

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



UNIVERSITE MOULOUD MAMMERRI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de master en sciences agronomiques.
Spécialité : Production végétale

Thème

Etude de l'antagonisme in Planta de deux souches
de *Pseudomonas* spp. Fluorescents vis-à-vis de
Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici*.

Présenté par :

M^{ELLE} LOUNIS NAWAL

M^{ELLE} MANSOURI KATIA

Soutenu le 11/10/2022 devant le jury composé de :

Président : Mr. AIT SAID. S

Promoteur : Mme DAHOUMANE-LARBAOUI. A

Examineur : Mme TALEB TOUDERT. K

M.C.A

M.A.A

M.C.A

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Au nom de Dieu clément et miséricordieux qui par sa grâce, nous avons pu achever ce mémoire de fin d'étude.

*Nous tenons à adresser tout particulièrement et en premier lieu notre plus sincère remerciement à notre promotrice **Mme Dahoumane-Larbaoui Akila** pour avoir acceptée de nous encadrer. Vue les difficultés d'encadrement que nous avons rencontrées et pour tous les conseils techniques, les encouragements, les orientations qu'elle nous a prodiguées durant la préparation de notre mémoire.*

Qu'elle trouve ici notre profonde gratitude.

*A **Mr AIT SAID**, pour nous avoir fait l'honneur d'être notre président de jury. Sincères remerciements.*

*A **Mme TALEB TOUDERT**, pour avoir acceptée d'examiner notre travail. Sincères remerciements.*

Nous remercions également les employés de la bibliothèque universitaire et du tous le personnel de laboratoire pour leurs disponibilités

A tous nos enseignants pour avoir élargi nos horizons de savoir et de la connaissance dans le domaine de l'agronomie.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Pour terminer nous souhaitons exprimer nos remerciements ainsi que nous respect à tous le personnel de l'institut universitaire de Tizi-Ouzou.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A mes chers parents grâce à leurs tendres encouragements et leurs grands sacrifices, ils ont pu créer le climat affectueux et propice à la poursuite de mes études.

Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers eux. Je pris le bon dieu de les bénir, de veiller sur eux, on espérant qu'ils seront toujours fier de moi.

*A mes chers frères : **BOUSSAD** et **YACINE** et mes sœurs : **FATMA**, **LILIA**, et **GHANIA** qui me donnent le courage et l'esprit d'études.*

*A mon fiancé **SALAH**, qui a toujours été à mes cotés, dans les meilleurs moments ainsi que dans les pires, merci pour tout et bien plus encore. Que dieu te garde pour moi.*

*A ma chère promotrice **Mme Dahoumane-Larbaoui Akila**, pour sa patience, ses conseils pertinents et ses encouragements fournis tout au long de ce travail.*

*A ma copine et binôme **KATIA**, la plus douée des « bons à rien », que Dieu te révèle tel que tu es : Exceptionnelle.*

A tous mes collègues de la promotion 2021-2022.

A tous mes enseignements tous au long de mes études.

A tous ceux qui, par un mot m'ont donné la force de continuer...

NAWAL

Dédicaces

*Tout d'abord, je tiens à remercier **DIEU** de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.*

Je dédie cet humble travail à :

*A ma très **chère mère** quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*A mon **père** pour son soutien son affection et la confiance qu'il m'a accordé.*

*A mon, fiancé **Hamid** qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles. Ton amour ne m'a procuré que confiance et stabilité. Tu étais toujours à mes côtés, Je te remercie **de** ne m'avoir jamais déçu. Aucun mot ne pourrait exprimer ma gratitude, **mon** amour et **mon** respect.*

*A mon chère frère **Mouloud** et ma grande sœur **Warda** qui n'ont pas cessée de me conseiller, et m'encourager. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

*A ma petite sœur **Kenza** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille. Je te souhaite beaucoup de bonheur et la réussite dans tes études.*

*A ma grand-mère, mes oncles, mes tantes ma cousine **liza** et mes nièces **Manel et Yasmine**.*

A ma belle-mère, mes belles sœurs et mes beaux-frères.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

*A ma chère promotrice **Mme Dahoumane-Larbaoui Akila**, pour sa patience, ses conseils pertinents et ses encouragements fournis tout au long de ce travail.*

*Sans oublier ma chère binôme **Nawal** pour son soutien moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.*

katia

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale1

Partie I : Synthèse bibliographie

Chapitre I : Interaction Plante- microorganismes-sol

1 Rhizosphère et les bactéries rhizosphériques	3
2 Généralités sur les <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents	5
3 Taxonomie des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents	5
4 Effets bénéfiques des <i>Pseudomonas</i> spp. Fluorescents	6
4-1 Stimulation de la croissance des plantes	6
4-2 Résistance Systémique Induite (ISR)	7
4-3 Compétition pour l'espace et les nutriments.....	7
4-4 Antibiose	8
5 Mécanismes d'actions	8
5-1 La production des phytohormones.....	8
5-1-1 Production d'acide-indole-acétique AIA	9
5-2 La production des antibiotiques	9
5-3 Le cyanure d'hydrogène HCN	10
5-4 Production des sidérophores	10
5-5 Solubilisation du phosphore.....	11

Chapitre II : La fusariose vasculaire de la tomate

1 La plante hôte: Tomate(<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill).	13
1-1 Historique et origine de la tomate	13
1-2 Classification de la tomate	13
1-3 Description botanique de la tomate	14
1-4 Principales exigences écologiques et climatiques de la tomate.....	15
1-5 Importance économique de la tomate	16
1-5-1 Dans le monde	16
1-5-2 En Algérie.....	18
1-6 Principales maladies de la tomate	19
2 La fusariose vasculaire de la tomate	23
2-1Généralité sur la fusariose vasculaire de la tomate	23
2-2 Symptômes de la fusariose vasculaire sur tomate	24

2-3 L'agent pathogène de la fusariose vasculaire “ <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ”	25
2-3-1 Classification de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	25
2-3-2 Identification de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	26
2-3-3 Cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	27
3 Lutte contre les maladies fusariennes	28

Partie II : Matériel et méthodes

1 Matériel biologique	31
1-1 Isolats fongiques	31
1-2 Souches bactériennes	31
1-3 Matériel végétal	31
1-4 Substrat	31
2 Caractères morphologiques des souches bactériennes	32
2-1 Caractérisation macroscopique	32
2-2 Caractérisation microscopique	32
2-3 Caractérisation biochimique	33
3 Mise en évidence de la production de l'acide cyanhydrique (HCN)	36

Partie III : Résultats et Discussions

1 Caractérisation des isolats bactériens	37
1-1 Caractérisation macroscopique (morphologique)	37
1-2 Caractérisation microscopique	37
1-3 Caractérisation biochimique et physiologique	38
2 Production de l'acide cyanhydrique (HCN)	39
Conclusion générale	41

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 01 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay., 2015)	3
Figure 02 : Histogramme de Production de tomates transformées au niveau des pays membres de l'AMITON : (WPTC 2021) (2019-2021)	17
Figure 03 : Courbe d'évolution de la transformation mondiale de la tomate (1990-2022)	17
Figure 04 : les quantités produites de la tomate en Algérie (1989-2021)	18
Figure 05 : Symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate causés par FOL (Blancard, 2009)	24
Figure 06 : Identification de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Sacc.)	26
Figure 07 : Cycle de la maladie flétrissement vasculaire causée par <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> chez la tomate (Agrios, 2005)	27
Figure 08 : Production de pigment fluorescent par les deux souches bactériennes S20 et CH sur le milieu B de King	37
Figure 09 : Observation sous microscope optique des deux souches CH et S20 au G : 10×100	37
Figure 10 : Galerie biochimique des souches bactériennes S20 et CH	38
Figure 11 : Culture bactériennes sur milieu Chapman	39
Figure 12 : Production d'HCN par la souche S20 et CH après 3 jours d'incubation.....	40

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification des <i>Pseudomonas spp.</i> Fluorescents	5
Tableau 02 : Classification de la tomate Dupont et Guignard, (2012) et Spichiger et al, (2004)	14
Tableau 03 : Les principales maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010)..	19
Tableau 04 : Les principales maladies fongiques de la tomate (Causse et al, 2000 ; Naika et al., 2005)	20
Tableau 05 : Les ravageurs de la tomate (Ziris .2011)	22
Tableau 06 : Classification de <i>Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici</i> (Agrios., 1998)	25
Tableau 07 : Caractéristiques physico-chimiques du sol.....	32
Tableau 08 : Résultats des tests biochimiques de souches de <i>Pseudomonas spp. Fluorescent</i> isolées	45

Liste des abréviations

CHAO : *P. fluorescens* CHAO.

RM : le rouge de méthyle

VP : le Voges Proskauer

PDA: potato dextrose agar.

ISR: induced systemic resistance.

KB:milieu B de King.

H : Heure

C° : Degré Celsius

g : gramme

ml : Millilitre

µm : Micromètre

cm : centimètre

PVK : milieu Pikovskaya.

UFC: unité formant colonie.

PGPR: Plant Growth Promoting Rhizobacteria

% : pourcentage

Nacl : Le **chlorure de sodium**

FOL: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

AIA : l'acide indole-3-acétique

HCN : cyanure d'hydrogène.

Mevag : Mise en évidence de la voie d'attaque du glucose.

CO2 : dioxyde de carbone

Introduction générale

Tout au long de leur cycle de vie, les plantes et les agents pathogènes interagissent avec une grande variété d'organismes ; ces interactions peuvent affecter la santé des plantes d'une manière positive et/ou négative (Corbaz, 1990 ; Nakkeeran et al., 2005). L'inquiétude envers les maladies phytopathogènes devient de plus en plus grave du fait de l'extension des cultures intensives (Seitz et al., 1982 ; Alderman et al., 1996). On estime que près de 50% de la production agricole mondiale est perdue avant et après la récolte.

La tomate (*Solanum lycopersicum*) fait partie de la grande famille des solanacées est considérée comme premier légume après la pomme de terre et deuxième ressource alimentaire mondiale après les céréales. Elle est adaptée à des conditions de culture très variées et destinée à la consommation en frais ou à la transformation industrielle (Causse et al., 2000).

Dès la levée et pratiquement jusqu'à la récolte, la production de tomate est confrontée à plusieurs problèmes majeurs notamment d'ordre phytosanitaire, parmi les différents bio-agresseurs de cette plante, les champignons phytopathogènes occupent la première place dont le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent de la fusariose vasculaire de la tomate. Cette dernière est parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, provoquant des pertes appréciables dans les cultures. En fait, la tomate est très sensible à ces microorganismes mais des rendements acceptables peuvent être obtenus si l'on pouvait réduire les pertes dues à ces bio-agresseurs en utilisant des moyens respectueux de l'environnement et de la santé du consommateur.

Pour faire face à ces problèmes, des solutions alternatives sont donc recherchées. De nouvelles stratégies biotechnologiques ont pour but d'introduire des microorganismes bénéfiques afin de stimuler les capacités défensives naturelles des plantes et d'interférer avec les mécanismes employés par les bioagresseurs. La compréhension des bases moléculaires des systèmes de défense des plantes et des stratégies des attaques microbiennes a ouvert de nouvelles voies pour une agriculture durable et plus respectueuse de l'environnement (Gust et al., 2010).

Le contrôle biologique des maladies telluriques par l'introduction de microorganismes bénéfiques dans la rhizosphère est proposé comme une solution de rechange ou complémentaire à l'utilisation des produits chimiques de synthèse. Certaines bactéries associées aux plantes (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ont été exploitées comme des inoculants pour l'induction de la résistance systémique chez les plantes, le biocontrôle, la biofertilisation et la phytostimulation (Choudhary et al., 2009). Parmi ces bactéries les *Pseudomonas* spp.

Fluorescents font l'objet d'une attention particulière, un groupe de bactéries très répandues et diversifiées qui colonisent de nombreuses niches écologiques et dont quelques grammes ou milligrammes/ha suffisent pour l'amélioration du rendement (**Raaijmakers et al., 1995**). Elles sont connues comme promotrices de la nutrition et la croissance des plantes par la solubilisation de minéraux comme le phosphore ou par la production de sidérophore. Elles peuvent modifier la morphologie et la physiologie racinaire par la production de régulateurs de croissance. Elles peuvent également augmenter le niveau de résistance des plantes aux maladies diverses grâce à leur activité antagoniste vis-à-vis de pathogènes (**Lemanceau, 1992**). Pour la majorité d'entre eux la production des métabolites secondaire tels des antibiotiques, constitue le mécanisme primaire de biocontrôle (**Waller et Thomashow, 1993**). Aussi des études ont démontré que la glycine est le précurseur métabolique immédiat du HCN chez les protéobactéries incluant *Pseudomonas* sp. (**Blamer et amp; Haas 2000**)

Notre étude consiste à mettre en évidence la capacité des souches CH et S20 à produire l'acide cyanhydrique dans le milieu King de B additionné de la glycine. Un essai est réalisé en microcosmes afin de pouvoir évaluer l'aptitude rhisosphérique des souches bactériennes.

Egalement, une étude sur l'effet antagoniste des souches bactérienne S20 et CH de *Pseudomonas* spp. Fluorescents) vis-à-vis *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* agent pathogène de la fusariose vasculaire, a été effectuée par des essais réalisés *in situ*.

Chapitre I

Interaction Plante- microorganismes-sol

1 Rhizosphère et les bactéries rhizosphériques

Le sol est la partie superficielle de l'écorce terrestre, plus ou moins tendre et friable, qui est le résultat de l'action conjuguée des altérations des roches mères du sous-sol et de la décomposition de la matière organique sous l'effet de divers facteurs (climats, nature de la roche mère, activité biologique...) (**Bouras., 2014**). Il existe une zone où les relations entre plantes et microorganismes sont particulièrement actives ; c'est la rhizosphère.

Le terme « rhizosphère » dérive d'un mot grec « Rhizo » = racine et « Sphère » = champs d'influence (**Morgan et al., 2005**). Il a été utilisé la première fois en 1904 par le microbiologiste et agronome bavarois Lorenz Hiltner pour désigner la zone du sol influencée par les racines et leurs microorganismes associés (**Garbaye, 2013**).

La rhizosphère est la fraction du sol qui entoure les racines des plantes qui est sous l'influence des exsudats racinaires, c'est le lieu d'interaction entre le sol, la plante et les microorganismes qui s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire (**Kennedy et de Luna, 2004**).

La rhizosphère est divisée en trois zones ; l'endorhizosphère (la partie de l'endoderme, le cortex radiculaire et l'espace apoplastique entre les cellules) ; rhizoplan (la surface de la racine) ; et ectorhizosphère (la zone s'étendant du rhizoplan au sol en vrac) (**Mcneer, 2013**).

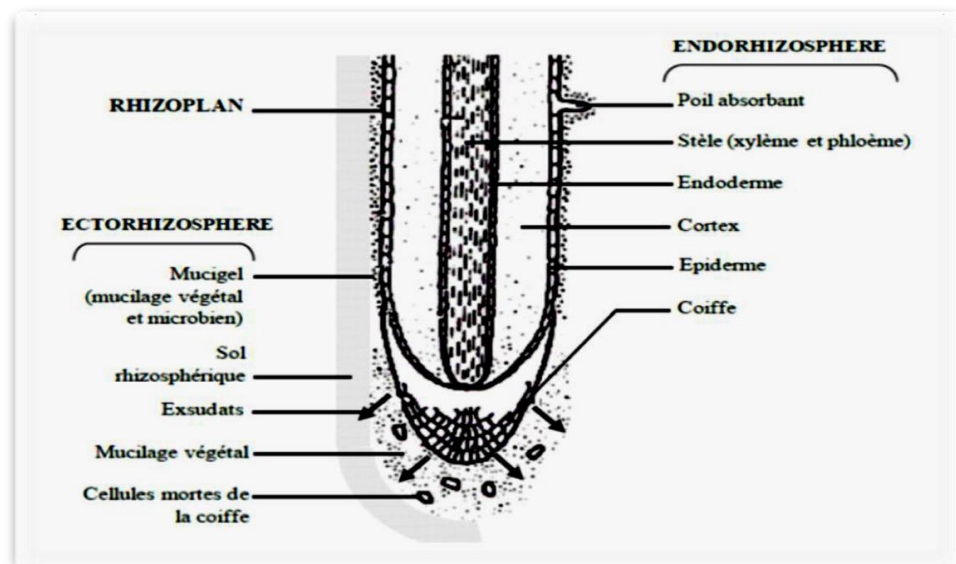


Figure 01 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère (**Lepinay., 2015**).

La rhizosphère est composée du sol, d'eau, de dépôts (exsudats et mucilages) et Microbiotes (bactéries, champignons, algues). Le pH est un facteur abiotique qui conditionne et caractérise le fonctionnement de la rhizosphère, sa valeur entraîne l'inactivation des enzymes présentes dans les micro-organismes et perturber la fixation des minéraux nutritifs. D'une autre part, l'eau joue un rôle important dans les interactions rhizosphériques, liée directement à la porosité du sol et son potentiel est contrôlé par les micro-organismes qui améliorent l'aération et la capacité d'infiltration du sol. En relation aux dépôts, les plantes libèrent des produits photosynthétiques de faible poids moléculaire par leurs exsudats radicaux, qui favorisent la diversité et la croissance microbiennes dans la rhizosphère. Ces composés organiques attirent les micro-organismes à la surface des racines et fournissent une source de nourriture et d'énergie.

Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires de manière bénéfique de la plante. Ces bactéries de la rhizosphère sont alors reprises sous le terme Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) provenant de l'anglais « Plant Growth Promoting Rhizobacteria » désigne les bactéries qui exercent un effet bénéfique sur la croissance et le développement des plantes par différents moyens (**Abnatura., 2013**).

Dans les dernières décennies, l'utilisation des PGPR est devenue une alternative pour améliorer la production agricole (**Vargas et al., 2009**) peuvent coloniser les racines et exercer des effets bénéfiques sur la croissance des plantes par différents mécanismes (**Nelson, 2004**). Grâce à leur pouvoir adapté aux conditions rhizosphériques et leurs mécanismes d'action bénéfiques, ces rhizobactéries améliorent le développement des systèmes racinaires, augmentent la capacité d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs (**Siddiqui, 2003**) renforcement des capacités défensives des plantes contre les maladies, elles affectent positivement la levée des semences et améliorent le rendement des cultures. Parmi elles, nombreuses souches appartiennent aux genres : *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Erwinia*, *Agrobacterium*, *Flavobacterium*, *Rhizobium*. Egalement les bactéries du genre *Pseudomonas* spp. Fluorescents présente un groupe hétérogène bénéfiques de la rhizosphère (**Soltani, 2010**).

2 Généralités sur les *Pseudomonas* spp. Fluorescents

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents, sont des bactéries, saprophyte, ubiquistes particulièrement abondantes dans les sols au niveau des rhizosphères, sur les végétaux et dans l'eau. Elles possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique.

Les *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, bâtonnets, droits et fins 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, mobiles grâce à un ou plusieurs flagelles polaires « ciliature polaire » (**Garrity, 2005**). Elles se cultivent facilement au laboratoire et sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme sources de carbone et d'énergie. Elles présentent un type respiratoire aérobie strict et un type métabolique chimio-organotrophe oxydatif et peuvent utiliser H₂ comme source d'énergie et n'ont pas besoin de facteurs de croissance pour se multiplier. Le genre *Pseudomonas* comprend des espèces fluorescentes qui ne se cultivent pas à 37°C alors que la température de 30°C convient à tous, pathogènes et saprophytes. Elle produisant des pigments spécifiques dont les deux pigments les plus fréquents et caractéristiques sont la pyocyanine et la pyoverdine qui sont solubles dans les milieux de culture. Les espèces pigmentées sont par exemple : *P. aeruginosa* produit les deux pigments, mais pouvant être perdus par mutation. *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. syringae*, et *P. cichorii* produisent de la pyoverdine et *P. aureofaciens* : produit un pigment jaune orange ou pourpre. Certaines souches sont apigmentées tel que *P. alcaligenes*, *P. stutzeri*. (**Martin, 2007**).

3 Taxonomie des *Pseudomonas* spp. Fluorescents

Selon (**Palleroni, 1984 ; Holt et al.,1994**) les *Pseudomonas* sont classés :

Tableau 1 : Classification des *Pseudomonas* spp. Fluorescents

Phylum	Proteobacteria
Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>

La classification des *Pseudomonas* spp. Fluorescents reste toujours controversée, surtout dans le cas des espèces présentant des biotypes ayant des caractéristiques taxonomiques intermédiaires entre diverses espèces connues. Parmi les diverses espèces qui constituent ce grand groupe taxonomique on cite : *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens* que l'on retrouve majoritairement dans la rhizosphère qui se subdivisent respectivement en plusieurs biovars. Pour cela la majorité des auteurs pour les designers, utilisent le groupe « *Pseudomonas* spp. Fluorescents ou Groupe *Pseudomonas flurescens-Putida* (Defago et Haas et al., 1990)

4 Effets bénéfiques des *Pseudomonas* spp. Fluorescents

L'association des bactéries du genre *Pseudomonas* aux différentes espèces végétales cultivés induit deux types de réactions qui peuvent mener à une situation de déséquilibre métabolique causant une maladie chez les plantes hôtes sensibles ou alors à des interactions mutualistes très largement répandu parmi les bactéries à effet PGPR, promoteur de la croissance des plantes, via l'amélioration de la santé des plantes et l'induction de la résistance systémique contre plusieurs agents phytopathogène de sol par leurs actions antagonistes ce qui engendre l'augmentation de rendement des cultures. D'autres effets bénéfiques ont été décrits sont conférés pour leurs rôle dans la dégradation de certaines substances xénobiotiques dans le sol.

4-1 Stimulation de la croissance des plantes

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes. De nombreux travaux font état d'une stimulation de la croissance des plantes et du rendement des cultures après bactérisation. Des études ont été réalisées avec des plantes hôtes et des conditions expérimentales variées. Il apparaît clairement que l'augmentation de rendement, observée en conditions normales de production, est toujours inférieure à l'augmentation de croissance des plantes cultivées en conditions contrôlées (Lemanceau. 1992). La sécrétion de certains régulateurs de croissance telle que les cytokinines, l'Acide-Indole- Acétique (AIA), l'acide gibbéréllique, l'éthylène, ont un effet important sur la stimulation de la croissance des plantes.

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont la particularité de solubilisé certains éléments nutritifs de sol comme le phosphore par la sécrétion d'enzyme phosphatase ce qui favorise l'augmentation de leurs concentrations sous sa forme assimilable HPO_4^{2-} et H_2PO_4^- , cela engendre une meilleure croissance des plantes. Comme elles peuvent être stimulée par certain métabolite améliorant l'alimentation de plante telle que les sidérophores qui sont des molécules chélatrices du fer.

Aussi, certaines souches appartenant au groupe des *Pseudomonas* spp. Fluorescents, semblent améliorer la germination des graines lorsque les conditions environnementales sont défavorables. Ainsi, **Kloepper et al, (1989)**, ont démontré que le taux de germination des graines de colza, semés dans un sol froid et battant, pouvait être significativement augmenté grâce à l'inoculation préalable de ces souches. De même **Höfte et al (1991)**, ont enregistré une augmentation significative du taux de germination de semences de maïs soumises au froid après inoculation de deux souches de *Pseudomonas* Fluorescents. L'une d'entre elles a, de plus, permis de maintenir le pourcentage de germination d'un lot de semences âgé de 2 ans au même niveau que celui uniquement âgé de 1 an.

4-2 Résistance Systémique Induite (ISR)

La résistance systémique induite ISR ou (Induced Systemic Resistance) est une réaction de défense initiée par la plante suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries bénéfiques telle que les bactéries à Gram négatif les plus étudiées dans ce contexte qui appartiennent au genre *Pseudomonas* ou des bactéries Gram positive, elle peut stimuler le système immunitaire des plantes et leur permettre une résistance contre certaines agressions causées par des organismes pathogènes.

Lors de ce phénomène, des rhizobactéries peuvent conférer à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation de mécanismes de défense systémique. Cette « immunité » s'initie suite à la perception par la plante de molécules dites « élicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire. Ce phénomène fait appel à la reconnaissance par l'hôte d'éliciteurs produits par l'agent inducteur à l'émission d'un signal requis pour propager l'état induit de manière systémique et à l'expression de mécanismes de défense sensu stricto qui permettent de limiter la pénétration du pathogène dans les tissus de la plante.

Ainsi, la transmission du signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial (**Glazebrook et al., 2003**). Cependant, ces voies s'interpénètrent et agissent avec d'autres mécanismes pour former un réseau de régulation modulable permettant à la plante d'initier une réponse défensive spécifique en fonction de la nature du pathogène, qu'il soit virus, bactérie, champignon, insecte ou nématode (**De vos et al., 2005**).

4-3 Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par des rhizobactéries, qui peuvent aussi éliminer les pathogènes

fongiques par une compétition qui s'exprime surtout par rapport au fer, élément indispensable au métabolisme des organismes aérobies. La compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme biologique, présente l'interaction indirecte dans laquelle les pathogènes présents dans la rhizosphère sont en concurrence les uns avec les autres pour la nourriture. L'environnement de la rhizosphère est souvent limité en nutriments, et pour que les microbes réussissent à coloniser et à survivre, ils occupent les sites où l'eau et les nutriments sont assimilables et sécrètent des sidérophores qui ont une forte affinité avec le fer, en le rendant moins disponible aux pathogènes et en inhibant leur croissance dans la rhizosphère d'une part et favorisant celles des plantes d'une autre part.

4-4 Antibiose

L'antibiose est généralement la production des antibiotiques qui sont responsables de la protection biologique contre les maladies, ils manifestent des propriétés antagonistes à l'encontre de différents champignons telle que (*Fusarium Alternaria, Cladosporium, Diplodia, Helminthosporium, Pyricularia, Pythium, Rhizoctonia*). La production d'antibiotiques est un mécanisme extrêmement efficace des rhizobactéries pour inhiber les infections pathogènes dans la rhizosphère des plantes (**Hakim et al., 2021**). Les antibiotiques sont des toxines de bas poids moléculaire produites par les communautés bactériennes qui peuvent tuer et/ou empoisonner d'autres microbes. Cependant, plusieurs antibiotiques et des toxines ont été identifiées à partir de la population bactérienne vivant dans la rhizosphère (**Tabassum et al., 2017**).

5 Mécanismes d'actions

Les souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents influence sur la croissance d'une façon directe ou indirecte par la réduction des maladies de sol par la sécrétion des régulateurs de croissance tel que l'acide-indole-acétique, la synthèse des antibiotiques et les sidérophores, elles facilitent aussi l'absorption des nutriments (la solubilisation du phosphore).

5-1 La production des phytohormones

La production des phytohormones par les PGPR est considérée comme l'un des mécanismes les plus importants qui peuvent avoir des effets bénéfiques sur la croissance végétale et le développement des plantes (**Moore, 2012**). Ce sont des petites molécules de signale produites en très faible concentration, elles agissent comme des messagers chimiques influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes (**Han et al., 2005 ; Kloepper et al., 2007 ; Martinez Viveros 1 et al., 2010**). Les hormones bactériennes stimulent le développement du système racinaire et la croissance globale de la

plante grâce à la grande sensibilité des racines aux hormones (**Bashan et Holguin, 1997 ; Vessey, 2003**). Il existe cinq catégories des régulateurs de la croissance végétale : les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, l'éthylène et l'acide abscissique (**Zahir et al., 2004**).

5-1-1 Production d'acide-indole-acétique AIA

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents peuvent stimuler la croissance des plantes en produisant de l'acide indole 3-acétique (AIA) (**Patten et Glick, 2002**), qui constitue une hormone primordiale pour le développement des plantes et l'une des principales raisons de l'augmentation du rendement (**Khakipour et al., 2008**). Il joue un rôle très important dans l'élongation des racines et dans la prolifération des poils absorbants (**Spaepen et al., 2007**). Il implique dans l'initiation de la division des cellules au niveau des racines et de leurs élargissements. 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**), ainsi que d'autres composés voisins, par un grand nombre de microorganismes rhizosphériques (**Davet, 1996**).

L'analyse du rôle de l'AIA montre que 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**).

5-2 La production des antibiotiques

La synthèse des antibiotiques est un mode d'action indirecte chez les *Pseudomonas* spp. Fluorescents pour promouvoir la croissance des plantes. Ils consistent à éliminer les agents phytopathogène d'origine telluriques par antibiose. Certaines de ces molécules sont de véritables antibiotiques, qui jouent un rôle important dans l'inactivation des facteurs de germination du pathogène ou la dégradation de leurs facteurs de pathogénécité comme les toxines (**Benmati, 2014**).

Des recherches ont été mises en évidence *in vitro* de quelques souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents qui portent des gènes impliquée dans la synthèse des antibiotiques par l'utilisation la technique de PCR. Ainsi, plusieurs métabolites à effet antibiotiques tels que : le 2,4- diacéthylephloroglucinol (DAPG), Les phénazines (PHZ), la pyrrolnitrine (PRN), la pyolutéorine (PLT) et le Cyanure d'hydrogène (HCN), la tropolone, l'oomycine, des viscosinamides, des tiensines et des amphisines, ont été isolés à partir de ces bactéries.

5-3 Le cyanure d'hydrogène HCN

Le cyanure d'hydrogène HCN est une flavoprotéine membranaire qui catalyse la formation de cyanure d'hydrogène et de CO₂ à partir de la glycine (La glycine est un acide aminé considéré comme le meilleur précurseur de la production des cyanides chez les microorganismes (**Askeland et Morrison, 1983**). Le cyanure d'hydrogène (HCN) est un métabolite secondaire produit par les protéobactéries impliqué dans la suppression d'agents pathogènes (**Laville et al, 1998**). En effet La production d'HCN a été mise en évidence chez plusieurs souches de *Pseudomonas spp.* Fluorescents (**Askeland et Moeisson ,1983**) dont la souche CHAO, qui jouent un rôle important dans la limitation du développement des pathogènes telluriques (**O'sullivanet O'gana, 1992**) et qui assure un rôle bénéfique pour la plante par son effet antagoniste contre les maladies des racines (**Defago et Haas, 1990**).

La production d'HCN par les *Pseudomonas* est impliquée dans la suppression d'agents pathogènes comme *Thielaviopsis basicola*, *Septoria tritici* et *Puccinia recondita* (**Ramette et al. 2003**). Le composé agit directement sur les cellules de l'agent pathogène en bloquant le cytochrome oxydase dans la chaîne respiratoire. Cependant, en plus d'une activité protectrice, le HCN peut également être nocif pour la plante.

Au niveau de l'adaptation à la rhizosphère, la production d'HCN peut être avantageuse pour acquérir des nutriments. Par exemple, le HCN cause une augmentation de l'exsudation de nutriments par les tissus de la plante (**Ellis et al., 2000**). Comme il peut aussi contribuer à l'acquisition de certains ions métalliques en formant des complexes avec ceux-ci (**Blumer et al. 2000**).

5-4 Production des sidérophores

Les Micro-organismes ont la capacité de synthétiser des composés s'appropriant les ions ferriques présents dans la rhizosphère et les rendent ainsi indisponibles pour les champignons pathogènes entraînant ainsi une diminution de sa croissance. Bien que le fer soit l'un des minéraux les plus abondants sur terre. La quantité de fer soluble dans le sol est beaucoup trop faible soit environ 10-18M à pH 7,4, Pour acquérir de façon efficace le fer, les bactéries ont développé différentes stratégies de capture du métal qui dépendent de sa disponibilité dans l'environnement, de sa nature (ionique, hémique), et de son degré d'oxydation (**Schalk IJ., 2013, Cornelis P et al., 2013**). Lorsque le fer est en quantité limitée, les bactéries produisent et sécrètent des sidérophores. Ce sont des molécules de faible poids moléculaire, sécrétées par les bactéries dans leur environnement et capables de chélater avec haute affinité le fer ferrique Fe³⁺ (**Crumbly et al., 2002, Hider, Kong., 2010**). Les complexes

sidérophores Fe^{3+} sont ensuite récupérés par la bactérie grâce à des transporteurs membranaires spécifiques (**Hider, Kong., et al 2013, Schalk et al., 2012**). Dans la bactérie, la dissociation du fer de son chélateur nécessite en général une réduction du fer Fe^{3+} en fer Fe^{2+} et une dégradation ou une modification chimique du sidérophore le rendant moins affiné pour le métal (**Schalk IJ, Guillon L., 2013**).

Cependant il existe une grande diversité de sidérophores bactériens avec plus de 500 chélateurs identifiés à ce jour, de structures chimiques différentes dont les pyoverdines qui sont des sidérophores complexes, produites par les *Pseudomonas fluorescens* (**Ravel et Cornelis, 2003**). Ces composés améliorent l'apport du fer à la plante. Les bactéries de la rhizosphère produisent ces composés pour augmenter leur potentiel de compétitivité et leur activité antimicrobienne. Les bactéries productrices de sidérophore renforcent la santé de la plante à différents niveaux : elles augmentent la nutrition en fer, inhibent la croissance de microorganismes par production d'antibiotiques et empêchent la croissance des microorganismes phytopathogènes en limitant le fer disponible. Habituellement, ce sont les champignons qui sont incapables d'assimiler le complexe sidérophore-fer, par conséquent, leur croissance est inhibée par les bactéries productrices de sidérophore. De plus ces bactéries interviennent aussi dans la diminution de l'utilisation des pesticides et des fertilisants par les plantes (**Khan et al., 2009 ; Solano et al., 2009**).

5-5 Solubilisation du phosphore

La solubilisation des phosphates est l'une des fonctions qui est devenue un sujet de recherche en raison de son importance pour l'agriculture. Le phosphore (P) fait partie des trois éléments majeurs pour la croissance des végétaux. Il est impliqué dans les premiers stades de développement de la plante, joue un rôle primordial dans tous les processus métaboliques majeurs dans les plantes y compris la photosynthèse, le transfert d'énergie, la transduction du signal, la biosynthèse macromoléculaire et la respiration (**Khan et al., 2010**).

La solubilisation des phosphates est qualitativement évaluée en milieu Pikovskaya selon la méthode décrite par Mehta et Nautial (2001) In Mezaache-Aichour (2012). Dans notre environnement, le phosphore se retrouve sous deux formes majeures : Le phosphore inorganique (Pi) et Le phosphore organique (Po). Cette réserve naturelle non disponible ne permet donc pas de couvrir pleinement les besoins en phosphore des plantes.

75 à 90 % du phosphore contenu dans les engrais peut être instantanément immobilisé par les différents constituants du sol, et ne profitent ainsi pas à la culture en place. Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99 % de présents sous la forme insoluble,

immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles : les ions monobasiques (H_2PO_4) et basique (HPO_4^{2-}) (**Govind et al., 2015**).

La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du phosphore insoluble en phosphore soluble, En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles. Cette dernière se fait sous l'action des acides organiques de faible poids moléculaire (**Ahemad et Kibret, 2013**) et de différentes phosphatases (**Glick, 2012**) synthétisés par certaines bactéries du sol appartenant aux genres : *Azotobacter* spp., *Bacillus* spp., *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Flavobacterium* spp., *Microbacterium* spp., *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. Et *Rhizobium* spp. (**Bhattacharyya et Jha, 2012**). La présence de ces bactéries dans le sol augmente la quantité d'ions différents, l'un d'eux étant le phosphore qui, lorsqu'il est hydrolysé par des enzymes, facilite la mobilité de cet élément dans le sol et le transforme en un composé accessible pour la plante.

Chapitre II

La fusariose vasculaire de la tomate

1 La plante hôte : Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

1-1 Historique et origine de la tomate

La tomate *Lycopersicon esculentum* Miller est une plante herbacée annuelle, appartient à la famille des solanacées, cultivée pour son fruit, originaire des régions Andines côtières du Nord-Ouest de l'Amérique du Sud, dans une zone allant du Sud de la Colombie au Nord du Chili et de la côte Pacifique, aux contreforts des Andes (Equateur, Pérou).

Chaux et Foury (1994) à rappellent que le genre *Lycopersicon* comprend neuf espèces, dont une seule espèce *Lycopersicon esculentum* sous sa forme sauvage *ceraciforme* (tomate cerise) pourrait être directement à l'origine de nos variétés, a émigré vers le Sud de l'Amérique du Nord. C'est au XVIème siècle au Mexique actuel que la tomate à gros fruits a été découverte et domestiquées en premier. Les indigènes l'appelaient « Tomati », ce nom provient d'un nom Aztèque « Zitomate », où l'ont trouvé les Conquistadors Espagnols lors de la conquête de Tenochtitlan (Mexico) par Hernan Cortés en 1519 (**Boutoumou et Boumaza, 2016**). Elle fut introduite en Europe au XIVème siècle par les Espagnols, Depuis le mi 16ème siècle, les tomates ont été cultivés et consommées en Europe du Sud, mais ils ne se sont pas répandues en Europe du nord-ouest jusqu'à la fin du 18 ème siècle. Au 17ème siècle les européens ont introduit la tomate à la Chine, au sud et l'Asie orientale et dans le 18ème siècle au Japon et aux USA (**Atherton, 2005**).

1-2 Classification de la tomate

En 1753, le botaniste Linné Swidish l'a nommé *Solanum lycopersicon*, mais 15 ans plus tard Philip Miller a remplacé le nom donné par Linné avec *Lycopersicon esculentum* (**Valimunizigha, 2006**).

Le nom du genre *Lycoperessicom* est un composite gréco- latin, il signifie « pêche de loup ». Le nom *esculentum* vient du latin, il signifie « comestible ». Selon **Dupont et Guignard, (2012)** et **Spichiger et al, (2004)** la tomate appartient à la classification suivante :

Tableau 02 : Classification de la tomate Dupont et Guignard, (2012) et Spichiger *et al*, (2004).

Règne	Plantae
Sous-règne	Trachenobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida.
Sous classe	Asteridae
Ordre	Soloniales
Famille	Solanaceae
Genre	<i>Lycopersicum</i>
Espèce	<i>esculentum</i> Miller

1-3 Description botanique de la tomate

La tomate est une plante herbacée annuelle, appartenant au groupe des légumes-fruits est caractérisée par :

- **Racines**

Forte racine pivotante qui pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices (Shankara, 2005).

- **Tiges**

Les tiges sont vertes, épaisses aux entre-nœuds, poussent jusqu'à une longueur de 2m Elles disposent de deux types des poils blanchâtres : des poils simples et des poils glanduleux qui contiennent une huile essentielle, qui donne l'odeur de la tomate et la coloration verte.

- **Feuilles**

Les feuilles sont disposées en spirale de 15 à 50 mm de long et de 10 à 30 mm de large avec un pétiole mesurant entre 3 et 6 cm de long. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires.

- **Fruit**

Le fruit de la tomate est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15cm. En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés.

- **Graines**

Les graines sont nombreuses : en forme de rein ou de poire, elles sont poilues, beiges, de 3 à 5 mm de long et de 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. Mille graines environ pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (**Naika et al., 2005**).

- **Fleurs**

Les fleurs sont bisexuées, régulières de 1,5 et 2 cm de diamètre. Elles poussent opposées aux feuilles ou entre elles. Le tube du calice est court et velu, les sépales sont parfois persistants.

1-4 Principales exigences écologiques et climatiques de la plante

Le *Lycopersicum esculentum* Mill a des exigences particulières envers les conditions de l'environnement (sensibilité au froid et au gel, les vents chauds et la température élevée (**Polese, 2007**))

- ❖ **Sol**

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention de l'eau et une bonne aération. Elle préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées (**Boutoumou et Boumza, 2016**). La tomate tolère modérément un large intervalle de valeurs du pH, mais pousse le mieux dans des sols où la valeur du pH varie entre 5,5 et 6,8 et où l'approvisionnement stimule une bonne croissance (**Shankara, 2005**).

- ❖ **La température**

La tomate demande un climat sec et frais, avec une température optimale variant de 21° C à 24 °C pour fournir une bonne récolte. Par ailleurs les plantes peuvent supporter un certain intervalle de températures, mais en-dessous de 10°C et au-dessus de 38°C, les tissus des plantes seront endommagés dans ce cas.

❖ La lumière

La tomate étant une plante exigeante en énergie lumineuse, il est donc important de maintenir une longueur appropriée d'obscurité afin de contrôler sa croissance et son développement. De plus, l'intensité de la lumière affecte la couleur des feuilles, la mise et la couleur des fruits (Cirad, 2002).

❖ Eau et humidité

La plante est très sensible à l'hygrométrie, elle ne tolère pas les sols engorgés ni un taux d'humidité élevé (plus de 80%) et une hygrométrie relativement ambiante de 60% à 65% est la meilleure pour la fécondation. En effet, l'humidité trop élevée accompagnées de la chaleur favorise le développement des maladies cryptogamiques. Il est essentiel de prévoir un apport d'eau suffisant, le stress causé par une carence d'eau et les longues périodes arides fait tomber les bourgeons et les fleurs et provoque le fendillement des fruits.

1-5 Importance économique de la tomate**I.5.1. Dans le monde**

La tomate est le légume le plus consommé dans le monde après la pomme de terre, soit frais soit après transformation (Blancard 2009). La culture de la tomate est très importante dans le secteur économique vu son revenu et son importance nutritionnelle. Elle est cultivée dans plus de 130 pays sur une surface avoisinante 2,5 millions Ha sous toutes les latitudes dans des conditions très variées.

Le 21 octobre 2021, les prévisions de transformation de tomate à l'échelle mondiale sont estimées à 38 708 (MT), dont 18774 (MT) proviennent des pays membres du WPTC (World Processing Tomato Council). (1)

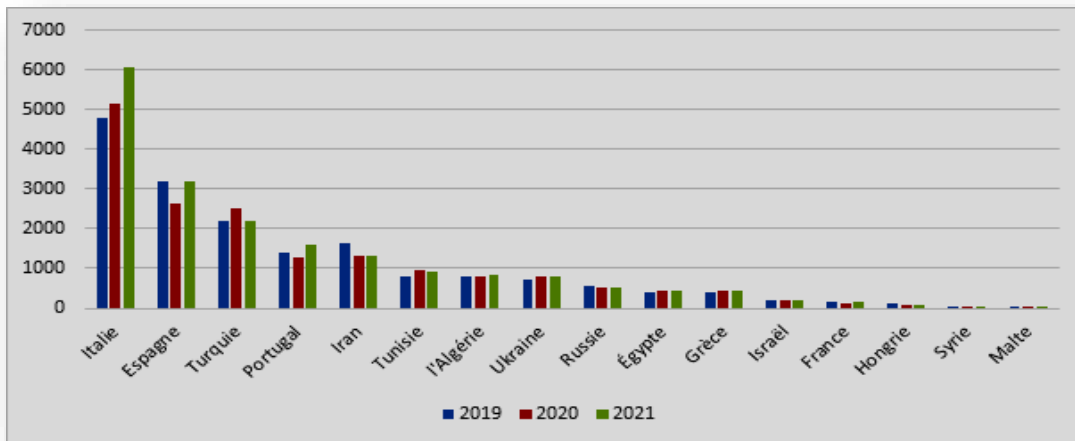


Figure 02 : Histogramme de Production de tomates transformées au niveau des pays membres de l'AMITON : (WPTC 2021) (2019-2021) (1)

La production annuelle de tomate a été estimée à 1.1 million de tonnes contre 1.2 million de tonnes en 2020, soit un rendement de 65tonne/ha. Au niveau de la transformation la campagne 2021 a été clôturée par la transformation de 926 000 tonnes de tomates fraîches, permettant la production de 138 mille tonnes de concentré de tomate, contre 145 000 tonnes en 2020. (1)

Ci-après, l'Évolution de la Transformation mondiale:

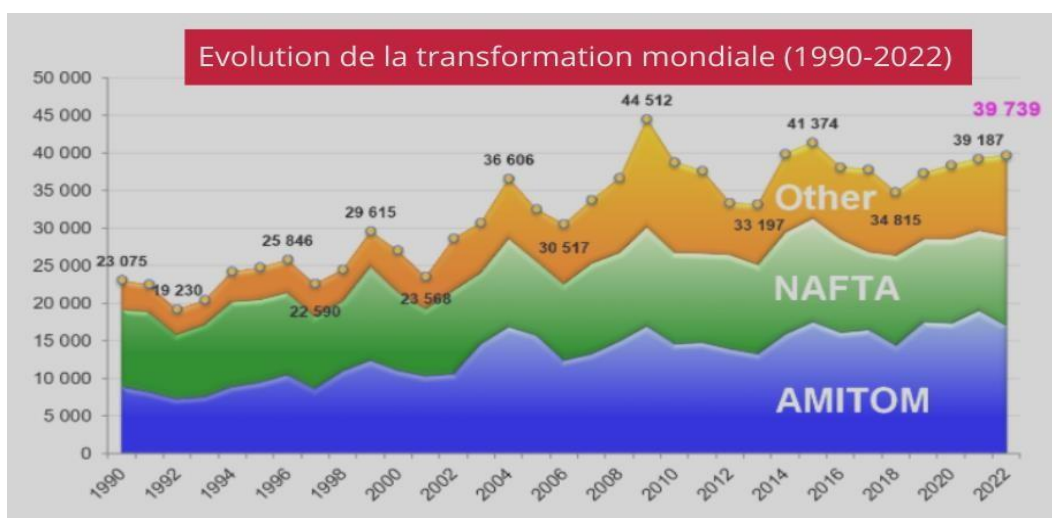


Figure 03 : Courbe d'évolution de la transformation mondiale de la tomate (1990-2022)

Suite aux derniers chiffres recueillis auprès des membres du WPTC (World Processing Tomato Council) à la date du 03 Juin 2022, la production mondiale de tomates est estimée à environ 38,8 millions de tonnes soit près d'un million de tonnes de moins que les prévisions initiales de mars. (2)

1-5-2 En Algérie

La culture de la tomate en Algérie se place en seconde position après la pomme de terre. Elle occupe une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne. La récolte et la transformation de la tomate industrielle, notamment, battent tous les records, avec une production globale de près de 13 millions de quintaux (2019-2020) ; soit une augmentation de 77% comparativement aux quantités réalisées à la même période de l'année précédente où la production avait atteint 7,2 millions de quintaux.

Cette forte production a permis de transformer plus de 5,3 millions quintaux de tomate, avec une production de 471.780 quintaux en équivalent triple concentré de tomate (TCT) et 239.922 quintaux de double concentré de tomate (DCT) (**Salim Benalia., 2020**).

Cependant la production s'est élevée à plus de 23 millions de quintaux en 2021, enregistrant une croissance de plus de 17%, ce qui a permis à l'Algérie d'assurer son autosuffisance en double concentré et triple concentré de tomate, a indiqué un responsable du ministère de l'Agriculture et du Développement rural. (3)

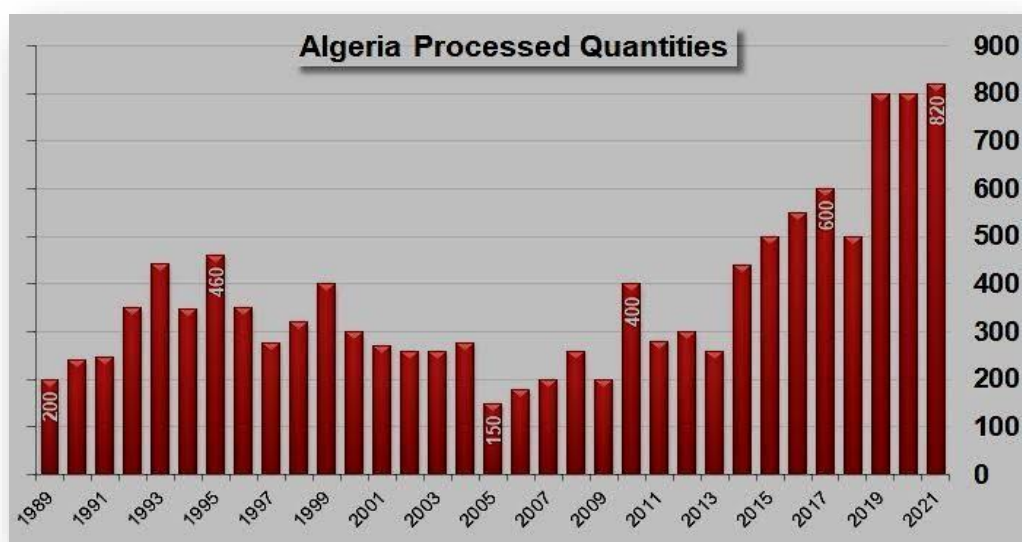


Figure 04: les quantités produites de la tomate en Algérie (1989-2021)

1-6 Principales maladies de la tomate

De la levée et pratiquement jusqu'à la récolte, les cultures de la tomate sont sujettes à de nombreuses maladies causées par divers agents pathogènes tels que : les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les insectes etc.... (Causse et al., 2000) (Tableaux 3, 4, 5)

Tableau 03 : Les principales maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).









Maladies	Symptômes et dégâts	Agents causal
Chancre bactérien	<p>Flétrissement uni latéral sur feuille, suivi d'un dessèchement total des coupes longitudinales sur tige et pétioles.</p> <p>Sur fruits, se forment des taches blanchâtres.</p> 	<p><i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>.</p>
Moucheture bactérienne	<p>Sur feuillage : Apparition des taches noires de contour irrégulier entourées d'un halo jaune. Les folioles se dessèchent et tombent</p> 	<p><i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>.</p>
Gale bactérienne	<p>De nombreuses taches entraînent le dessèchement de folioles et la chute des feuilles, Sur fruit, de petits chancres pustuleux aspect liégeux.</p> 	<p><i>Xanthomonas compestris</i> pv. <i>vesicatoria</i></p>

Tableau 04 : Les principales maladies fongiques de la tomate (Causse et al, 2000 ; Naika et al., 2005)

Maladies	Symptômes	Causées par
<p>Anthracnose</p>	<p>Tâches plus ou moins circulaires de 1 cm avec un centre noirâtre sur les fruits mûrs.</p> 	<p><i>Colletotrichum coccodes</i></p>
<p>Mildiou</p>	<p>Légères tâches foncées avec un point jaune en leur centre sont visibles sur les feuilles ayant parfois un développement centrifuge et centripète.</p> <p>Sur la face inférieure des feuilles les tâches sont blanches.</p> <p>Les fruits se couvrent de taches brunes et les feuilles flétrissent</p> 	<p><i>Phytophthora infestans</i></p>

<p>Verticilliose</p>	<p>Jaunissement en forme de V des feuilles de bas en haut suivi d'un flétrissement avec un léger brunissement des vaisseaux après une coupe.</p> 	<p><i>Verticillium albo-atrum</i></p>
<p>Alternariose</p>	<p>Tâches rondes et brunes avec des cercles concentriques apparaissant sur les feuilles avec un diamètre de 1,5 cm. Des grossiers peuvent apparaître sur les tiges et les feuilles. Les fleurs et les jeunes fruits tombent.</p> 	<p><i>Alternaria solani</i></p>
<p>Flétrissure fusarienne*</p>	<p>Jaunissement des feuilles de bas en haut, apparition de racines avortées au bas de la tige, Tissus ligneux brun rougeâtre.</p> 	<p><i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i></p>
<p>Pourriture des racines et du collet</p>	<p>Brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet, Flétrissement juste avant la cueillette. Les feuilles hautes fanent avant les feuilles basses avec une</p>	<p><i>Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici</i></p>



	<p>décoloration jaune ou dorée. Les fruits n'ont pas leur brillance normale.</p> 	
<p>Pourriture grise</p>	<p>Taches beiges en anneaux centriques en plus des chancres gris beige légèrement déprimés avec un duvet grisâtre constitué des fructifications conidiennes du champignon. Sur fruit, On observe une pourriture molle avec affaiblissement des tissus qui débute généralement au niveau des sépales ou pétales desséchés.</p> 	<p><i>Botrytis cinerea</i></p>

Tableau 05 : Les ravageurs de la tomate (ZIRIS .2011).

Insectes et ravageurs	Symptômes et dégâts	Causées par
Nématodes à galles	Des galles sur les racines de plantes attaquées .la tige rabougrit, les feuilles jaunissent, puis la plante dépérit.	<p>.</p> <p><i>Meloidogyne incognitochitwood.etM.arenariaNeal.</i></p>
Acariens	La face inférieure des folioles devient brune à bronzée .sur fruit, la peau présente des craquelures.	<p><i>Tetranychus(URTICAEKOC HE,1836).et T.cinnabarinus(Boisduval ,1867).</i></p>

<p>Noctuelles terricoles Noctuelles des fruites</p>	<p>Les jeunes chenilles dévorent le collet et entraînent la mort de la plante.</p>	<p><i>Agrostissegetum</i> (Oberdorfer,1938) <i>Chlorideaarmigera</i> (Hampson,1903)</p>
<p>Aleurodes</p>	<p>Rabougrissement des apex et développement de fumagine sur le miellat produit par les larves, transmission des virus TOCV, TICV et TYLCV.</p>	<p>Trialeuro des vappariorum (Westwood,1856).et Bemisiatabaci (Gennadius,1889).</p>
<p>Cicadelles</p>	<p>Transmission du stolbur, mycoplasmosse.</p>	<p><i>Hialetherobsoletus</i></p>
<p>Mineuses</p>	<p>Galeries dans le limbe des feuilles âgées par les larves.</p>	<p><i>Liriomyzatrifolii</i>(Burgess ,1880),<i>L.strigata</i>(Meigen,1830) et <i>Tuta absoluta</i>Meyrick.</p>
<p>Pucerons</p>	<p>Enroulement des feuilles, développement de la fumagine et transmission de virus.</p>	<p><i>Macrosyphoneeneuphorbiae</i> (Buninge, 1985). <i>Myzu Spersicae</i> (Sulze, 1776).</p>

2 La fusariose vasculaire de la tomate

2-1 Généralité sur la fusariose vasculaire de la tomate

Les plantes de tomates peuvent être victimes de plusieurs maladies fusariennes au nombre desquelles figure la fusariose vasculaire. Cette pathologie à souche fongique et particulièrement dommageable, affecte la croissance végétative de la tomate. Egalement appelée la flétrissure fusarienne (*Fusarium wilt*), elle est généralement observée sous les climats tropicaux ou subtropicaux (Page, 2013).

La flétrissure fusarienne est une maladie dévastatrice pour les cultures de tomate partout dans le monde, elle est causée par *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL). Ce champignon pénètre dans la plante par les racines envahit les tissus ligneux et provoque le jaunissement, la flétrissure puis la mort de la plante.

Néanmoins, dans la mesure où il existe aujourd'hui de nombreuses variétés résistantes au *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, ce pathogène ne représente plus un grand danger pour la culture de la tomate.

2-2 Symptômes de la fusariose vasculaire sur tomate

La flétrissure fusarienne présente différents symptômes internes ou externes sur les différentes parties de la plante et pendant les différents stades de vie. Ce dernier évolue très rapidement, les parties des limbes touchés flétrissent comme par manque d'eau, c'est le flétrissement rapide. Il provoque une décoloration du feuillage, s'ensuit d'un jaunissement souvent sur à un coté d'une feuille, d'une branche ou une plante puis s'étend lentement de bas vers le haut, jusqu'à ce que toute la vigne soit infectée. Les vignes brunir le long des nervures, puis commence à flétrir à mesure que la maladie se propage. Au niveau de la tige de la plante atteinte, une coupe longitudinale apparait dans la partie ligneuse et adjacente au cortex vert montre une coloration brune, qui part du collet puis remonte unilatéralement. Ce flétrissement est permanent, entraîne un rabougrissement de la plante et les jeunes plantules peuvent mourir.

(Channel, 2021)



A : Jaunissement de plusieurs pétioles situés sur un des côtés du rachis foliaire

B : Jaunissement de plusieurs folioles situées sur un même côté de la feuille

C : Symptôme interne de la fusariose vasculaire de la tomate causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Blancard, 2013).

Figure 05 : Symptômes de la fusariose vasculaire de la tomate causés par FOL (Blancard, 2009).

2-3 L'agent pathogène de la fusariose vasculaire "*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*"

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* FOL, est un champignon pathogène du sol responsable de la fusariose vasculaire, il a été isolé à partir de la tomate, il n'affecte que cette plante, donc il constitue ce qu'on appelle « forme spéciale *lycopersici* ». Décrit pour la première fois en Europe à la fin du XIXe siècle, il est maintenant présent dans plusieurs dizaines de pays répartis sur tous les continents, où ses dégâts fluctuent en fonction de la race et de la variété cultivée (Blancard, 2009).

Ce micro-organisme phytopathogène résiste au froid il préfère les températures élevées et l'humidité, il sévit durant les périodes chaudes de l'année, son optimum thermique se situe aux environs de 28°C. Il se développe rapidement dans les sols riches en azote et faible en potassium. Il peut vivre dans le sol à une profondeur de 80cm pendant plusieurs années grâce à ses chlamydospores aux parois épaisses et résistantes.

2-3-1 Classification de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

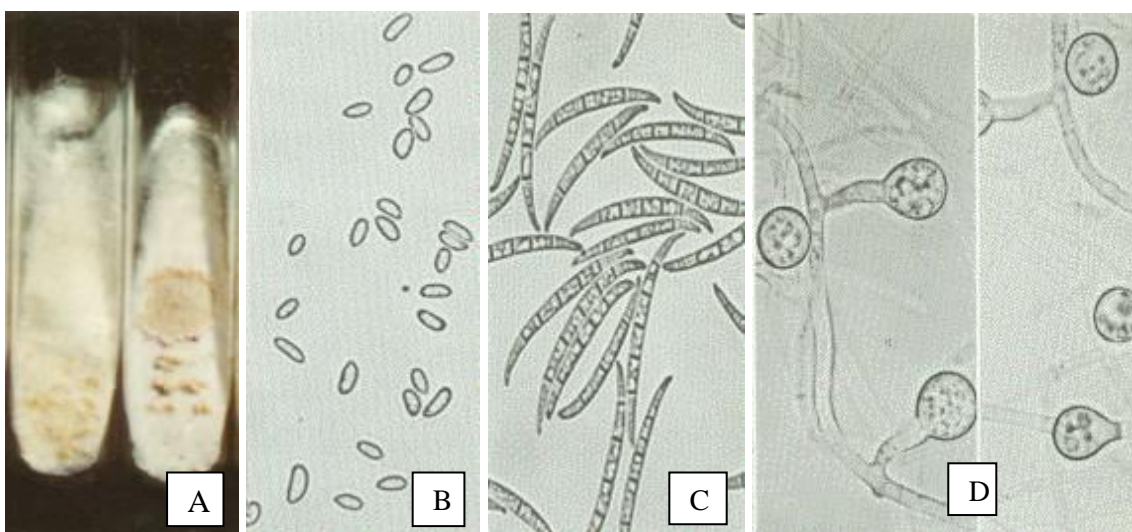
Tableau 06 : Classification de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Agrios., 1998)

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

2-3-2 Identification de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Les mycéliums (**Fig. 06**) 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, les macroconidies et les chlamydospores. Les microconidies sont portées sur des phialides simples apparaissant latéralement et sont abondantes, ovales-ellipsoïdes, droites à incurvées, de 5-12 x 2,2-3,5 µm et non réagies. Les macroconidies, clairsemées à abondantes, sont portées sur des conidiophores ramifiés ou à la surface des sporodochies et sont à parois minces, trois à cinq-septées, fusoides-subulées et pointues aux deux extrémités, ont une base pédicellée. Les conidies à trois cloisons mesurent 27- 46 x 3-5 µm tandis que les conidies à cinq fentes mesurent 35-60 x 3-5 µm. Les spores à trois cloisons sont plus communes. Les chlamydospores, à la fois lisses et à parois rugueuses, sont abondantes et forment des terminaisons ou des intercalaires. Ils sont généralement solitaires, mais se forment parfois en paires ou en chaînes.



- A. mycelium of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*;
- B. Microconidie;
- C. Macroconidie;
- D. Chlamydospores.

Figure 06 : Identification de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.)

2-3-3 Cycle de vie de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

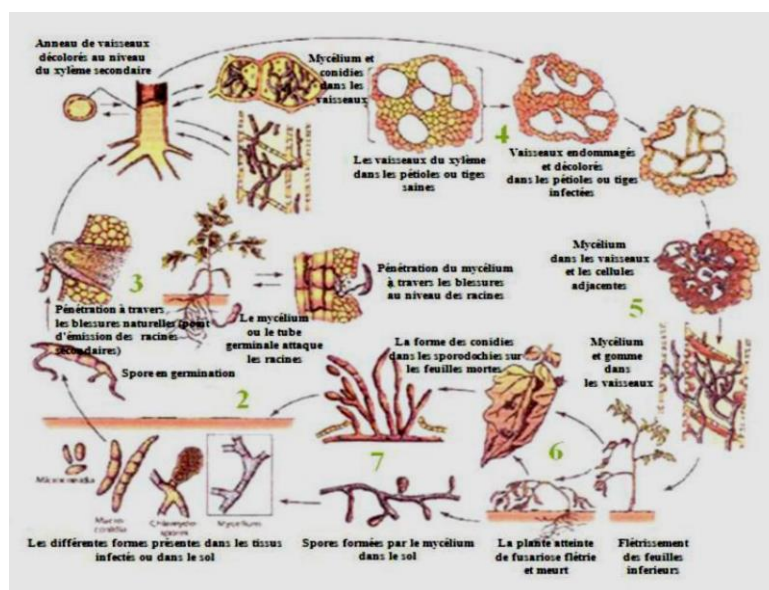
Les *F. oxysporum* sont pas des parasites obligatoires, en absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques (Smith, 1965).

En contact de l'hôte et une fois les conditions favorables, les chlamydospores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines.

Après pénétration dans la cellule épidermique, le mycélium se ramifie, colonisant ainsi toutes les cellules avoisinantes.

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.

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).



- 1-conidies, chlamydospores ou mycélium vivant dans le sol ;
- 2-germination des spores ;
- 3-pénétration du tube germinatif à l'intérieur des racines ;
- 4-invasion des vaisseaux par les conidies et /ou mycélium ;
- 5-production de gomme à l'intérieur des vaisseaux ;
- 6-Flétrissement et mort de la plante ;
- 7-Sporodochies ou mycélium produisant des conidies.

Figure 07 : Cycle de la maladie flétrissement vasculaire causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* chez la tomate (Agrios, 2005).

3 Lutte contre les maladies fusariennes

Les méthodes de lutte appliquées pour le contrôle des fusarioses 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.

Le contrôle de la fusariose vasculaire est difficile en raison de la nature du pathogène transmis par le sol et sa capacité de persister de longues périodes, même en l'absence de la plante hôte (**Frederix et Den Brader, 1989**). Il a été signalé l'importance de certaines méthodes prophylactiques telle que la solarisation des sols et le choix conforme d'une conduite culturale défavorisant l'installation et la croissance de l'agent pathogène. Les fusarioses vasculaires sévissent moins en conditions d'irrigation réduite ainsi que dans des sols à pH élevé, riche en calcium et potassium, pauvres en oligoéléments, magnésium et dont l'azote est surtout sous forme nitrique plutôt qu'ammoniacale (**Woltz et Jones, 1981**). Toutes ces conditions ne sont pas suffisantes pour protéger totalement contre les infections et en outre, la plupart d'entre elles sont défavorables à une bonne productivité.

- **Lutte chimique**

La lutte chimique est l'utilisation des fongicides pour détruire, affaiblir ou réprimer le champignon. Plusieurs d'entre eux est appliquées pour lutter contre le FOL comme le bromure de méthyle qui possède une forte capacité de pénétration dans le sol et assure une bonne stérilisation bien que on les utilise avec précaution vue qu'ils ont un effet néfaste sur l'environnement, la santé humaine et d'autres organismes non visés, y compris les formes de vie bénéfiques.

- **Lutte culturale**

La lutte culturale est un ensemble de mesures Préventives vise à réduire le potentiel d'inoculum et à limiter les conditions qui favorisent la maladie soit : un sol léger et acide, un manque d'azote, de calcium, des températures élevées et un manque de lumière en intensité et

en temps. **Barna et al. (1985)** désigne l'importance de maintenir une fertilisation azotée élevée afin de produire beaucoup de posse jeune. La méthode de prévention la plus courante est le chaulage afin de maintenir le pH entre 6.4 et 7.0 (**Scott, 1923**).

- **Lutte agronomique**

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

- **Lutte génétique**

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

- **Lutte intégrée**

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

- **Lutte physiques**

La méthode consiste à traiter les racines avec de l'eau chaude à 48-49C pendant 30 secondes avant de transplanter ou moins de 48 heures après pour protéger les plants dans un sol qui présente de maladie. Cela stimule la croissance des racines. La taille des racines amène aussi une protection contre la fusariose pour la même raison.

- **Lutte biologique**

La lutte biologique consiste à utiliser contre un organisme pathogène d'autres organismes saprophytes afin de diminuer la population pathogène au-dessous d'un seuil critique (ou économique) à long terme (**Jones, 1981 ; Henni, 1982 ; Gendrier, 1999**).

La lutte biologique contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* met en œuvre plusieurs antagonistes (**Alabouvette et al., 1993**). En effet **Rouxel et al. (1980)** ont démontré qu'il suffisait d'introduire des populations de *Fusarium. oxysporum* et *Fusarium. solani* non pathogènes saprophytes dans le sol pour induire un bon niveau de résistance. Une intense

colonisation du rhizoplan par des *Fusarium* non pathogènes bloquerait l'accès de l'agent pathogène, pourtant présent dans le sol. Ces travaux ont été repris par **Alabouvette et al. (1984)** puis par **Fravel et al. (2003)** qui ont confirmé qu'au niveau de la rhizosphère, se déroulent des phénomènes de compétition qui délimitent l'activité de l'agent pathogène (**Alabouvette et al., 1996 ; Edel et al., 1997 ; Larkin et al., 1998 ; Steinberg et al., 1999**). **Larkin et Fravel (1998)** démontrèrent que les *Fusarium* non pathogènes sont plus efficaces quant à la réduction de l'incidence de la fusariose vasculaire. **Couteaudier et Alabouvette (1985)** ont démontré que l'incorporation des *Trichoderma* spp aux sols maraîchers infestés de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* a abouti à une protection durable des plantes cultivées. L'inoculation des semences avec *Trichoderma harzianum* permet également d'accroître les rendements de 26% dans des sols infectés (**Sivan, 1987**). Les bactéries à leur tour tiennent une place importante dans la lutte biologique, *Pseudomas fluorescens* a fait l'objet de plusieurs travaux à savoir : **Gamiel et Katan (1992), Lemanceau et al. (1993), Larkin et Fravel (1998), et Benchabane et al. (2000)**.

Des recherches se sont orientées vers des méthodes alternatives de lutte biologique notamment vers l'usage des métabolites secondaires des plantes tels que les huiles essentielles qui ont donné des résultats intéressants sur les mycoses (**Adam et al., 1998 ; Zirihi et al., 2003 ; Camara et al., 2007 ; Hamini et al., 2014**). Les extraits de ces plantes auraient ainsi des propriétés antifongiques et antibactériennes (**Oxenham et al., 2005 ; Abdesselem, 2017**).

Partie II

Matériel et méthodes

1 Matériel biologique

1-1 Isolat fongique

L'isolat *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercisi* (FOL) a été utilisé dans notre étude. Pour la purification et la régénération de l'isolat fongique un repiquage a été effectué sur milieu PDA, à l'aide d'une anse de platine stérile, au bord de la colonie on enlève un disque du mycélium et le déposer au centre de la nouvelle boîte de pétri. L'incubation des cultures est effectuée à 30°C pendant 5 à 7 jours. L'identification de ce champignon fait essentiellement appel aux caractères culturels morphologiques, à la pigmentation et la forme des colonies (poudreuse, duveteuse, cotonneuse.). En plus, nous nous sommes basés sur l'aspect microscopique de ces microorganismes, en prenant en considération les caractères suivants : La forme du mycélium, la présence ou l'absence de cloisons ainsi que le mode de ramification, la taille, la morphologie, la coloration et la segmentation des spores.

❖ Observation microscopique à l'état frais

A l'aide d'une anse de platine stérile, on prélève un échantillon du mycélium dans la colonie, puis le déposer dans une goutte d'eau sur une lame en verre, on dilacère le fragment mycélien avec l'anse de platine pour le rendre moins dense et mieux observable, pour autant l'abimer complètement, ensuite on recouvre la préparation par une lamelle, puis on passe à l'observation microscopique photonique aux grossissements (10x40).

1-2 Souches bactériennes

Deux souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont été utilisées dans nos expérimentations, il s'agit des souches S20 et CH. Ces deux souches font partie de la collection du laboratoire. La pureté des souches a été vérifiée en réalisant plusieurs repiquages successifs sur le milieu B de King (Annexe 1). Les cultures pures sont conservées à 4°C.

1-3 Matériel végétale

Le matériel utilisé est la tomate (*lycopersicon esculentum*) variété (Marmande). Le choix de cette variété s'est basé sur sa sensibilité au *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL).

1-4 Substrat

Le sol utilisé dans notre expérimentation a été prélevé à partir d'une parcelle nue non cultivée au niveau de BOGHNI. Les échantillons du sol sont prélevés à partir de 10 à 20 cm du

profondeur, après avoir écarté la couche superficielle du sol. Après séchage et tamisage (1 mm). Le sol a été désinfecté par autoclavage (deux autoclavages à 120°C pendant 30 minutes séparées de 24 heures d'intervalle). Les analyses physico-chimiques du sol ont été effectuées au niveau du laboratoire de département d'agronomie de l'UMMTO.

Tableau 07 : Caractéristiques physico-chimiques du sol

Caractéristiques physico-chimiques	Taux %
Ph	7.8
Humidité	8.228%
Granulométrie	Argile : 10% Limons : 50% Sables : 40%

2 Caractères morphologiques des souches bactériennes

2-1 Caractérisation macroscopique

La caractérisation morphologique des souches bactériennes a été effectuée sur milieu B de King après incubation à 30°C pendant 24 heures. Elle permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. La détermination des caractères macroscopiques, se fait à l'œil nu qui nous permet de renseigner sur la couleur, la forme des colonies (rondes, irrégulières, etc.), la surface (lisse, rugueuse, sèche...etc), la taille par la mesure du diamètre, l'aspect, la consistance, l'opacité et l'odorat.

2-2 Caractérisation microscopique

L'examen microscopique des souches bactériennes a été effectué par à l'aide de la coloration de gram.

La coloration de Gram est un aspect important pour l'identification d'une bactérie isolée et la vérification de la pureté des souches bactériennes qui à été réalisé selon la technique classique décrites par **Hilderbrand et al., (1988)**. A partir d'une colonie de 24h, un frottis bactérien doit être préparé : Déposer sur une lame propre une goutte d'eau physiologique stérile,

puis prélever un fragment de colonie d'une bactérie fraîche à l'aide d'une anse à boucle, ensuite dissocier la colonie dans la goutte d'eau, puis sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme de bec bunsen sans trop chauffer. Recouvrir la lame de violet de Gentiane pendant une minute, puis rincer rapidement à l'eau de robinet. Ensuite, l'ajout d'un fixateur qui est le Lugol pendant 30 secondes. Puis rincer rapidement à l'eau de robinet. Le frottis est ensuite décoloré avec de l'éthanol jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. A ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores et les cellules Gram positives violettes. Ensuite, le frottis est soumis à une contre coloration de 30 secondes à la fuchsine, pour colorer les cellules Gram négative présentes. Après un bref rinçage, le frottis est séché puis observé au microscope optique (objectif 10x100) en utilisant l'huile à immersion.

2-3 Caractérisation biochimique

Les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification des bactéries, il n'en demeure pas moins qu'ils soient particulièrement utiles pour la détermination de certaines espèces et sous espèces de bactéries. La caractérisation biochimique a été faite par la réalisation d'une galerie biochimique classique comprenant les tests suivants :

➤ Etude des dérivés de l'acide pyruvique

Par une anse de platine contenant une colonie bactérienne de 24 heures, une piqûre centrale est faite dans le tube du milieu Clark et Lubs. Ce milieu permet de mettre en évidence deux voies de dégradation :

1) Réaction Rouge de méthyle (RM) : Après incubation 2 à 3 gouttes d'une solution alcoolique de rouge de méthyle à 0,2 % sont ajoutées sur le tubeensemencé et incubé. Cela laisse supposer que :

- Les bactéries RM (rouge de méthyle) positif sont des bactéries produisant des acides organiques (éthanoïque...) par la voie des acides mixtes. Coloration rouge.
- Les bactéries RM (rouge de méthyle) négatif sont des bactéries produisant des acides organiques faibles et plutôt du CO₂ par la voie butane-diolique. Aucune coloration.

2) Réaction Voges Proskauer (VP) : Pour la recherche de l'Acétoïne, 0,5 ml de la solution VPI (naphthol) et 0,5 ml de la solution VPII (4N) sont ajoutées sur le tubeensemencé et incubé. Si une coloration rouge violacée apparaît en surface, la bactérie transforme l'acide pyruvique en

Acétoïne, la réaction VP est positive (VP+).

➤ **Test Mannitol mobilité**

A l'aide d'une anse de platine contenant une colonie pure de 24 heures une piqûre centrale est réalisée dans un tube de milieu Mannitol-Mobilité. La transformation de la couleur du jaune signifie que la bactérie est Mannitol (+). L'apparition d'un trouble de part et d'autre de la piqûre centrale indique que la bactérie est mobile.

➤ **Utilisation de l'ion citrique**

L'utilisation de citrate par les bactéries comme seule source de carbone et d'énergie est mise en évidence sur le milieu gélosé de citrate de Simmons (**Gardan et Luisetti, 1981**). L'ensemencement des souches est effectué sur la pente du milieu de culture, l'utilisation des citrates est marquée par le virage de la couleur du milieu vers le bleu donc citrate-perméase positive.

➤ **Hydrolyse de la gélatine**

Le tube contenant le milieu gélatine (**Gardan et Luisetti, 1981**) (annexe N°1), ont été ensemencé avec la crème bactériennes par une piqure au centre du culot. Si le milieu de culture est liquide, la bactérie hydrolyse la gélatine donc elle synthétise la gélatinasse.

➤ **Les nitrates réductases**

Le test décrit par **Gardan et Luisetti (1981)** consiste à ensemencer les isolats bactériens jeunes dans le milieu bouillon nitraté. La lecture des résultats se fait après addition des deux réactifs spécifiques révélateurs des nitrates 1 et 2 et une pincée de Zinc. Les notations sont en fonction de la coloration obtenue :

-Si une coloration rose apparait les nitrites sont présents. La bactérie possède une nitrate-réductase

-Si le milieu reste incolore, on ajoute de la poudre de zinc

-Si le milieu devient rose, les nitrates sont présents da bactérie ne possède pas de nitrate-réductase

-Si le milieu reste inchangé, les nitrates ont été réduits en nitrites à un stade avancé.

➤ **Utilisation des glucides**

Le milieu Triple Sugar Iron (TSI) (**Garden et Luisetti., 1981**) est un milieu utilisé pour voir si la bactérie est capable de réduire le sulfate, et la fermentation, lactose, saccharose et le glucose. L'ensemencement des souches bactériennes de 24h est réalisé en stries serrées sur la pente puis par piqûre centrale le culot.

Après incubation de 24h, la lecture des résultats se fait au niveau du culot et au niveau de la pente :

-au niveau du culot : le virage au jaune signifie que la bactérie est glucose (+). Décollement du milieu signifie qu'il y a une production de gaz divers.

-au niveau de la pente : le virage au jaune de la pente signifie qu'il y a fermentation du lactose et du saccharose.

-s'il y a un noircissement au milieu, cela signifie qu'il y a une réduction des sulfates ferreux en hydrogène sulfureux (H₂S)

➤ **Test d'arginine dihydrolase (ADH)**

Ce test est réalisé, par ensemencement du milieu Möeller avec la suspension bactérienne. La lecture des résultats se fait après incubation de 24h à 28 °C de température.

-Si le milieu deviendra jaune, les bactéries ont fermenté l'acide aminé, le milieu acide donc jaune ADH (-).

-Si le milieu restera violet, donc la bactérie possède dihydrolactose, la production d'amine basique provoque l'alcalinisation du milieu qui passe au violet ADH (+).

➤ **Tolérance au sel**

La détermination de la résistance des isolats bactériens à la salinité a été effectuée l'ensemencement en strie des souches âgées de 24 heures sur milieu de culture de Chapman (Annexe N° 1). 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.

3 Mise en évidence de la production de l'acide cyanhydrique (HCN)

Des cultures de 24h des souches bactériennes S20 et CH ont étéensemencés sur milieu de culture B de King additionné avec 0.66g de glycine. A la surface interne du couvercle des boites de pétrisensemencés, des disques de papier wattman stériles imbibés d'une solution stérile (100ml d'eau distillée stérile + 0.5g d'acide picrique + 2g de carbonate) a été placés. Les boites ont été bien fermées avec du parafilm et incubées à 28°C pendant 24heures à 72h. Le virage de couleur du papier wattman au brun-orangé serait révélateur de l'activité cyanogénique des souches testées ce qui signifie qu'il y a une production d'HCN.

Partie III

Résultats et Discussions

1 Caractérisation des isolats bactériens

1-1 Caractérisation macroscopique (morphologique)

Après 24 heures d'incubation à une température de 28°C les colonies des souches bactériennes S20 et CH de *Pseudomonas* spp. Fluorescents ensemencées sur milieu B de King apparaissent avec un aspect lisse de couleur beige claire de forme régulière, avec un diamètre qui varie de 2 à 4 mm. Elles sont capables d'élaborer un pigment jaune-vert fluorescent visible à l'œil nu sous lumière naturelle diffusible dans le milieu (Fig. 08).

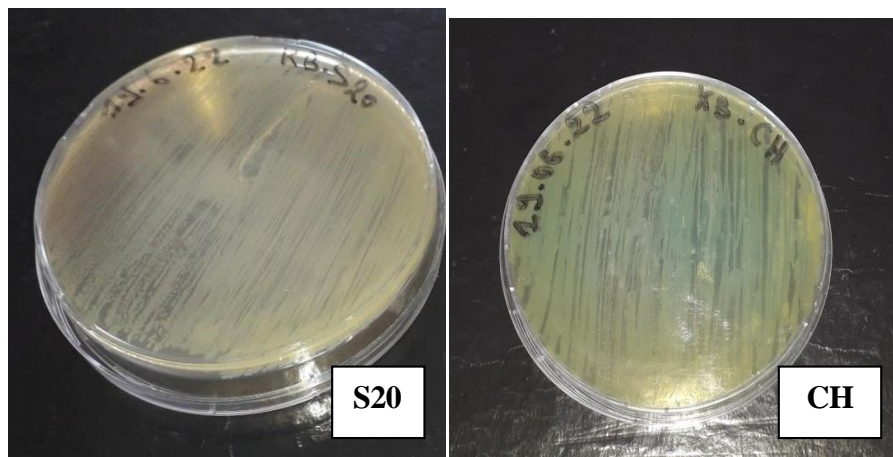


Figure 08 : Production de pigment fluorescent par les deux souches bactériennes S20 et CH sur le milieu B de King. (Originelle, 2022)

1-2 Caractérisation microscopique

L'examen microscopique après l'utilisation de la coloration de Gram relevé que les cellules bactériennes sont de forme bacille droites isolées ou groupées, de couleur rose (Fig.09). Elles sont dites Gram négatives (-).

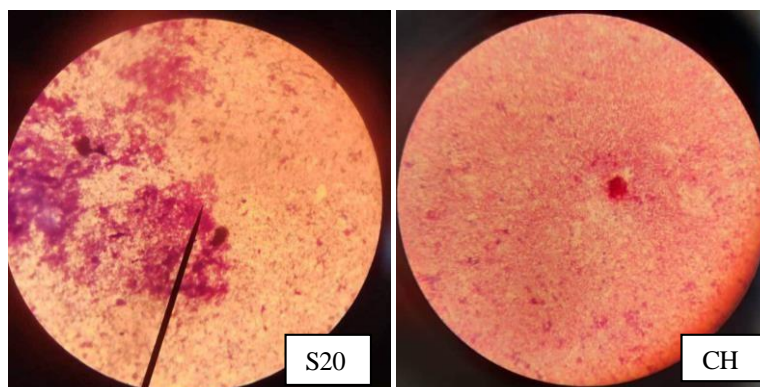


Figure 09 : Observation sous microscope optique des deux souches CH et S20 au G : 10×100. (Originelle, 2022)

1-3 Caractérisation biochimique et physiologique

La série des tests biochimiques effectués pour les deux souches bactériennes ont révélés les résultats suivant (Tableau 08, Fig.10) :

- Sur milieu citrate de Simmons, une coloration bleu est observée, ce qui signifie que les deux souches possèdent la citrate-perméase.
- Sur le mannitol-mobilité, les deux souches sont mobiles ; il y a apparition d'un trouble au niveau de la piqûre centrale. Les souches S20 et CH ne sont pas capable d'utiliser le mannitol.
- Sur le milieu Clark et Lubs, la bactérie CH présente un résultat négatif pour la réaction RM et un résultat positif pour la réaction Voges-Proskauer (VP). La bactérie S20 présente un résultat positif pour la réaction RM et un résultat négatif pour la réaction Voges-Proskauer (VP).
- Sur le milieu gélatine, le contenu de milieu de culture est liquide ce qui signifie que les deux souches hydrolysent la gélatine donc elles synthétisent, la gélatinase.
- Sur le milieu Triple sugar iron (TSI) les deux souches bactériennes n'utilisent pas le lactose, le saccharose et le glucose. Une couleur noire observée dans le cas de la bactérie CH qui signifie qu'il ya production d'un gaz « sulfure d'hydrogène H₂S » donc la bactérie possède les sulfates réductase.
- Sur le milieu Möeller, le milieu reste violet ce qui signifie que les bactéries ont acidifié le milieu à partir du glucose puis réalcalinisé en utilisant l'acide aminé donc Arginine dihydrolase +.
- Sur le milieu bouillon nitraté, une coloration rose apparaît sur les deux souches ce qui signifie que les bactéries possèdent une nitrate-réductase.



Figure10 : Galerie biochimique des souches bactériennes S20 et CH. (Originelle, 2022)

- **Tolérance au NaCl**

Les deux souches bactériennes ont montré une inaptitude totale à croître et à se développer sur milieu Chapman, ce qui explique qu'elles sont incapables de tolérer le NaCl.



Figure11 : Culture bactériennes sur milieu Chapman. (Originelle, 2022)

Tableau 08 : Résultats des tests biochimiques de souches de *Pseudomonas* spp. *Fluorescents* isolées.

Tests	Bactérie CH	Bactérie S20
Clark et Lubs	RM -	RM +
	VP +	VP -
Mannitol mobilité	Mannitol -	Mannitol -
	Mobilité +	Mobilité +
Utilisation de l'ion citrique	+	+
Hydrolyse de la gélatine	+	+
Les nitrates réductases	+	+
Utilisation des glucides TSI	H2S + Lactose - Saccharose - Glucose -	H2S - Lactose - Saccharose - Glucose -
Test d'arginine déshydrolase (ADH)	+	+
Catalase	+	+
Pigment fluorescent	+	+

Résultat + : Positif

Résultat - : Négatif

2 Production de l'acide cyanhydrique (HCN)

Les deux souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. *Fluorescents* présentent une production appréciable de l'acide cyanhydrique sur milieu B de King additionné de glycine. Le virage de la couleur du papier Wattman vers l'orangé foncée est plus intense chez la souche

CH par rapport à la souche S20 ce qui signifie que la souche CH présente une forte production de ce gaz par rapport à la souche S20 (Fig. 12)



Figure12 : Production d'HCN par la souche S20 et CH après 3 jours d'incubation.
(Originelle, 2022)

La glycine est considérée comme le meilleur précurseur de la production des cyanides chez les microorganismes (Askeland et Morrison, 1983). Le HCN produit par les PGPR assure un rôle bénéfique pour la plante par son effet antagoniste contre les maladies des racines (Defago et Haas, 1990).

Selon Raaijmakers et al (1995) ; Haas & Keel (2003) certaines souches de *Pseudomonas* qui produisent de l'HCN, la viscosamide, la pyoluteorine, le 2,4-diacetylphloroglucinol, la pyrrolnitrine, les phenazines et les butyrolactones sont impliqués dans le biocontrôle. Selon, Dobbelaere et al (2003) et Snissi (2005), certaines souches assurent une bonne protection contre les fusarioses vasculaires par production d'antibiotiques et de siderophores (Bysens et al., 1989; Natsh et al ., 1994; Harry et al., 2005) telles les 2,4-diacetylphloroglucinol, pyoluteorin, phenazine et l'acide cyanhydrique (Gardener et al ., 2000; Romano et Kolter, 2005; Frey-Klett et al., 2005). Les viscosianmide, tensine et amphisine produit par quelques souches de *Pseudomonas* peuvent avoir une activité antagoniste contre *Pythium ultimum* (Allaire, 2005).

Conclusion générale

Les deux souches S20 et CH de *Pseudomonas* spp. Fluorescent étudiées ont montré une stabilité dans les caractéristiques culturales et biochimiques.

En ce qui concerne la production d'acide cyanhydrique HCN, les deux souches bactériennes ont montré une production importante une présence de glycine après 72h d'incubation. La souche CH est dotée d'une capacité meilleure à produire l'HCN par rapport à la souche S20.

Les résultats du dénombrement des bactéries dans les conditions de microcosmes ont révélé une interaction positive des souches bactériennes S20 et CH avec l'espèce végétale, la tomate « variété Marmande », caractérisée par une nette évolution des populations bactériennes dans les différentes rhizosphères. Ceci explique que les plantules exercent un effet rhizosphérique notable, qui témoigne d'une bonne adaptation des souches bactériennes dans la rhizosphère de ces plantes.

Les résultats de notre étude montrent que les souches bactériennes sont plus actives entre le premier jour de la bactérisation et 15^{ème} jours. Cette étude donne, un aperçu sur la probable diversité des mécanismes que possédant les deux souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents étudiés, qui sont dites compétentes dans leurs pouvoir de colonisation des racines, et suggèrent une possible utilisation de ces souches en tant qu'agents de lutte biologique, en raison de leurs stabilités et de leur fort taux de reproductibilité dans le sol.

Les résultats du test d'antagonisme *in situ* montrent que l'application de deux souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents sur les plantules de tomate « variété Marmande » induit une inhibition très remarquable de l'indice de la maladie. La plus forte activité antagoniste a été enregistrée par la souche CH réduisant de 90,67% la maladie.

L'activité inhibitrice montre que les deux souches testées sont dotées d'une bonne activité antagoniste vis-à-vis la souche fongique *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. D'après les résultats obtenus, la souche CH exerce une activité inhibitrice plus performante que la souche S20 vis-à-vis F.O.L.

Les résultats obtenus confirment que les souches bactériennes testées sont dotées d'une bonne colonisation rhizosphérique et capable de produire de l'acide cyanhydrique et ainsi assurer une bioprotection des plantes vis-à-vis des agents pathogènes.

Il devient donc important de développer les différentes méthodes de lutte biologique par l'utilisation d'organismes antagonistes, afin de réduire les effets des phytopathogène et de favoriser la croissance et la santé des plantes. Pour cela, il est indispensable de sélectionner des souches de *Pseudomonas* spp. Fluorescents douées de potentialités stables, reproductibles et adaptées aux différentes conditions telluriques. Il est fortement souhaitable d'approfondir les investigations relatives à la mise en œuvre des activités antagonistes et stimulatrices des capacités défensives naturelles des plantes pour diminuer l'utilisation des fongicides chimiques et protéger les cultures maraichères.

Références Bibliographiques

A

- Ahmad, M. & Kibret, M. (2013).** Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J King Saud Univer-Scien* 26(01): 1-20.
- Abdesselem, Mr SI MOHAMMED., 2017** Caractérisation et lutte biologique vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* UNIVERSITE D'ORAN 1 Ahmed BEN BELLA.
- Alexander L.J. and Tucker C.M. (1945).** Physiologic specialization in the tomato wilts fungus *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici*. *J. Agric. Res.* 70,303-313.
- Askeland, A., Morrison, M., 1983.** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas a eruginosa*. *Applied and Environnemental Microbiology* Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Physiology N° 134 P 1017-1026.*
- Allaire, M. 2005.** Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères des conifères en pépinière et en milieu naturel. Thèse Mag, faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation. Univ. Laval Quebec.
- Atherton J., 2005:** Tomatoes .*Ed. Ep* Heuvelink Wageningen University, The Netherlands .USA, 29p.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P., Steinberg, C. 1996.** Biological control of Fusarium wilts: opportunities for developing a commercial product. In: Hall, R. (Ed.), *Principles and Practice of Managing Soilborne Plant Pathogens*. APS Press, St Paul. pp. 192-212.
- Agrios G.N. (2005).** *Plant pathology. Elsevier Academic Press, Oxford, UK, p, 922.*
- Adam, K., Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M. 1998.** Antifungal activity of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.* 46 : 1739-1745.
- Askeland, A., Morrison, M., 1983.** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas a eruginosa*. *Applied and Environnemental Microbiology* Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Physiology N° 134 P 1017-1026.*
- Abnatura, R., 2013.** Les Rhizobactéries PGPR. Bulletin Technique. Avril 2013. <http://www.abnatura.com/ESW/Files/abnatura_bulletin. (Accessed 21.04.18).
- Alderman S.C., Coats D.D et Crowe F.J. (1996).** Impact of Ergot on Kentucky Bluegrass Grown for Seed in Northeastern Oregon. *Plant Disease.* 80: 853-855.

B

- Benchabane, M., Bakour, R., Toua, D., Boutekrait, A. 2000.** Demonstration of the antagonist effect of *Pseudomonas fluorescens* on Fusarium wilt of tomato. Bulletin OEPP30 (2): 243-246.
- Blancard, D. 2009.** Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition : Quae. Paris. 691-721p.)
- Benmati M. (2004).** PGPR, paranodules, stimulation de la croissance et tolérance au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.): Aspect moléculaires et génétiques. Thèse de Doctorat. Biotechnologie et génomique végétale. Université de Constantine1.
- Booth C. (1971).** The Genus fusarium, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew , Surrey , England.
- Bost S.C. (2001).** Frist report of *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici* race 3 on tomato in Tennessee. Plant Dis. 85:802.
- Booth C. (1971).** The Genus fusarium, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew , Surrey , England.
- Blancard D. (1997).** Les maladies de la tomate. Edition INRA, Paris, 212p.
- Blancard D. (2009).** Les maladies de la tomate : identifier, connaître, maîtriser. Versailles: Éditions Quae. 679 pp
- Blumer, C., et Haas, D., (2000).** Mechanism, regulation, and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis. Arch. Microbiol N° 173 P 170-177.
- Baca B.E. et Elmerich C. (2007).** Microbial Production of Plant Hormones. In: Elmerich C., Newton W.E. (Eds). Associative and Endophytic Nitrogen-fixing Bacteria and Cyanobacterial Associations, Springer, Netherlands. pp. 113-143.
- Boukhalfa H, Crumbliss AL.** Chemical aspects of siderophore mediated iron transport . Biometals. 2002; ; 15 : :325.–339.
- Bashan Y et Holguin G. (1997).** *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances. *Can. Journal. Microbiol*, 43 : 103-121.
- Bhattacharyya, P.N and Jha, D.K. (2012).** Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J.Microbial. Biotechnol.* 28? 1327-1350.
- Bouras M.,** Isolement et identification des pseudomonas spp fluorescents à partir de la rhizosphère des plantes actinorhiziennes, Faculté des sciences de la nature et de la vie Constantine, 2014, 94p.

Boutoumou H. and Boumaza M. (2016). Etude de l'activité de *Trichoderma sp.* Contre l'Alternariose de la tomate. Thèse de Master. Université Mentouri Constantine, Algérie.

C

Cornelis P, Dingemans J.2013. *Pseudomonas aeruginosa* adapts its iron uptake strategies in function of the type of infections. *Front Cell Infect Microbiol.* ; 3 :75.

Choudhary D.K., Prakash A., Wray V et Johri B.N. (2009). Insights of the *fluorescent Pseudomonas* in plant growth regulation. *Current Science.* 97 (2): 170-179.

Couteaudier, Y., Letard, M., Alabouvette, C., Louvet, J. 1985. Lutte biologique contre la fusariose vasculaire de la tomate. Resultats en serre de production. *Agronomie* 5 (2), 151-156.

Cirad. (2002). Organisme, France Ministère des affaires étrangères, Cirad, centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement groupe de recherche et d'échanges technologique, ministère des affaires étrangère). Mémento de l'agronomie. ed. Quae.p.1045-1046.

Camara, B., Strompl, C., Verbag, S., Sproer, C., Pieper, D.H., Tindall, B.J. 2007. *Pseudomonas reinekei* sp. nov., *Pseudomonas moorei* sp. nov. and *Pseudomonas mohnii* sp. nov., novel species capable of degrading chlorosalicylates or isopimaric acid. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 923-931.

Chaux C., Foury L., 1994 : Cultures légumières et maraichères. Tome III :légumineuses potageres, légumes fruit. Tec et Doc Lavoisier, Paris ,563p.

Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Presse polytechniques et universitaires romandes.*

CHannel, Gardening Canal De Jardinage., 2021. Maladies de la tomate: comment lutter contre la flétrissure fusarienne.

Causse M., Caranta C., Saliba- Colonbani V., Moretti A., Damidaux R. and Rousslle P. (2000). Valorisation des ressources génétique de la tomate par l'utilisation de marqueurs moléculaires .*Cahier Agricultures* 9 :197-210.

Couillerot O. (2009). Compatibilité des bactéries phyto bénéfiques *Azospirillum* et *Pseudomonas* dans la rhizosphère. Thèse de Doctorat. Sciences Agricole. Université Claude Bernard- Lyon1. France.

Cronquist A. (1981). An integrated system of classification of following plants. Colombia University.125 p.

Chellimi D.O., Dankers H.A. and Crosiser B. (1992). First report of *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici.* race 3 on tomato in northwest Florida and Georgia. *Plant Dis.*76:861.

Correll J. C. Puhalla J.E. and Schneider R.W. (1986). Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. Canadian Journal of Botany 64, 2358-2361.

D

Duijff, B.J., Pouhair, D., Olivain, C., Alabouvette, C., Lemanceau, P.1998. Implication of systemic induced resistance in the suppression of Fusarium wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and by non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47. Eur. J. Plant Pathol 104 : 903-910.

Davis R.M., Kimble K.A. and Farrar J.J. (1988). A third race of *Fusarium oxysporum* f. *Sp. Lycopersici*. identified in California. *Plant Dis.* 72:453.

Defago, G. E. N. E. V. I. È. V. E., & Haas, D. (1990). Pseudomonads as antagonists of soilborne plant pathogens: modes of action and genetic analysis. *Soil Biochem*, 6(49), 291.

Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Ed , *Institut National de la Recherche Agronomique INRA* Paris, p : 383.

Dobbelaere S, Vanderleyden J et Okon Y. (2003). Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *CRC Crit. Plant Sci*, 22(2):107-149.

E

Ellis, R., Timms-Wilson, T., Bailey, M., (2000). Identification of conserved traits in FluorescentP Pseudomonads with antifungal activity. *Environmetal microbiology*. Volume 2, Issue 3. P 247-284.

Edel, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabouvette, C. 1997. Populations of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* associated with roots of four plant species compared to soilborne populations. *Phytopathol.* 87 : 693-697.

El Mahjoub M., Bouzaidi A., Joughri A., Hamrouni A. and 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.

F

Fravel D., Olivian C., and Alabouvette C ., 2003. *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. *New Phytologist*, 157, pp 493-502.

Frederix M.J.J., Den Brader K., 1989. Résultats des essais de désinfection des sols contenant des échantillons de *Fusarium oxysporum f. sp. Albedinis*. FAO/PNUD/RAB/88/024. Ghardaia, Algérie.

Frey-Klett P., Chavatte M., Clause M.L., Courrier S., Le Roux C., Raaijmakers J., Martinotti M.G., Pierrat J.C., And Garbaye J., 2005. Ectomycorrhizal Symbiosis Affects Functional Diversity Of Rhizosphere Fluorescent Pseudomonads. *New Phytologist*, 165: 317-328.

Farhan H.N., Abdullah B.H. et Hameed A.T. (2010). The biological activity of bacterial vaccine of *Pseudomonas putida* 2 and *Pseudomonas fluorescens* 3 isolates to protect sesame crop (*Sesamum indicum*) from *Fusarium* fungi under field conditions. *Agriculture and Biology Journal of North America*. 1(5): 803-811.

G

Gardener B.B. Mc., Schroeder K.L., Kalloger, Raaijmakers J. M., Thomashow L.S., And Weller D.M., 2000. Genotypic and Phenotypic Diversity of pHID-Containing Pseudomonas Strains Isolated from the Rhizosphere of Wheat. *App. Enviro. Microbiol.* Vol. 66 (5): 1939 - 1946.

Garbaye J (2013). La symbiose mycorhizienne : une synthèse grand public sur un mécanisme universel. INRA. Paris. 280p.

Gardan, L., Luisetti, G. 1981. Méthode d'isolement et identification des bactéries phytopathogènes. Station de Pathologie INRA. Angers, 32p

Guessas, B. 1993. Etude physiologique et lutte biologique de l'agent de la fusariose vasculaire de la tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) : *Fusarium oxysporum*. Thèse de Magister. Université d'Oran. 84 p.

Guede-Guina, F., Vangah-Manda, M., Bonga, G.M., De Souza, C. 1995. Activité antimicrobienne d'un extrait végétal contre les germes opportunistes au cours du SIDA. *Rev. Méd. Pharm. Afric.* 9 (1) : 13-19.

Gendrier, J.P. 1999. La lutte biologique en arboriculture fruitière : Les dossiers de l'environnement n°19. Edition INRA, Paris.

- Gausson h.,lefoy j.and ozenda p. (1982).** *Précis de Botanique*.2èmeEd. Masson, Paris.1972 p.
- Grattideg R. and O'Brien R.G. (1982).** Occurrence of a third race of *Fusarium Wilt.* of tomatoes in Queensland. *Plant Dis.* 66:165-166.
- Govind ,G., Shailendra ,P., Narendra , K., Sunil ,K et Vinod, S., 2015.**Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture, *MicrobBiochemTechnol*, N°7 P 2.
- Glick BR. (2012).**Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation, Scientifica, Waterloo.
- Garrity GM. (2005).** Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, *Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg*, New York, 2: 1-1085.
- Grath D.J., Gillespie G. and Vawdrey L. (1987).** Inheritance of resistance to *Fusarium oxysporum f. Sp. Lycopersici.* race 2 and 3 of *Lycopersicon pennellii.* *Aust. J.Agric. Res.* 38:729-733.

H

- Harry A.J., Hoitink H.A.J., Nameth S.T., And Krause M.S., 2005.** Chemical and biological control of Xanthomonas bacterial blight of geranium. Floriculture industry research and scholarship trust. Department of Plant Pathology OARDC/ OSU: 4.
- Holt. J.G, Krieg. N.R, Sneath. P.H.A, Staley. J.T and Williams. S.T,** «Bergey's manual of determinative bacteriology». 9th ed. Wilwinaliams & Wilkins, Baltimore, MD. 1994.
- Hakim S, Naqqash T, Nawaz M S, Laraib I, Siddique MJ, Zia R, Mirza MS and ImranA., (2021) :** Rhizosphere Engineering With Plant Growth-Promoting Microorganisms for Agriculture and Ecological Sustainability. *Front. Sustain. Food Syst.* 5:617157. doi: 10.3389/fsufs.2021.61715.
- Henni, J.E. 1982.** Contribution à la lutte contre la verticilliose : Facteurs physico- chimiques et biologiques inhibant la germination des microsclérotés du *Verticillium dahliae.* Thèse de Doctorat d'état. Université de Paris.75 p.
- Hamini, N., Hamdane, F., Boutoutaou, R., Kihal, M., Henni, J.E. 2014.** Antifungal activity of clove (*Syzygium aromaticum* L.) essential oil against phytopathogenic fungi of tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) in Algeria. *Journal of experimental biology and agricultural sciences* 2(5) : 2320- 8694.
- Henni J.E. 1998.** Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum f.sp.lucopersici.* Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. 171p.

Höfte M, Boelens J, Vestraete W (1991) Seed protection and promotion of seedling emergence by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7NSK2 and ANP15. *Soil Biol Biochem* 23, 407-410.

Haas, D. and Défago, G. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 307–319.

Han J, Sun L, Dong X, Cai Z, Sun X, Yang H, Wang Y, Song W. (2005). Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Syst Appl Microbiol* 28(1):66–76.

Hildebrand d.c., schorth m.n et sand d.c., 1988. *Pseudomonas* spp 60-77. In

Shaad, N.W.E.D. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria .2nd .ST. Pael. Minnosota. PPS.

Hiltner L, 1904. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Barche (on recent insights and problems in the area of soil bacteriology under special consideration of the use of green manure and fallowing). *Arbeiten der Deutschen Landwirtschaftlichen Gesellschaft*, 98, 59-78.

Hider RC, Kong X. Chemistry and biology of siderophores . *Nat Prod Rep.* 2010; ; 27 : :637.–657.

Hider RC, Kong X Shared and distinct mechanisms of iron acquisition by bacterial and fungal pathogens of humans. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013; ; 3 : :80..

Haas, D. and C. Keel, *Regulation of antibiotic production in root-colonizing Pseudomonas spp. and relevance for biological control of plant disease.* *Annual review of phytopathology*, 2003. p. 117-153.

J

Jones J.P., Stall, R.E. and Zitter T.A.(1991). Compendium of tomato diseases. American Phytopathological Society, St Paul. MN. p.15.

Jean Duval, agr., M.Sc. mai 1991. AGRO-BIO - 320 – 05 LES FUSARIOSES DE LA TOMATE).

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.

K

Klepper J.W., Lifchitz R et Zablotowicz R.M. (1989). Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends in Biotechnology*. 7: 39-44.

khan, M ., Kikuchi, A et Asahina, M., 2009. Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis to enhance abiotic stress tolerance in plants. *Plant Biotechnology* N°26 P 125–134.

Kloepper JW, Gutierrez-Estrada A, McInroy JA. (2007). Photoperiodregulates elicitation of growth promotion but not inducedresistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can J Microbiol* 53(2):159–167.

King, E.D., Ward, M.K et Rnaey, D.E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocuanin and fluorescein. *J.Lab. Clin. Led.* 44: 301-307.

Kennedy, A. C., et L.Z. de Luna. 2004. Rhizospher, p. 399-409. *In* D. Hillel, C. Rosenzweig, D. Powlson, K. Scow, M. Singer, D. Sparks (ed.), *Encyclopedia of soil in the environment*. Vol03. Columbia University, USA.

Krieg NR et Döbereiner J. (1984). Genus *Azospirillum*. *In*: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. *N.R. Krieg*. 1: 94-104.

Khakipour N., Khavazi K., Mojallali H., Pazira and E., Asadirahmani H.,2008. Production of auxin hormone by fluorescent pseudomonads. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 4, (6), pp 687-692.

Khan, M., Zaidi, A and Javed, M., 2010. *Microbial Strategies for Crop Improvement*. p 1-371. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

L

Laville J, Blumer C, Von Schroetter C, Gaia V, Défago G, Keel C, Haas D.1998.

Characterization of the hcnABC gene cluster encoding hydrogen cyanide synthase and anaerobic regulation by ANR in the strictly aerobic biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* CHA0J *Bacteriol.*;180(12) :3187-96.

Lemanceau, P., Alabouvette, C. 1993. Suppression of *Fusarium* wilt by fluorescent *Pseudomonas* : Mechanisms and application. *Biocontrol. Sc. Technol.* 3 : 219-324.

Latour X., Corberand T., Laguerre G., Allard F ET Lemanceau P., 1996. the composition of fluorescent pseudomonad populations associated with roots is influenced by plant and soil type. *appl. environ. microbiol.* 62: 2449-2456.

Latigui A., 1984 : Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse de magister .INA El-Harrach.

Lemanceau.P Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents. Agronomie, EDP Sciences, 1992, 12 (6), pp.413-437. hal-00885487.

Larkin, R. P., Fravel, D. R. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease* 82 : 1022-1028

M

Marchal, N., Bourdon, J.K. 1982. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries. Doin Ed. Paris.

Manikandan R., Saravanakumar D., Rajendran L., Raguchander T. and Samiyappan R. (2010). Standardization of liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* PF1 for its efficacy against *Fusarium* wilt of tomato .*Biological Control*,4,pp83-89.

Miethke M. Molecular strategies of microbial iron assimilation: from high-affinity complexes to cofactor assembly systems. *Metallomics*. 2013; ; 5 : :15.–28.

Morgan J. A. W., Bending G. D. and White P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. **56** : 1729-1739.

Mandango, M.A., Idrissa, A., Cakupewa, M.M., Mungiele, N. 2003. Activité antifongique de quelques plantes traitant des dermatoses à Kinshasa. *Revue Méd. Pharm. Afri*. 17. **Mc**

Marlatt M.L., Correll J.C., Kaufmann P. and Cooper P. E. (1996). Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* races 2 and 3 of *Lycopersicon pennellii*. *Aust. J. Agric. Res.*38:729-733.

Mcneer, DH Jr. (2013). La rhizosphère-racines, le sol et tout le reste. *Nat. Educ. Knowl*.

Martínez-Viveros 1, O., M.A. Jorquera, D.E. Crowley, G. Gajardo and M.L. Mora. (2010). Mechanisms and practical considerations Involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *J. Soil Sci. Plant Nutr*. 10: 293 – 319.

Mezaache S. (2012). Localisation des déterminants de la suppression de quelques souches de *Pseudomonas* isolées de la rhizosphère de la pomme de terre. Thèse de Doctorat. Microbiologie. Université Ferhat ABBAS. Sétif.

N

- Naika, S., Van Dam, B., Florijn, A. 2005.** La culture de la tomate : production, transformation et commercialisation. Edition Agromisa Foundation, coll. Agrodok, Wageningen. 105 p.
- Natsh A., Keel C., Hanspetera P., Dieter A., And Gene V.D., 1994.** Cotibution of the global regulator gen gac A to persistence and dessimination of *Pseudomonas flurescens* biocontrol strain CH 10 intoduced into soil microsomes. *APP. Envir. Microbiol*, 60(7): 2553-2560.
- Nakkeeran S et Fernando G.T.D. (2005).** La croissance des plantes rhizobactéries formulation et champ d’application en matière de commercialisation de la gestion des ravageurs et des maladies. *In* : Siddiqui Z.A (ed) PGPR : biocontrôle et biofertilisation. Springer Dordrecht. 257 - 296.
- Nelson L. M., 2004.** Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Prospects for new inoculants. Crop Management, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/cm/review/2004/rhizobacteria>

O

- O'sullivant, D.J. And O'gara, F., 1992.** Traits of Fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in Suppression of Plant Root Pathogens, *Microbiological Reviews*, Vol. 56, No. 4 : 662-676
- Oxenham, S.K., Svoboda, K.P., Walters, D.R. 2005.** Antifungal activity of essentialoil Basil (*Ocimum basilicum*). *Phytopathology* 153, 174-180.

P

- Palleronin, N., 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 P 141-171
- Polese, J.M., 2007.** La culture de la tomate. Ed Artémis .95p.
- Patten CL, Glick BR (2002)** Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol* 68:3795–3801.
- Pikovskaya R. I. (1948).** Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17 362–370.
- Pikovskaya R. I. (1948).** Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya* 17 362–370.
- PAGE, Laurent., 2013.** Fusariose vasculaire de la tomate RENSEIGNER.COM.

R

- Ramette A ., Frapolli M ., Défago G ., Moëgne-Loccoz Y .,** 2003. Phylogeny of HCN synthase-encoding hcnBC genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Plant Microbe Interact*, 16 (6), pp. 525-35.
- Ravel J.& Cornelis P.,** 2003. Genomics of pyoverdine mediated iron uptake in pseudomonads. *Trends Microbiol.*, 11: 195-200.
- Raven P, Evert R, Eichhorn S et Bouharmont J. (2007).** Biologie végétale. 2^{ème} Ed, De Boeck Université Bruxelles, p 870.
- Ryan RP, Germaine K, Franks A, Ryan DJ et Dowling DN. (2008).** Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS. Microbiol. Lett*, 278: 19.
- Rodriguez H, Fraga R .1999 .** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotech. Adv.* 17, 319–339
- zone: the management of soil quality and plant disease with rhizobacteria." *Soil and Tillage Research* N° 72(2) P 107-123.
- Rouxel, F., Alabouvette, C., Louvet, J. 1980.** Recherche sur la résistance des sols aux maladies. VII- Etude comparative de la germination des chlamydospores de *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* au contact des sols résistants et sensibles aux fusarioses vasculaires. *Ann. Phytopathol.* 12 (1) : 21-30.
- Ramette A ., Frapolli M ., Défago G ., Moëgne-Loccoz Y .,** 2003. Phylogeny of HCN synthase-encoding hcnBC genes in biocontrol fluorescent pseudomonads and its relationship with host plant species and HCN synthesis ability. *Mol Plant Microbe Interact*, 16 (6), pp. 525-35.
- Ren D., Zuo R et Wood T.K. (2005).** Quorum-sensing antagonist (5Z)-4-bromo-5-(bromométhyle)-3-butyl-2(5H)-furanone influences siderophore biosynthesis in *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 66 (6): 689-95.
- Raaijmakers J.M., Leeman M., Van Oorschot M.M.P., van der Sluis I., Schippers B., et Bakker P.A.H.M., 1995.** Dose-response relationships in biological control of Fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*, 85: 1075-1081.
- Ramamoorthy V., Raguchander T., Samiyappan R.(2002).** Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. *Plant soil*, 239,55-68.

S

- Seitz I., Sauer D.B., Mohr H.E. et Aldis D.F. (1982).** Fungal growth and dry matter loss during bin storage of high-moisture com. *Cereal Chemistry*. 59: 9-14.
- Stanier R.Y., Palleroni N.J et Doudoroff M. (1966).** The aerobic *Pseudomonas*: a taxonomic study. *Journal of General Microbiology*. 43: 159-271.
- 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
- Solano, B., Maicas, J., et Mañero, J., 2009.** Biotechnology of the Rhizosphere in Kirakosyan A., Kaufman P.B., Recent Advances in Plant biotechnology. P 137-162.
- Spaepen, S., J. Vanderleyden, et R. Remans. 2007.** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* **31**: 425-448.
- 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.
- Shankara N., Van lidt de jeude J., de Goffau M., Hilmi M., Van Dam B. and Florijin A. (2005).** La culture de la tomate: Production, transformation et commercialisation. 5ème (ed). Foundation Agromisa et CTA, Wageningen.
- Sun, Shou-Kung et Jenn-wen Huang. 1985.** Formulated soil amendment for controlling fusarium wilt and other soilborne diseases. *Plant Disease*, 69:917-920.
- Sivan, A, 1987.** Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant disease* 71 :587-592.
- Steinberg, C., Whipps, J. M., Wood, D. A., Fenlon, J., Alabouvette, C. 1999.** Effects of nutritional sources on growth of one non-pathogenic strain and four strains of *Fusarium oxysporum* pathogenic on tomato. *Mycological Research* 103 (9) : 1210-1216.
- Snyder W.C. and Hans H.N. (2003).** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. (Sacc.) Prepared by Mui-Yun Wong. PP728 Soilborne Plant Pathogen Class Project, spring.
- Smahi A. (2008).** Contrôle biologique de la fusariose vasculaire de la Tomate causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Thèse de Magister . Université d'Oran, Algérie.
- Schalk IJ.** Innovation and originality in the strategies developed by bacteria to get access to iron. *ChemBiochem*. 2013; ; 14 : :293.–294.
- Schalk IJ, Mislin GL, Brillet K.** Structure, function and binding selectivity and stereoselectivity of siderophore-iron outer membrane transporters . *Curr Top Membr*. 2012;; 69 ::37.–66.

Schalk IJ, Guillon L. Fate of ferrisiderophores after import across bacterial outer membranes: different iron release strategies are observed in the cytoplasm or periplasm depending on the siderophore pathways . *Amino Acids*. 2013; ; 44 : :1267.–1277.

Siddiqui Z.A., 2003. PGPR: Prospective biocontrol agents of plant pathogens. In Siddiqui Z.A., PGPR: Biocontrol and Biofertilization, 2006, Springer, Netherlands, 313p.

Salim Benalia., 2020 Tomate et tomate transformée : L'Algérie atteint l'autosuffisance (<https://maghrebemergent.net/tomate-et-tomate-transformee-lalgerie-atteint-lautosuffisance/>)

Snoussi S A., 2010. Étude de base sur la Tomate en Algérie.Rapport de mission .FAO. Rome. 53p.

Snissi A., Hamdoun S., Roussi Hassani B., Airini K.L., 2005. Rôle de la Microbiologie dans le développement Socio-économique.Thème : Utilisation des *Pseudomonas fluorescens* dans la bio protection de la plante de la tomate contre *Fusarium oxysporum*. Journées Nationales de Microbiologie. Communication orales : 16.

Siddiqui, I., Shaukat, S., Sheikh, I., et Khan, A., (2006). Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, N° 6 P 641–650.

T

Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., and Soil Ecol. *121*, 102–117.

V

Van Loon, L., P. Bakker, and C. Pieterse, *Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria*. Annual review of phytopathology, 1998. 36(1): p. 453-483.

Vessey J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers.*Plant Soil*, 255: 571–586.

Valimunizigha C., 2006 : Étude du comportement physiologique et agronomique de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en réponse à un stress hydrique précoce. *Ed. Press .Univ.de Louvain* , 196p.

Valenzuela-Ureta J.C., Lawn D.A., Heisey R.F. and Zamudio-Guzman.V. (1996). First report of *Fusarium Wilt* race 3, caused by *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici* , of tomato in Mexico. *Plant Dis* 80:105.

Vandenbergh P.A., Gonzalez C.F.,Wright A.M., Kunka B.S.(1983). Iron.chelating compounds produced by soil pseudomonads : correction with fungal growth inhibition *Applied and Environmental Microbiology*.,46,pp.128- 132.

W

Woltz, S.S. and J.P. Jones. 1981. Nutritional requirements of *fusarium oxysporum*: Basis for a disease control system, pp. 340-349.

Waller, D. M. & Thomashow, L. S. (1993). Use of rhizobacteria for biocontrol. Current opinion in biotechnology, 4, 306-311.

Walker J.C. (1971). *Fusarium wilt* of tomato. Monogr. 6. *American phytopathological Society*, St. Paul, MN.

Z

Zahir, Z. A, M. Arshad, et W.T. Frankenberger, Jr. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria : application and perspectives in agriculture. Adv. Agro. **81**: 97-198

Zirih, G., Kra, A.K.M., Guédé-Guina, F. 2003. Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Lamarck) O. Kuntze (Asteraceae) «PYMI» sur la croissance in-vitro de *Candida albicans*. Revue Med. Pharm. Afric.17(3): 11-18.

Site internet

1 <https://www.gica.tn/fr/?p=918>

2 https://www.tomatonews.com/en/wptc-crop-update-as-of-3-june-2022- 2_1677.html

3 <https://www.aps.dz/economie/130791-tomate-industrielle-croissance-de-la-production-de-17-en-2021>(ALGERIE PRESSE SERVICE Tomate industrielle: croissance de la production de 17% en 2021, Publié Le : Mardi, 16 Novembre 2021)

4 <https://www.jardiner-autrement.fr/fiches-techniques/tomate-alternariose/>

5 <https://www.jardiner-autrement.fr/fiches-techniques/tomate-mildiou/>

6 <http://omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/05-070.htm>

7 <http://omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/05-070.htm>

Annexes

Annexe (1)

Milieux de culture

1- Milieu de King « KB » (King et *al.*, 1954)

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

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

2- Potatos Dextrose Agar PDA (Jonsthorpe et Booth, 1954)

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

Ajuster à un PH= 6,8. Autoclavage à 120°C pendant 20min

3- Milieu Mannitol de mobilité (Gardan et Luisetti, 1981)

- Peptone 20g
- Nitrate de Potassium 1g
- Mannitol 2g
- Rouge de Phénol 40g
- Gélose 4g
- Eau distillé q.s.q 1000Mml

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

4- Bouillon nitraté(BN) (Garden et Luisitti, 1981)

- Peptone 10g
- Extrait de viande 5g
- Chlorure de sodium 5g

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

5- Milieu Citrate de Simmons (Garden et Luisetti, 1981)

- Sulfate de magnésium (Mgso₄) 0,2g
- Ammonium dihydrogenophosphate 1g
- Phosphate dipotassique 1g

- Citrate de Sodium 2g
- Chlorure de Sodium (NaCl) 5g
- Bleu de bromothymol 0,08g
- Agar 20g
- Eau distillée q.s.q 1000ml

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

6- Milieu Mevag (Marchal et bourdon, 1981)

- Tryptone 3g
- Dipotassium phosphate 0,3g
- Potassium chlori 5g
- Eau distillée q.s.q 1000ml

Ajuster à un PH= 7,8. Autoclavage à 120°C pendant 20mn

7- Milieu de Clark et Lubs (Marchl et Bourdon, 1982)

- Peptone tryptique ou polypeptone 5à7g
- Glucose 5g
- Phosphate bipotassique (K₂PO₄) 5g
- L'eau distillé q.s.q 1000ml

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

8- Milieu Chapman

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

9- Milieu TSI (Garden et Luisetti, 1981)

- Peptone 20g
- Extrait de viande 3g
- Extrait de levure 3g
- Chlorure de Sodium 5g
- Citrate ferrique 0.3g

- Thiosulfate de Sodium 0.3g
- Lactose 10g
- Saccharose 10g
- Glucose 1g
- Rouge de Phénol 0.5g
- Agar-Agar 2g.

Ajuster à un pH =7.

10- Milieu Pikovskaya (PVK) (Pikovskaya, 1948)

- Glucose 10g
- Extrait de levure 0.5g
- Phosphate Calcium ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 5g
- Sulphate Ammonium (NH_4)₂SO₄ 0.5g
- Potassium Chloride (KCl) 0.2g
- Sulphate Magnesium ($\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$) 0.1g
- Sulphate Manganese (MnSO_4) 0.002g
- Sulphate Ferrous (FeSO_4) 0.002g
- Agar-Agar 20g
- H₂O 1000ml

