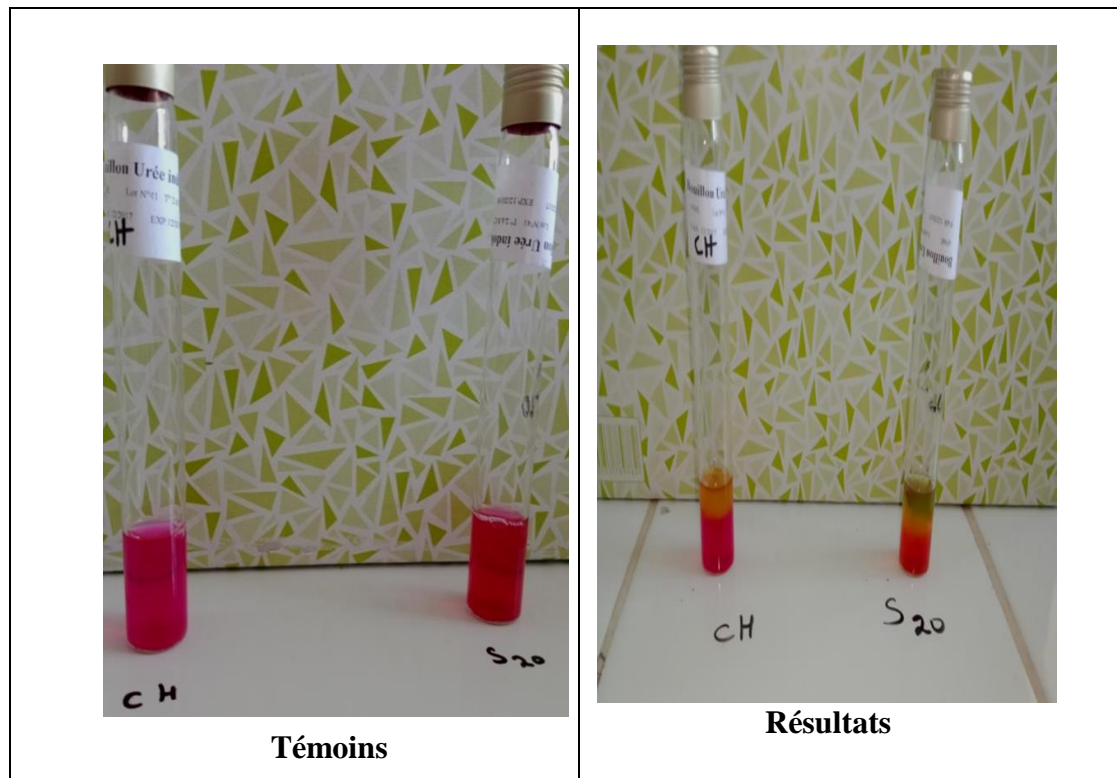


Figure 18 : Résultats du test urée indole des deux souches **CH** et **S20**.

- Sur le milieu **Clark et Lubs**, La souche **CH** présente une réaction négative via le rouge de Méthyle (RM-), et présente une réaction positive via le Voges Proskauer (VP+).

Contrairement à la souche **S20**, cette dernière elle présente une réaction positive via le rouge de Méthyle (RM+), et une réaction négative via le Voges Proskauer (VP-).

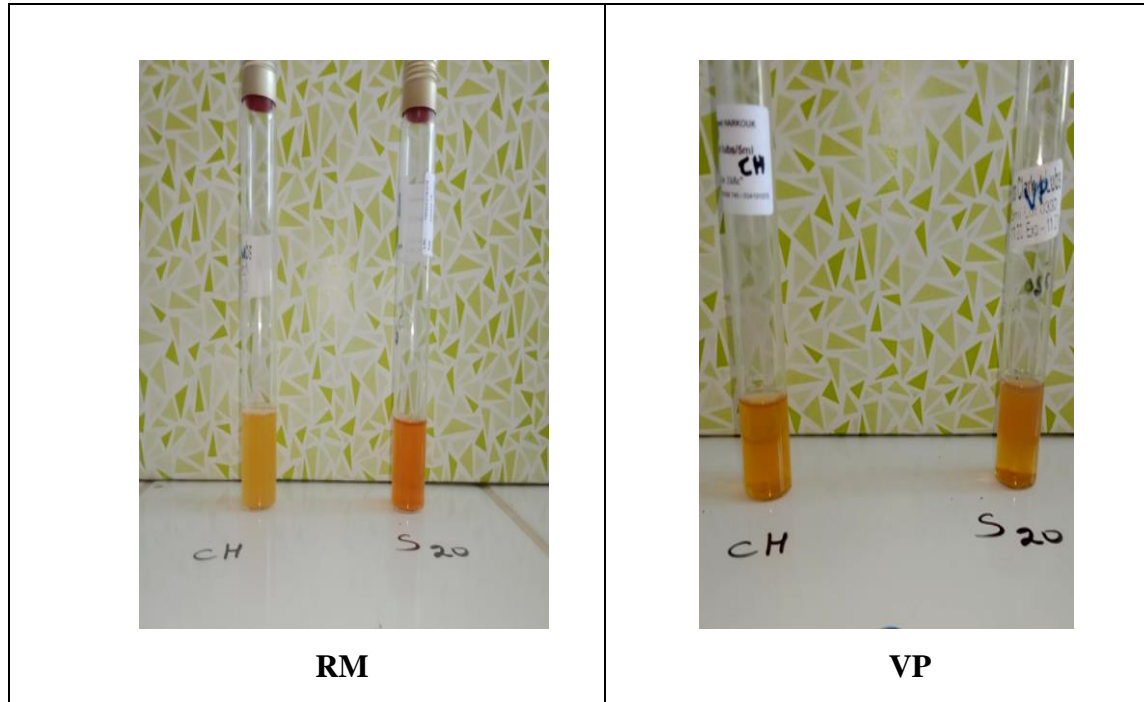


Figure 19 : Réactions de RM et VP.

- Pour Arginine dihydrolase (**ADH**), nous avons observé un changement de couleur de milieu Møller qui vire au jaune puis vers le violet, ceci indique la présence de l'enzyme et la dégradation de l'arginine. qui présente une réaction positive (ADH+) pour les deux souches **CH** et **S20**.

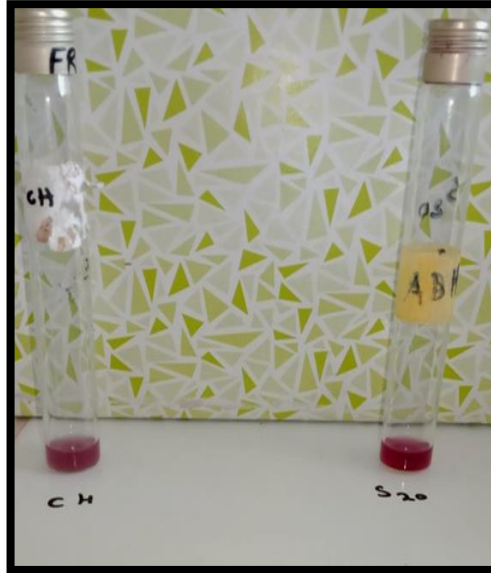


Figure 20 : Test ADH des deux souches CH et S₂₀.

- Les deux souches ont montré une réaction positive sur milieu gélatine après avoir observé que la gélatine a demeuré liquide donc les bactéries possèdent les gélatinases.

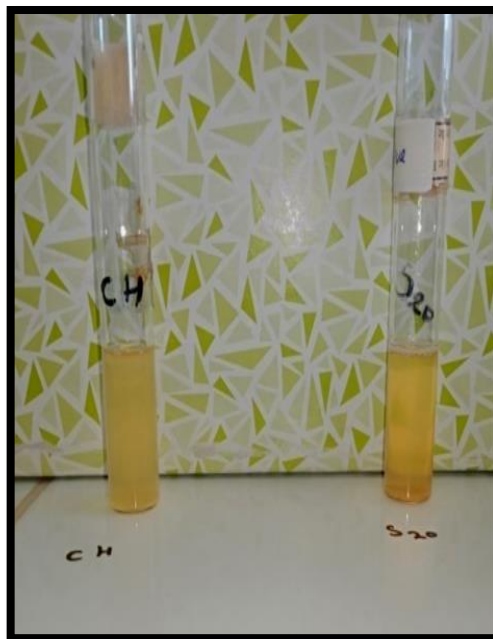


Figure 21 : Test gélatine des deux souches CH et S₂₀.

- En contact des souches bactériennes CH et S₂₀ avec de l'eau oxygénée nous avons observé des bulles gazeuses, ce sont des catalase positive (+).
- **Pour la Tolérance au sel:** Les deux souches bactériennes CH et S₂₀ ont montré une inaptitude totale à croître et à se développer sur milieu Chapman, ce qui explique qu'elles sont incapables de tolérer le sel.
- **Teste oxydase :** Les disques d'oxydases déposées sur les souches bactériennes CH et S₂₀ prennent une teinte violette. ce qui signifie que les deux souches sont oxydase positive.

Tableau 03 : Caractères physiologiques et biochimiques des deux souches B1 et B2 (CH et S20).

Bactéries Teste	CH	S20
Mannitol-mobilité	Mannitol- Mobilité+	Mannitol- Mobilité +
Citrate de Simmons	+	+
TSI	H2S+ Lactose- Saccharose- Glucose+	H2S- Lactose- Saccharose- Glucose-
L'urée indole	+	+
Clark et Lubs	RM- VP+	RM+ VP-
ADH	+	+
Gélatine	+	+
Catalase	+	+
CHAPMAN	+	+
Oxydase	+	+
KOH	+	+
Coloration de Gram	-	-

(+): réaction positive.

(-):réaction négative.

D'après les résultats obtenus les souches ont montré une certaine stabilité des caractères culturels et biochimiques ce qui confirme la pureté des deux souches, et leur appartenance au genre *Pseudomonas*.

Les souches testés **CH** et **S20** sont Gram - négative, mobiles mais elles n'ont pas la capacité à utiliser le mannitol, elles utilisent le Citrate de Simmons, leurs catalase est positive.

La production de pigments fluorescents a été observée chez les deux souches, cette production est une spécificité des *Pseudomonas Fluorescents* qui se distinguent visuellement des autres *Pseudomonas* par leur aptitude à produire un pigment jaune-vert soluble dans l'eau (**Palleroni, 1984**).

6. Interprétation :

Nos résultats montrent que les rhizobactéries étudiées produisent des sidérophores, et jouent probablement un rôle majeur dans la promotion de la croissance des plantes. Ces bactéries sont par conséquent bénéfiques aux plantes.

Djibaoui et Bensoltane (2005) rapportent que *Pseudomonas fluorescens* sécrète des pyoverdines pour couvrir ses besoins essentiels en fer.

En plus, **Radzki et al. (2013)** ont constaté une meilleure croissance de plante de tomate traités par une culture bactérienne ou le surnageant de la souche CHAO de *Pseudomonas Fluorescents* productrice de quantités élevées de sidérophores.

Les sidérophores microbiens peuvent stimuler directement la croissance des plantes en augmentant la disponibilité du fer dans le sol entourant les racines ou indirectement par inhibition compétitive de la croissance des pathogènes des plantes en piégeant le fer et le rendant moins disponible pour les agents pathogènes (**Fgaier et Eberl, 2011**).

En ce qui concerne la production de l'acide cyanhydrique, les souches **S20** et **CH** produisent d'une manière importante l'HCN pourrait jouer un rôle important dans la protection des plantes contre les champignons telluriques phytopathogènes. Elles sont, utilisée

comme agent de biocontrôle, colonisant les racines et protégeant de nombreuses plantes des maladies causées par les champignons telluriques (**Ramette et al, 2003 ; Jousset et al, 2006**).

La souche CHAO productrice de HCN, produit aussi une molécule ayant des caractéristiques du phloroglucinol (**Benlarbi et Taleb, 2013**). Cette bactérie pourrait jouer un rôle dans la protection des cultures de blé car il a été démontré que le HCN et le 2,4-diacétylphloroglucinol, produits par les bactéries, jouent un rôle important dans la suppression de la pourriture noire du tabac causée par *Thielaviopsis basicola* (**Nadeem et al, 2012**).

Les bactéries testées sont considérées comme favorisant la croissance des plantes. Elles produisent des métabolites secondaires comme les sidérophores et l'HCN. Selon **Rajkumar et al. (2006)**, le maximum de stimulation de croissance par *Pseudomonas sp.* peut être attribué à la production de sidérophores et l'HCN.

Le test d'antagonisme in vitro des souches bactériennes *Pseudomonas spp fluorescence* **S₂₀** et **CH** vis-à-vis de deux isolats *Fusarium oxysporum f.sp Albedinis* **FOA** et *Fusarium oxysporum f.sp Lycopersici* **FOL** par la technique de confrontation directe et indirecte, nous a permis d'estimer le potentiel inhibiteur des bactéries vis-à-vis les deux souches fongiques phytopathogènes utilisés. Cette évaluation a révélé des intensités inhibitrices variables selon la souche antagoniste. Et selon le milieu de culture et l'agent pathogène.

Le pouvoir antagonistes des *Pseudomonas spp.* Fluorescents lié essentiellement à leur capacité de synthétiser abondamment des pigments fluorescents. Selon **Misaghi et al, (1982)** qui en étudiant l'action antagoniste des *Pseudomonas fluorescents* sur les *Fusarium oxysporum* a montré une corrélation entre la quantité de pigment fluorescents et le pouvoir antagoniste de ce genre de bactérie, plus la quantité de ces pigments est importante plus l'antagonisme est accentué. Ce résultat semble confirmer celui obtenu par les bactéries **S₂₀** et **CH**. La meilleure activité inhibitrice a été obtenue sur milieu King B.

L'activité antagoniste dépend non seulement des souches bactériennes testées, mais aussi de la composition du milieu de culture (**Digat, 1992**). Le milieu de culture influence sur l'activité antagoniste des souches de *Pseudomonas spp. Fluorescents*. Les souches bactériennes appauvrissent le milieu de culture et inhibent ainsi la croissance du champignon (**Jamalizadeh et al, 2008**).

Sur le milieu KB, le principal mécanisme mis en cause dans l'effet antagoniste des souches de *Pseudomonas spp. Fluorescent* (**S₂₀ ; CH**) pourrait être liée à la synthèse des sidérophores qui chélate les ions de fer trivalent, suite à la production des pigments fluorescents (**Hass et al., 1991 ; Digat, 1992 et Weller et Thomashow, 1993**). Selon **O'sullivan et O'gara (1992)**, la production de sidérophores par les bactéries rend le fer non disponible pour les champignons pathogènes. Les pigments fluorescents sont synthétisés en grande quantité dans des conditions de cultures carencées en fer (**Meyer, 1977**).

Nos résultats ont révélé également des activités antagonistes chez les souches bactériennes dans le milieu PDA. Ces résultats suggèrent que l'activité antagoniste exhibée par les différentes souches sur le milieu, n'est pas due à l'action des sidérophores, car le milieu ne favorise pas la production des pigments fluorescents. Nous pouvons attribuer l'activité antagoniste exercée à la production d'autres métabolites secondaires. Plusieurs modes d'action peuvent avoir lieu simultanément ou séparément. Nous pouvons supposer que la bactérie a diffusé des antibiotiques dans le milieu qui ont inhibé la croissance du pathogène. Nous supposons aussi une possible émission, par la bactérie, de substances volatiles. Mais les mécanismes d'antagonisme chez le groupe des *Pseudomonas* fluorescents sont très nombreux.

En effet, des taux d'inhibition appréciables ont été enregistrés dans les deux milieux, dépassant parfois les 50% dans milieu PDA et les 65% dans milieu King B, ce qui confirme le haut pouvoir antagoniste des deux souches.

Les résultats de la confrontation indirecte, ont révélé que les deux souches testées présentent un effet antagoniste contre les deux champignons phytopathogènes. **Moore-Landecker et Stotzky (1972)** ont montré que certaines bactéries produisent des substances antibiotiques volatiles qui inhibent fortement la croissance et la sporulation de plusieurs champignons phytopathogènes.

D'après les résultats obtenus de la confrontation indirecte, la souche bactérienne **CH** présente un taux d'inhibition <20%, par contre le taux d'inhibition de la bactérie **S₂₀** varie entre 24% et 39%. Dans le même ordre d'idées **Hmouni et al. (1999)** avait rapporté que certaines bactéries sont plus actives via la libération des substances volatiles que diffusible et vis versa.

Les pourcentages d'inhibition des souches *Pseudomonas* sp est moins élevés, ceci montre que l'action des composés volatiles sur la croissance des champignons utilisés est moins importante que lors de la confrontation directe. **Tripathi et Johri (2002)** ils n'ont constaté que les composés volatiles antifongiques produits par des *Pseudomonas fluorescens* ayant un pouvoir antifongique moins important que leurs produits diffusibles.



Conclusion

L'étude morphologique et biochimique ont permis de confirmer que les deux souches utilisés sont du groupe *Pseudomonas* spp. Fluorescents. Les souches bactériennes testées ont montré une production importante de pigment fluorescent donc elles synthétisent les sidérophores. En ce qui concerne la production de l'acide cyanhydrique, les deux souches bactériennes sont capables de produire de l'HCN d'une manière importante en présence de glycine après 72h d'incubation.

Les résultats de l'essai de l'antagonisme microbien *in vitro* ont révélé une inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et de *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* par les souches bactériennes de *Pseudomonas* sp. Fluorescent (S₂₀ et CH) en confrontation directe et en enregistrant des taux d'inhibition supérieurs à 20%.

Egalement, nous avons constaté un ralentissement de la croissance mycéliennes des deux isolats fongiques FOA et FOL en présence indirecte des souches bactériennes (confrontation indirecte) en enregistrant des taux d'inhibition qui varient de 16,66% à 39,96%. Cela prouve que les souches bactériennes utilisées secrètent des substances volatiles capables de stopper à distance le développement des isolats fongiques.

L'activité antagoniste a été plus marquée sur milieu King B avec des taux d'inhibition assez importants de 69,49% par rapport au milieu PDA avec un taux de 52,02%.

Cette forte activité inhibitrice des souches bactériennes sur milieu King B peut être justifiée par la capacité de ces souches à produire les sidérophores dans un milieu carencé en fer tel que le milieu King B.

Nous avons enregistrées également des activités inhibitrices sur milieu PDA. Cette activité peut être liée à l'implication d'autres mécanismes à effet toxique tel que la production d'antibiotique ...etc.

Les résultats obtenus confirment que les souches bactériennes testées sont capables de synthétiser des métabolites toxiques et ainsi d'assurer une inhibition des pathogènes fongiques *in vitro*. Il est intéressant de poursuivre des essais d'évaluation des potentialités de bioprotection chez les souches bactériennes à travers des applications *in situ* en interaction avec les espèces végétales vis-à-vis des agents pathogènes.



*Références
bibliographiques*

1. **Abdullah, S.K., Lopez Lorca, L.V. et Jansson, H.B. (2010).** Diseases of date palms (Phoenix dactylifera L.), 9(2): 1 - 43.
2. **Adhikari A., Dutta S., Nandi S., Bhattacharya I., De Roy M., Sarkar G., Mandal T., 2013** - Antagonistic potentiality of native rhizobacterial isolates against root rot disease of okra, incited by Rhizoctonia solani. Afric J Agri Res, 8, 4, 405-412.
3. **Al Antary, T.M., Al-Khawaldeh, M.M. et Ateyyat, M.A. (2015).** Economic importance of date palm Phoenix dactylifera L. (Liliopsida: Arecales: Areaceae) pests in Jordan Valley. Brazilian Journal of Biological Sciences, 2(3): 121 - 134.
4. **Alabouvette, C. (1986).** Fusarium wilt-suppressive soils from the Chateau-renard region: Review of a 10-year study. Agronomie 6:2 73-284.
5. **Alexander, L. J., & Tucker, C. M. (1945).** Physiologic Specialization in the Tomato Wilt Fungus, Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Jour. Agric. Res., 70, 33-313
6. **Allaire M., 2005** - Diversité fonctionnelle des Pseudomonas producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. Mémoire de Maîtrise ès Sciences en Microbiologie Agricole, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation université Laval Québec, Canada.
7. **ANCHISI M., GENNARI M., ET MATTA A., 1985.** Retardation of Fusarium Wilt symptoms in tomato by pre-and post-inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot Water. Physiological plant pathology. 26:175-183.
8. **ARBAOUI M., 1984.** Essai d'utilisation de vibration électronique et manuelle pour l'élimination de la fécondité de la tomate lycopersicum esculentum non chauffée, thèse d'ingénieur en agronomie, INA. 56P.
9. **Ashraf M, Ahmad M.S.A, Öztürk M, et Aksoy A. (2012).** Crop Improvement Through Different Means: Challenges and Prospects. M. Ashraf et al. (eds.), Crop Production for Agricultural Improvement. pp, 1-15.
10. Backtriologischen Institut der technischen Hochschule Zn Karlsruhe
1 .pp 235 .

11. **Benchabane M, Toua D, et Bensaid F. (2011).** Action des *Pseudomonas* spp. fluorescents dans la modulation de la réceptivité du sol à *Fusarium oxysporum*. Université de Blida. 34-36.
12. **BENKAIDIA Ismahane** , Détermination du sexe chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) approches cytogénétiques , biochimique et moléculaire ., CONSTANTINE ,2020.73p.
13. **Bentrad, N., Gaceb-Terrak, R. et Rahmania, F. (2017).** Identification and evaluation of antibacterial agents present in lipophilic fractions isolated from sub-products of *Phoenix dactylifera*. *Natural Product Research*, 31(21): 2544 - 2548.
14. **Bloemberg G.V. and Lugtenberg B.J.J., 2001.** Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 4, pp 343-350.
15. **BOOTH C., 1971.** The genus *Fusarium*, P. 237. Commonwealth Mycological institute, Kew, Surrey, England. *Breeding* 116, 201-220
16. **Booth, C. 1971.** The genus *Fusarium*. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute. 237 p.
17. **Bouhot, D., Rouxel, F., Louvet, J. 1972.** Premières observations de la fusariose vasculaire de la tomate en France. *Ann. Phytopath.* 4(2) : 187-191.
18. **Boukrouma N., (2008).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique de l'eau d'un écosystème aquatique artificiel : cas de la retenue collinaire d'Ain Fakroune (Wilaya d'Oum ElBouaghi). Mémoire de Magister. Université 8 Mai 1945 Guelma. 64 p
19. **CAMPBELL J.I.A., JACOBSEN C.S. AND SORENSEN J., 1995.** Species variation and plasmid incidence among fluorescent *Pseudomonas* strains isolated from agricultural and industrial soils. *FEMS. Microbiol. Ecol.* 18: 51-62.
20. **Carbonnelle D., Kouyoumdjian S., Audurier A., (1988).** Bactériologie médicale techniques usuelles. *Méd. Mal. Inf. France.* 251 p
21. **Chaou, L., (2017).** Contribution à l'étude de l'effet du stress salin sur la germination des graines de deux légumineuses forestières *Acacia Raddiana* et *A Miloticia* bactéries par deux souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents Mémoire master UMMTO 56 P.

22. **Choudhary D.K et Varma A. (2016).** Microbial-mediated induced systemic resistance in plants.
23. Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Press polytechniques et universitaire.
24. **Correll, J.C., Puhalla, J.E., Schneider, R.W. 1986.** Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetation compatibility. *Phytopathology* 76: 396-400.
25. **Debourgogne, A. (2013).** Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse doctorat, Université de Lorraine.
26. **DIGAT B., GARDEN L., 1987.** Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *putida*. *Bull. OEPP/EPPO*.17:559-568
27. **Digat et Gardan .,** caractérisation ,variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *p . putida* (1987).
28. **Djebri, M., 1988.** Les maladies du palmier dattier, Projet régional contre le bayoud .FAO (Rab/84/018). Alger. 127p.
29. **Djebri, M., 1988.** Les maladies du palmier dattier, Projet régional contre le bayoud .FAO (Rab/84/018). Alger. 127p.
30. **DJERBI M., 1982.** Bayoud disease in North Africa: history distribution, diagnosis and control. *Date Palm Journal*. 1: 153-197.
31. **Djerbi, M., Aouad, L., Filali, H., Saaidi, M., Chtioui, A., Sedra, M.H., Allaoui, M., Hamdaoui, T. et Oubrich, M. (1986).** Preliminary results of selection of
32. high-quality Bayoud-resistant clones among natural date palm population in Morocco. In: *Proceedings of the Second Symposium on the Date Palm, Saudi Arabia*: 383 - 399.
33. **El kinany, S., Achbani, E.I.H., Haggoud, A., Ibijbijen, J., Belmalha, S., Rachidi, F., Echchgadda, G. et Bouamri, R. (2017).** In vitro evaluation of compost extracts efficiency as biocontrol agent of date palm *Fusarium* wilt. *African Journal of Microbiology Research*, 11(29): 1155 - 1161.

34. **El Mahjoub M., Bouzaidi A., Juhri A., Hamrouni A., El Beji, 1979.**
Influence de la salinité des eaux d'irrigation sur la sensibilité du tournesol au *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby. *Ann. Phytopathol.* 11 : 61-67.
35. **Fernando W.G.D., Ramarathnam R., Akkanas, Krishnamoorthy S ET Savchuk S. C., 2005.** Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Bio.Biochem.* 37: 955–964.
fluorescent *Pseudomonas*: mechanism and application. *Biocontrol Sciences and Technology* .3: 219-234.
36. **Franzetti L and Scarpellini M (2007).** Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology.* 57(1): 39-47. *Immunol*, 322: 249- 289 *Interface*, *Microbes and Microbial Technology*, Springer, New York, pp. 59-85.
37. **Garrity, G.M. (2005).** The Proteobacteria - Part B: The Gammaproteobacteria. In 'Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'. (Springer: New York).
38. **Gazou S., 2016.** Les effets bénéfiques de *psudomonas* spp. Fluorescents dans la biostimulation et Biocontrôle des végétaux P 76.
39. **Gindrat, D. 1975.** La fusariose vasculaire de la tomate de plein champ en Suisse. *Revue suisse de viticulture arboriculture horticulture* 7 (2) : 69-72.
40. **GRAY E.J., SMITH D.L.,2005** .Intracellular and extracellular PGPR:commonalitiesand distinctions in the plant-bacterium signaling processes.*Soil Biol .Biochem.*37 :395-412.
41. **HAAS D ., DÉFAGO G., 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent *Pseudomonas*. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.
42. **Haas D., Défago G., 2005.** Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature Review of Microbiology*,3, pp 307-319.
43. **Henni J.E., 1998.** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran.171 p.
44. **JEUNOT B., 2005.**Les fusariotoxines sur les céréales détection, risque et nouvelle réglementation.Thèse Doctorat. NANCY I, 125p.

45. **Jones, J.P., Woltz, S.S. 1981.** Fusarium incited diseases of tomato and potato and their control. Florida Agricultural Experiment station journal 747 : 157-168.
46. **Kistler, H. C., Alabouvette, C., Baayen, R. P., Bentley, S., Brayford, D., Coddington, A., Correll, J., Daboussi, M. J., Elias, K., Fernandez, D., Gordon, T. R., Katan, T., Kim, H. G., Leslie, J. F., Martyn, R. D., Migheli, Q., Moore, N. Y., O'Donnell, K., Ploetz, R. C., Rutherford, M. A., Summerell, B., Waalwijk, C., & Woo, S. (1998).** Systematic numbering of vegetative compatibility groups in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 88(1), 30-32.
47. **Kloepper J.W, Scher F.M, Laibert M, Tipping B., 1986.** Emergence-promoting rhizobacteria: description and implication for agriculture. In: Iron, sidérophores and plant disease (TR Swinburne, ed) NATO ASI Series A, Life Sci, Plenum Press, New York, 351, 155-164.
48. **Kloepper, J.W., Leong, J., Tetntze, M., Schroth, M.N. 1980.** Pseudomonas siderophore: a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.*, 4 : 327-330.
49. **Kumar A, Patel JS, Bahadur I, Meena VS (2016).** Les mécanismes moléculaires de KSM pour l'amélioration de la production agricole en agriculture biologique. Dans: Meena VS, Maurya BR, JP Verma, Meena RS (eds) *Microorganismes potassiques solubilisants pour l'agriculture durable*. Springer, Inde, pp 61-75.
50. **Lambert L. (2010).** Lutte biologique aux ravageurs : Application au Québec. Centre universitaire de formation en environnement. Université de Sherbrooke. Québec. Canada.
51. **Lebres E., (2004).** Identification biochimique des micro-organismes, Institut Pasteur d'Algerie
52. **Lefort F. (2010).** Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Haute Ecole de Paysage d'ingénierie et d'architecture. Genève.
53. **Leisinger T ,Margraff R .,**Secondary metabolites of the fluorescent pseudomonas .*Microbiol Rev* 1979.

54. **Lemanceau P (1992)** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescens. *agronomie* 12, 413-437.
55. **Lemanceau P, (1992).** Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. INRA, Laboratoire de recherches sur la flore pathogène et la faune du sol, 17, rue Sully, BV 1540 F21034 Dijon Cedex, France.
56. **Lemanceau P. (1992).** Effets bénéfiques des rhizobactéries sur les plantes: Exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. *Agronomie EDP Sciences*. 12 (6): 413-437.
57. **LEMANCEAU P., ALABOUVETTE C., 1993.** Suppression of fusarium wilts by
58. **LEONG J.,1986.** Siderophore: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24: 187-208.
59. **LEPOIVRE P., 2003.** *Phytopathologie: De Boeck*. Ed.482p.
60. **Leslie JF, Summerell BA (2006).** *The Fusarium laboratory manual*. Edition Blackwell, Iowa. 388 p.
61. **Link, H. F. 1809.** *Observationes in ordinibus plantarum naturalium, Dissertatio I.* *Mag. Ges. Naturf. Freunde, Berlin* 3: 3-42.
62. **Liu L., Kloepper J.W., and Tuzun S. 1995.** Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt By plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 85 (6): 695-695.
63. **Louvet J, Rouxel F, Alabouvette C. (1976).** Recherches sur la résistance du sol aux maladies. I. Mise en évidence de la nature microbiologique de la résistance d'un sol au développement de la fusariose vasculaire du melon. *Ann Phytopathol.*, 8(4): 425-436.
64. **LOUVET J, TOUTAIN G. 1973.** Recherches sur les fusarioses. VIII-Nouvelles observations sur les palmerais marocaines. *Phytopath Medit*, 31: 19-27.
65. **Louvet, J. (1977).** Observations sur la localisation des chlamydo-spores de *Fusarium oxysporum* dans les tissus des plantes parasitées. *Travaux Dédiés à G. Viennot Bourgin*: 193 - 197. INRA, Paris, France.

66. **Mattar J. 1993.** Les Pseudomonas spp.Ffluorescents de la rhizospher: Caractérisation, incidence de latempératureet microflore autochtone sur la colonisation racinaire.Thèse.Doct.Unv.Lyon130p.
67. **Messiaen, C.M., 1981.** Les variétés résistantes. Méthodes de lutte contre les maladies et ennemies des plantes. Edition INRA, Paris. 374 p.
68. **Migula W.,1894.**Über ein neues System der Bakterien arbeiten ans dem.
69. **Moore E.R.B., B.J. Tindall V.A.P. Martins Dos Santos D.H. Pieper, J.L. Ramos et N.J. Palleroni., 2006.** Nonmedical: Pseudomonas, p.646-703. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, et E. Stackebrandt (ed.), Prokaryotes, Springer, USA.
70. **Moore E.R.B., Tindal B.J., Martins Dos Santo V.A.P., Piepe D.H., Ramos J.L et Palleroni N.J. (2006).** Nonmedical :Pseudomonas. 646-703. In. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H et Stackebrandt E. Edition, Prokaryotes, Springer. USA.
71. **Nordlund D.A.,1996.** Biological control, integrated pest management and conceptual models. Biocontrol News Information.17 :35-44.
72. **P. Jourdheuil, P. Grison et A. Fraval ,** la lutte biologique un aperçu historique,2015.
73. **PALLERONI N.J., MIGULA N., 1984.** In : Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds), Bergey's Manuel of systematic Bacteriology , vol.I.Williams and Wilkins Co, Bltimore, USA :141-171.
74. **PHILIPPE J., DERVAL J ET KRIER F., 2013.**Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phyto-sanitaires chimiques (synthèse bibliographique).Biotechnol Argon, 220-232.
75. **ransfield, J., Uhl, N.W., Amussen, C.B., Baker, W.J., Harley, M. et Lewis, C.L. (2008b).** Genera Palmarum. The evolution and classification of palm. Royal Botanic Gardens, Kew publishing, Kew, UK.
76. **ROUXEL F., ALABOUVETTE C., ET LOUVET J.,1979.**Recherches sur la résistance des sols aux maladies. IV : Mise en évidence du rôle des Fusaruim

- autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. Ann. phytopatholol. 70:412-417.
77. **Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ et Dowling DN. (2008).** Bacterial endophytes: recent developments and applications. FEMS. Microbiol. Lett, 278: 19.
 78. **Saaidi, M. (1979).** Contribution à la lutte contre le Bayoud, fusariose vasculaire du palmier dattier. Thesis, University of Dijon, France.
 79. Sayad L., (2008). Qualité physicochimique et bactériologie des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux (wilaya de Taraf). Mémoire de Magister. Université Badji Mokhtar Annaba. Algérie. 125 p
 80. **SCHMUTTERER H., 1990.** Properties and potentials of natural pesticides from neem tree. Annu. Rev. Entomol. 35 :271-298.
 81. **Schroth M.N., Hildebrand D.C et Panopoulos N. (1992).** Phtopatogenic Pseudomonas and related plant associated Pseudomonas. In: The Prokaryotes (MP Balows, Ed), Springer- Verlag. New York. 3104-3131.
 82. **Scott, I.T., 1923.** The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of *Fusarium lycopersici* and on tomato wilt. Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin 64.
 83. **Sedra, M.H. et Zhar, N. (2010).** Genetic Variability Analysis of Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, Causal Agent of Bayoud Disease of Date Palm and Other *Fusarium oxysporum* Using Molecular Techniques. Acta Hort, 882: 491 - 504
 84. **Soltani A.A., 2010.** Plant Growth promoting Characteristics in Some *Flavobacterium* spp. Isolated from Soils of Iran. Journal of agricultural Science, 2(4), pp106-115.
 85. Stanier R.Y., Palleroni N.J et Doudoroff M. (1966). The aerobic *Pseudomonas*: a taxonomic study. Journal of General Microbiology. 43: 159-271.
 86. **Sturz A.V., Christie B.R. 2003.** Beneficial microbial allelopathies in the root zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. Soil & Tillage Research, 72: 107-123.

87. **Suty L, (2010).** La lutte biologique : vers de nouveaux équilibres écologiques. Edition: Quae, Technology and Engineering. 323p.
88. **TANTAOUI A ., 1989.** Contribution à l'étude de l'écologie du *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* agent causal du Bayoud. Densité et répartition de l'inoculum au sein du peuplement fusarien. D.E.S., University Cadi Ayyad, Marrakech, Morocco.239 p.
89. **Thakore, Y. 2006.**The biopesticide market for global agriculture use. *Ind. Biotechnol.* 2: 194-208.
90. **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.
91. **VAN DER HEIJDEN M.G.A., BARDGETT R.D., VAN STRAALEN N.M., 2009.** The useen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* 11: 296-310.



Annexes

Les Annexes

Les milieux de culture :

Annexes.01 : Milieu King B (**King et al ; 1954**).

- Peptone.....20 g
- Glycérol.....15
- K₂ HPO₄.....1,5 g
- Mg SO₄.....1,5 g
- Agar -Agar.....20 g
- Eau distillée q.s.q.....1000 ml

Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

Annexes.02 : Milieu Chapman

- Extrait de viande.....1g
- Nacl.....75g
- Peptone.....20g
- Mannitol.....10g
- Gélose.....20g
- Rouge de phénol.....0.25g
- Eau distillée q .s.p.....1000ml

Annexes.03 : Milieu Mannitol de mobilité (**Gardan et Luisetti, 1981**).

- Peptone20g
- Nitrate de Potassium1g
- Mannitol2g
- Rouge de Phénl.....40g
- Gélose.....4g.
- Eau distillé q.s.q1000Mml

Ajuster à un PH= 8,1. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

Annexes.04 : Milieu Citrate de Simmons (**Garden et Luisetti, 1981**).

- Sulfate de magnésium (Mgso4).....0, 2g
- Ammonium dihydrogenophosphate.....1g
- Phosphate dipotassique1g
- Citrate de Sodium..... 2g
- Chlorure de Sodium(Nacl)5g
- Bleu de bromothymol..... 0,08g
- Agar20g
- Eau distillée q.s.q1000ml

Ajuster à un PH= 6,6. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

Annexes.05 : Milieu de Gélatine (**Garden et Luisetti, 1981**).

- Extrait de levure3g
- Batéριοpeptone.....5g
- Gélatine.....120g
- Eau distillée q.s.q1000ml.

Ajustez à un PH = 6.8. Autoclavage 120°C pendant 20 mn.

Annexes.06 : Milieu de Clark et lubs (**Marchl et Bourdon, 1982**).

- Peptone tryptique ou polypeptone.....5 à 7g
- Glucose.....5g
- Phosphate bipotassique (K₂PO₄).....5g
- Eau distillé q.s.q.....1000ml

Ajuster à un PH= 7,2. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

Annexes.07 : Milieu TSI (Garden et Luisetti, 1981).

- Peptone20g
- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levure3g
- Chlorure de Sodium.....5g
- Citrate ferrique0.3g
- Thiosulfate de Sodium0.3g
- Lactose.....10g
- Saccharose.....10g
- Glucose1g
- Rouge de Phénol0.5g
- Agar -Agar2g.

Ajuster à un pH =7.4

Annexes.09 : Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (**Jonsthoon et booth, 1954**).

- Pomme de terre.....200g
- Dextrose(ou Glucose).....20g
- Agar-agar.....20g
- Eau distillée.....1000ml.

Annexes.10 : Milieu HCN (Cyanure d'Hydrogène) (Scheele, Gay-Lussac, 1782).

- Préparation de la solution d'acide Picrique à 0,5%
- Carbonate de sodium à 2%
- Milieu King B additionnée de 4,4g/l Glucine.
- Eau distillée ...q.s.p.....1000ml.